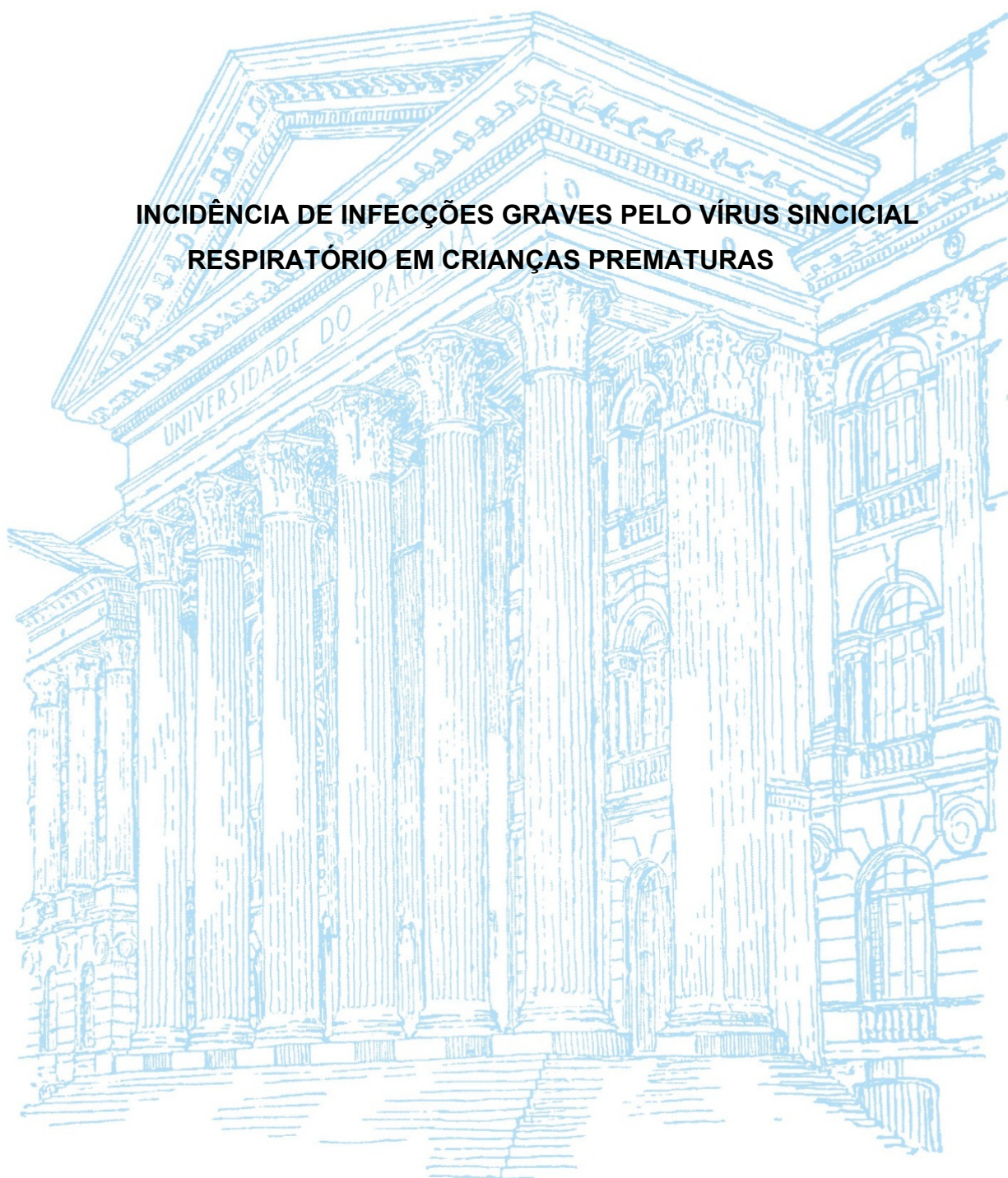


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DÉBORA CARLA CHONG E SILVA

**INCIDÊNCIA DE INFECÇÕES GRAVES PELO VÍRUS SINCICIAL
RESPIRATÓRIO EM CRIANÇAS PREMATURAS**



**CURITIBA
2014**

DÉBORA CARLA CHONG E SILVA

**INCIDÊNCIA DE INFECÇÕES GRAVES PELO VÍRUS SINCICIAL
RESPIRATÓRIO EM CRIANÇAS PREMATURAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente, Área de concentração Imunologia: Alergologia e Pneumologia Pediátrica.

Orientador: Prof. Dr. Nelson A. Rosário Filho

CURITIBA

2014

À minha família amada, meu marido Herberto por compartilhar seu conhecimento e apoiar-me em todas as horas, meus filhos Carolina e Herberto, razões da minha vida e meus pais Jésus (*in memoriam*) e Genoveva por me ensinarem a ter garra e não desistir nunca.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho**, meu orientador e mestre pelo apoio e incentivo neste e em todos os projetos científicos da minha vida.

À **Profª Dra. Mônica Nunes Lima**, Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente do Departamento de Pediatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, pelo seu incansável e fundamental trabalho frente à direção deste programa e pelo importante auxílio na formatação deste material.

À **Profª Dra. Regina Paula Vieira Guimarães Cavalcanti da Silva**, Chefe do Departamento de Pediatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, por quem tenho grande amizade e admiração.

Aos **Prof. Dr. Mitsuro Miyaki e Dr. Antônio Carlos Bagatin**, por entenderem a proposta do trabalho e abrirem gentilmente as portas da UTI Neonatal do Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná para a execução desta pesquisa.

Às enfermeiras **Ana Lúcia Prestes e Ana Beatriz Naumes** pela imensurável contribuição no agendamento dos pacientes, coleta dos exames e contatos telefônicos.

Às médicas residentes em neonatologia nos anos de 2008 – 2010, **Dra. Juliana Vonderheyde Moro e Dra. Khariziane Sperandio** pela colaboração no recrutamento dos pacientes.

Aos **Prof. Dr. Carlos Antônio Riedi e Dra. Andrea Rossoni**, pela contribuição e sugestões realizadas durante a Banca de Qualificação desta tese.

Aos acadêmicos de medicina **Francesca Asinelli de Macedo Lopes e Felipe Augusto Quirino de Farias** pela ajuda na compilação dos dados e confecção das tabelas.

A todas as **crianças e suas famílias**, um agradecimento especial. Por concordarem em participar do estudo, comparecendo às consultas, proporcionando a conclusão do trabalho com êxito.

Ao mestre e amigo Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho, principal responsável por abrir minha mente para as novas ideias.

***“ A mente que se abre a uma nova ideia nunca
mais volta ao seu tamanho original”***

Albert Einstein

RESUMO

O vírus sincicial respiratório humano (VSR) é considerado o principal agente isolado de infecções respiratórias na infância. Quase a totalidade das crianças aos 2 anos de idade já foram infectadas pelo VSR. Prematuros, crianças com broncodisplasia pulmonar e os cardiopatas compõem os grupos de risco para infecções mais graves, hospitalizações e óbito em infecções agudas pelo VSR. Fatores ambientais e sociais como desmame precoce, tabagismo passivo, permanência em creches, aglomerações domiciliares, convívio com crianças escolares e baixo nível de escolaridade dos pais, aumentam a gravidade da infecção. O estudo tem por objetivo verificar a incidência de infecções graves pelo VSR em crianças prematuras. Acompanhou-se 103 prematuros durante 1 ano após a alta da unidade de terapia intensiva (UTI) neonatal do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. As avaliações clínicas foram mensais. Contatos telefônicos com as famílias ocorriam semanalmente e toda vez que fosse identificada uma intercorrência respiratória realizava-se uma consulta não programada. Nos quadros de infecções do trato respiratório inferior (ITRI) a pesquisa de vírus respiratórios (VSR, adenovírus, metapneumovírus, influenza A e B, parainfluenza 1,2,3, bocavírus e coronavírus) no lavado nasofaríngeo (LNF) era realizada pelo método de reação em cadeia de polimerase (PCR). Foram avaliados 136 episódios de ITRI. Em 20 episódios houve necessidade de internamento sendo 8 em UTI. Foi pesquisado vírus em 125 amostras do LNF. O VSR foi o mais frequentemente encontrado em 33,4% das amostras isoladamente ou em co-deteções. O Bocavírus foi o segundo vírus mais detectado (23,4%). O VSR foi detectado em amostras de 45% das crianças que internaram em enfermaria e na UTI. As variáveis sociais, econômicas e ambientais não mostraram-se significativas para ITRI grave no grupo estudado. Houve co-deteção em 36% das amostras. Cerca de 10% dos pacientes acompanhados apresentaram sibilância recorrente (mais que 3 episódios) durante o período. A incidência de infecções graves pelo VSR na população estudada foi de 8,73%. Não comprovou-se a associação de variáveis ambientais e sociais com a gravidade dos quadros respiratórios causados pelo VSR.

Palavras-chave: Infecções por vírus respiratório sincicial. Vírus respiratórios. Infecções respiratórias. Prematuro.

ABSTRACT

The human respiratory syncytial virus (RSV) is the main agent isolated from respiratory infections in childhood. Almost all children 2 years of age have been infected with RSV. Premature infants, children with bronchopulmonary dysplasia and heart disease are the risk groups for severe infections, hospitalizations and death in acute RSV infections. Environmental and social factors such as cessation of breastfeeding, passive smoking, stay in daycare, home crowded, contact with school siblings and low levels of parental education, increase the severity of infection. The study aims to determine the incidence of severe RSV infections in premature infants. Followed up 103 premature infants for 1 year after discharge from the intensive care unit (ICU) of the Clinics Hospital of the Federal University of Paraná. Clinical assessments were monthly. Telephone contacts with families occurred weekly and every time it was identified a respiratory complication a non-scheduled visit was realized. In lower respiratory tract infections (LRTI) the research of respiratory viruses (RSV, adenovirus, metapneumovirus, influenza A and B, parainfluenza 1,2,3, bocavirus and coronavirus) in nasopharyngeal lavage (LNF) was performed by the method polymerase chain reaction (PCR) There were 136 episodes of LRTI. Hospitalization was need in 20 episodes of LRTI and in 8 cases need ICU admission. Viruses were screened in 125 samples of LNF. The RSV was most often found in 33.4% of samples alone or in co-detections. Bocavirus was the second most frequently detected virus (23.4%). RSV was detected in samples from 45% of children who were hospitalized. Social, economic and environmental variables were not significant for severe LRTI in the group studied. There was co-detection in 36% of samples. About 10% of patients had recurrent wheezing (more than 3 episodes) during the period. The incidence of severe RSV infections in the study population was 8.73%. The association of environmental and social variables with the severity of respiratory symptoms caused by RSV was not confirmed.

Keywords: Respiratory syncytial virus infections. Respiratory viruses. Respiratory tract infections. Infant, Premature.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DADOS SOCIAIS DAS CRIANÇAS ESTUDADAS	60
TABELA 2 – DOENÇAS MATERNAS DURANTE AS GESTAÇÕES DAS CRIANÇAS ESTUDADAS	62
TABELA 3 - VARIÁVEIS AMBIENTAIS PARA OS QUADROS DE ITRS NAS CRIANÇAS ESTUDADAS	63
TABELA 4 - DADOS DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES QUE NECESSITARAM DE INTERNAÇÃO NOS EPISÓDIOS DE ITRI E A IDENTIFICAÇÃO VIRAL (n=20 INTERNAÇÕES).....	69
TABELA 5 - DADOS SOCIAIS DOS CASOS INTERNADOS POR ITRI EM ENFERMARIA E A IDENTIFICAÇÃO VIRAL (n = 12 INTERNAMENTOS)	70
TABELA 6 - DADOS SOCIAIS DOS CASOS INTERNADOS POR ITRI EM UTI E A IDENTIFICAÇÃO VIRAL (n = 8 INTERNAMENTOS).....	71
TABELA 7 - COMPARAÇÃO DO GRUPO COM INFECÇÃO POR VSR COM O GRUPO COM INVESTIGAÇÃO POSITIVA PARA OUTROS VÍRUS PARA A VARIÁVEL INTERNAÇÃO	72
TABELA 8 - COMPARAÇÃO DO GRUPO COM INFECÇÃO POR VSR COM O GRUPO COM INVESTIGAÇÃO NEGATIVA PARA OS VÍRUS PESQUISADOS PARA A VARIÁVEL INTERNAÇÃO	72
TABELA 9 – ASSOCIAÇÃO DAS VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS, SOCIAIS E AMBIENTAIS NOS CASOS GRAVES DE ITRI PELO VSR (NECESSITARAM DE INTERNAMENTO) X ITRI PELO VSR NÃO GRAVES (TRATAMENTO AMBULATORIAL).....	73
TABELA 10 - COMPARAÇÃO DO GRUPO COM INFECÇÃO ISOLADA COM O GRUPO DE CO-DETECÇÃO VIRAL PARA A VARIÁVEL INTERNAÇÃO	74
TABELA 11 - COMPARAÇÃO DO GRUPO COM INFECÇÃO ISOLADA PELO VSR COM O GRUPO DE CO-DETECÇÃO DO VSR E OUTROS VÍRUS PARA A VARIÁVEL INTERNAÇÃO	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	-	<i>acquired immune deficiency syndrome</i> (síndrome da imunodeficiência adquirida)
AIG	-	adequado para a idade gestacional
BPC	-	boas práticas clínicas
CC	-	cardiopatía congênita
CEP	-	Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
DBP	-	displasia broncopulmonar
DHEG	-	doença hipertensiva específica da gestação
DUM	-	data da última menstruação
FcεR1	-	receptor de alta afinidade para IgE
IF	-	imunofluorescência
IG	-	Idade gestacional
ITRI	-	infecção do trato respiratório inferior
ITRS	-	infecção do trato respiratório superior
LNF	-	lavado naso-faríngeo
PCR	-	<i>polymerase chain reaction</i> (reação em cadeia da polimerase)
PIG	-	pequeno para a idade gestacional
TCLE	-	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
USP	-	Universidade de São Paulo
UTI	-	unidade de terapia intensiva
VSR	-	vírus sincicial respiratório

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 OBJETIVOS	16
1.1.1 Objetivo geral	16
1.1.2 Objetivos específicos.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 VÍRUS SINICIAL RESPIRATÓRIO.....	17
2.1.1 Histórico.....	17
2.1.2 Características do vírus.....	17
2.1.3 Apresentação clínica da infecção pelo VSR.....	18
2.1.4 Artigo de Revisão Publicado pela Sociedade Brasileira de Virologia	19
2.2 ESTUDOS REALIZADOS EM OUTROS PAÍSES.....	29
2.3 ESTUDOS REALIZADOS NO BRASIL	29
2.4 OS DEMAIS VÍRUS RESPIRATÓRIOS	35
2.5 SIBILÂNCIA, ASMA E OS VÍRUS RESPIRATÓRIOS	43
3 MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1 TIPO DE ESTUDO	46
3.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO	46
3.3 CASUÍSTICA.....	46
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	47
3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	47
3.6 POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	47
3.7 AMOSTRA E TÉCNICA DE AMOSTRAGEM.....	48
3.8 MÉTODO.....	48
3.8.1 Delineamento e plano geral do estudo.....	48
3.8.2 Avaliações clínicas/visitas	49

3.8.2.1 Visita de inclusão.....	49
3.8.2.2 Visitas programadas.....	50
3.8.2.3 Visitas de encerramento.....	50
3.8.2.4 Visitas não programadas.....	50
3.8.3 Identificação viral.....	51
3.8.3.1 Técnica do lavado nasofaríngeo (LNF)	51
3.8.3.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR) vírus respiratórios	52
3.9 DEFINIÇÕES DO ESTUDO	52
3.9.1 Definição de infecção respiratória aguda	52
3.9.2 Definição de infecção do trato respiratório inferior (ITRI).....	52
3.9.3 Definições dos tipos de hospitalização.....	53
3.9.4 Definição de infecção grave pelo VSR.....	54
3.10 REGISTRO E GERENCIAMENTO DE DADOS.....	54
3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
3.12 ÉTICA EM PESQUISA	54
3.13 MONITORIZAÇÃO DA PESQUISA.....	55
3.14 FOMENTO PARA A PESQUISA, PROFISSIONAIS E SERVIÇOS ENVOLVIDOS	55
4 RESULTADOS.....	57
4.1 POPULAÇÃO	57
4.1.1 Os óbitos	58
4.2 DADOS DEMOGRÁFICOS E SOCIAIS	58
4.2.1 Sexo e grupo étnico.....	58
4.2.2 Idade gestacional	58
4.2.3 Amamentação	59
4.2.4 História familiar de atopia.....	59
4.2.5 Condições ambientais e sociais	59

4.2.6 Creche.....	60
4.3 DADOS DE NASCIMENTO.....	60
4.3.1 Peso de nascimento.....	61
4.3.2 Antecedentes da gestação.....	61
4.3.3 Gemelaridade.....	62
4.4 QUADROS RESPIRATÓRIOS.....	62
4.4.1 As infecções do trato respiratório superior (ITRS).....	62
4.4.2 As infecções do trato respiratório inferior (ITRI).....	64
4.4.3 A Identificação viral.....	64
4.4.4 Dados demográficos dos pacientes que necessitaram internações.....	67
4.4.5 A Identificação viral <i>versus</i> gravidade da ITRI.....	67
4.4.6 Infecção pelo VSR <i>versus</i> gravidade da ITRI.....	71
4.4.7 Presença de co-deteção viral <i>versus</i> gravidade da ITRI.....	74
4.4.8 Distribuição sazonal.....	75
4.4.9 Sibilância recorrente <i>versus</i> infecção pelo VSR.....	77
5 DISCUSSÃO.....	81
6 CONCLUSÕES.....	93
REFERÊNCIAS.....	95
PRODUÇÃO ACADÊMICA.....	121

1 INTRODUÇÃO

O vírus sincicial respiratório (VSR), identificado pela primeira vez em 1956, é considerado o principal agente isolado de infecção respiratória na infância (CHANNOCK *et al.*, 1957).

As infecções pelo VSR são um problema de saúde pública no Brasil e no mundo (GARENNE *et al.*, 1992).

Dados epidemiológicos de países em desenvolvimento mostram que o VSR é um importante causador de infecção do trato respiratório inferior (ITRI) em crianças, responsável por aproximadamente 70% de todos os casos, especialmente diante de fatores agravantes, como superpopulação, poluição e desnutrição (LAW *et al.*, 2004; LOURENÇÃO *et al.*, 2006). A taxa de mortalidade após uma ITRI por VSR pode chegar a 7% nas crianças ≤ 2 anos de idade. Essa taxa é consideravelmente maior que a dos países desenvolvidos (0,5 – 2,0%), o que torna essa infecção viral um importante problema de saúde pública (GARENNE *et al.*, 1992; BRICKS *et al.*, 2001).

Devido à prevalência do VSR, quase todas as crianças já foram infectadas pelo vírus ao alcançarem os 2 anos de idade (GLEZEN, 1986; LAVIA *et al.*, 1992; SIMÕES *et al.*, 1999; ROBERTSON *et al.*, 2004; PICKERING *et al.*, 2006).

Os maiores índices de infecção ocorrem no terceiro e quarto meses de vidas sendo que VSR não provoca uma resposta imune substancial e por isso é comum a reinfecção. A frequência e a gravidade da infecção diminuem com a idade (SIMÕES; GROOHIUS, 2002).

Uma alta porcentagem das crianças até 2 anos á foram infectadas pelo VSR em quadros de infecção aguda do trato respiratório superior, entretanto, algumas crianças estão sujeitas a infecção grave do trato respiratório inferior (ITRI) que exige hospitalização, suplementação de oxigênio, ventilação mecânica e pode levar à morte (SIMÕES; GROOHIUS, 2002; TAVARES *et al.*, 2005).

As crianças com risco de doença grave são os lactentes prematuros, os recém nascidos com displasia broncopulmonar (DBP) e os lactentes com cardiopatia congênita. Meta-análise realizada em 2002 revelou que a taxa de internação entre crianças com doença pulmonar crônica é de 18,4% (SIMÕES; GROOHIUS, 2002). Lactentes prematuros nascidos entre 29 e 32 semanas e entre 32 e 35 semanas de

idade gestacional sem doença pulmonar crônica apresentam taxas de hospitalização de 10,3% e 9,8%, respectivamente (TAVARES *et al.*, 2005). A taxa de mortalidade em lactentes prematuros hospitalizados com VSR pode chegar a 5% (MEISSNER *et al.*, 1999; MAROSTICA, 2009).

Lactentes com cardiopatia congênita têm risco extremamente elevado de doença grave pelo VSR e a taxa de mortalidade é alta em lactentes hospitalizados, infectados pelo VSR e que apresentam cardiopatia congênita (MAC DONALD *et al.*, 1982). Estudos posteriores mostraram que 33% dos lactentes com cardiopatia, hospitalizados com doença pelo VSR, necessitaram de cuidados intensivos e 2,5%-3,4% morreram por complicações do VSR (NAVAS *et al.*, 1992; MOLER *et al.*, 1992).

Outros fatores de risco que, conhecidamente, aumentam o risco de doença grave pelo VSR incluem: imunodeficiência adquirida ou congênita (HALL *et al.*, 1986), fibrose cística, comprometimento neuromuscular e malformações anatômicas que comprometem a eliminação de secreções (HIATT *et al.*, 1999; BRICKS 2001),

Entre crianças saudáveis, as do gênero masculino têm maior probabilidade de desenvolverem doença grave que as do gênero feminino, igualmente ocorre com os recém-nascidos pequenos para a idade gestacional em relação àqueles com peso adequado ao nascimento (PARROT *et al.*, 1973; RESCH *et al.*, 2011). Crianças nascidas pouco antes ou durante a estação do VSR também têm maior probabilidade de desenvolverem doença grave do que as crianças nascidas em outros períodos do ano (RESCH *et al.*, 2011).

Observou-se que vários fatores ambientais aumentam a gravidade da infecção, estes incluem a falta de aleitamento materno, a exposição passiva à fumaça de cigarro (HARLAP; DAVIES, 1974; Mc CONNOCHIE; ROGHMANN, 1986) a permanência em creches, ambientes domésticos super povoados e contato com crianças menores em casa (LAW *et al.*, 2004; LOURENÇÃO *et al.*, 2006).

A infecção por VSR acarreta custo elevado ao sistema de saúde público e privado. Lactentes prematuros que exigem freqüentes internações por problemas respiratórios (incidências que variam de 41 a 85 internações por 100 crianças/ ano) geram custos elevados por episódio de internação (SELWYN *et al.*, 1990). Crianças abaixo dos 3 anos de idade, acompanhadas no programa *Medicaid Tennessee* mostrou uma taxa de 44,4 internações por 100 crianças/ano durante o primeiro ano

de vida sendo que 34% destas internações atribuídas a quadros associados ao VSR (SELWYN *et al.*, 1990).

Os prematuros tem particular importância neste cenário. A prevalência corrigida de prematuridade no Brasil, atingiu em 2011 valores de 11,8%, onde as regiões sul e sudeste, apresentam prevalência de nascimentos antes de 37 semanas de idade gestacional de até 12,5% (VICTORIA *et al.*, 2014). O grupo de prematuros freqüentemente apresenta complicações graves associadas com a infecção pelo VSR, incluindo longos períodos de internação, aumento da taxa de internação na unidade de terapia intensiva (UTI) e uma maior necessidade de ventilação mecânica em comparação com as taxas de lactentes de termo (RESCH *et al.*, 2011). O prazo de hospitalização por infecções associadas ao VSR são maiores em crianças que nasceram com menos de 36 semanas de idade gestacional (IG) em comparação com as crianças nascidas a termo, sem diagnóstico de displasia broncopulmonar ou doença cardíaca congênita (BOYCE *et al.*, 2000).

Estudos epidemiológicos sobre o impacto da doença respiratória viral aguda em prematuros foram realizados no Brasil (DA SILVA *et al.*, 2013; GAGLIARDI *et al.*, 2013) e no mundo (CHI *et al.*, 2011; GOYON – CASTOR STUDY - *et al.*, 2013).

A sazonalidade do VSR já está bem descrita e varia de uma região para outra. Em geral, nos climas temperados, a doença ocorre no inverno, enquanto em países de clima tropical e subtropical, ao norte e ao sul da linha do Equador, os surtos ocorrem na estação mais fria e chuvosa, e na estação mais fria e seca, respectivamente (STENSBALLE *et al.*, 2003; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC, 2000).

O Brasil é um país de grande extensão territorial, com diversos tipos de clima e populações e onde a sazonalidade do VSR difere entre regiões do próprio país. No sul e sudeste do país, o período de manifestação do vírus é semelhante ao de outros países com clima temperado, com picos no inverno e na primavera onde até 92% das infecções por VSR ocorre de abril a junho (TSUCHIYA *et al.*, 2005; D'ELIA *et al.*, 2005; VIEIRA *et al.*, 2002; CALEGARI *et al.*, 2005; NACUL *et al.*, 2005; RICCETTO *et al.*, 2006). Enquanto na costa nordeste do país, o VSR ocorre durante todo o ano (SELWYN, 1990).

Além das manifestações agudas da infecção pelo VSR, estudos recentes sugerem associação entre a infecção precoce pelo VSR e sintomas recorrentes de asma e sibilância em adolescentes e adultos jovens.

Muitas hipóteses foram propostas para explicar a associação entre infecções das vias aéreas e alterações respiratórias subseqüentes. Sugere-se que as infecções podem agredir o pulmão em desenvolvimento ou alterar a regulação da função imunológica do hospedeiro, o que tornaria as infecções virais fator de risco para o desenvolvimento de sibilância recorrente (GERN; BUSSE, 2002) ou ainda que as infecções respiratórias sejam mais graves em recém-nascidos e crianças que já têm predisposição para asma; nesse caso, a infecção seria um mero indicador de um quadro que permaneceu silencioso até aquele momento (BRITO; GRISI, 2003; MAROSTICA *et al.*, 2009; SIMÕES *et al.*, 2010; HOLT *et al.*, 2012).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Estimar a incidência de infecção do trato respiratório inferior (ITRI) grave pelo VSR em lactentes nascidos com 35 semanas de idade gestacional ou menos, durante um ano de seguimento clínico.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Descrever as variáveis relacionadas com a infecção grave pelo VSR;
- b) Verificar a associação de comorbidades com a gravidade das infecções pelo VSR;
- c) Identificar outros vírus responsáveis pelos quadros de ITRI;
- d) Descrever a distribuição temporal das infecções por VSR;
- e) Estimar a incidência de episódios de sibilância por 12 meses após a alta hospitalar em crianças com e sem infecção pelo VSR.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO

2.1.1 Histórico

Em 1956 o vírus sincicial respiratório humano (VSR) foi identificado isoladamente, como agente causador de coriza, uma inflamação na mucosa nasal, acompanhada de espirros, bem como secreção e obstrução nasal, em uma colônia de chimpanzés em laboratório, sendo inicialmente chamado de agente de coriza de chimpanzé (*chimpanzee coryza agente* – CCA) (CHANNOCK *et al.*, 1957).

Contudo, pouco depois, o vírus foi recuperado de secreções de crianças com doenças respiratórias, assim, devido a sua capacidade de formar sincícios em linhagem de células associadas à doença do trato respiratório foi denominado vírus sincicial respiratório (BOSSO, 2004).

No Brasil o vírus Sincicial foi isolado pela primeira vez em 1964, pelo pesquisador Candeias *et al.*, em 1967.

Nesse estudo, foram observadas 24 crianças hospitalizadas com quadro respiratório agudo e em 4 amostras foi possível identificar o isolamento viral, confirmado pela realização através da prova de neutralização utilizando o soro padrão (CANDEIAS, 1967).

2.1.2 Características do vírus

O vírus sincicial respiratório humano (VSR) é um vírus de RNA de fita simples e polaridade negativa, membro da ordem *Mononegavirales*, família *Paramyxoviridae*, subfamília *Pneumovirinae* e gênero *Pneumovirus*. (FALSEY; WALSH, 2000; VAN REGENMORTEL *et al.*, 2000).

Os gêneros da família *Paramyxoviridae* são diferenciados pelo diâmetro, número de genes e glicoproteínas de superfície. A partícula viral do HRSV não apresenta hemaglutinina e nem neuraminidase (NASCIMENTO *et al.*, 2006).

É composto por aproximadamente 15.222 nucleotídeos e 10 genes que codificam 11 proteínas: NS1, NS2 (não estruturais), nucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína da matriz (M), pequena proteína hidrofóbica (SH), proteína de adsorção (G), proteína de fusão (F) proteína da matriz (M2-1, M2-2) e complexo polimerase (L). A proteína F é estável em sua composição e envolvida no processo de fusão do vírus à célula e no processo de formação de sincícios.

A proteína G, por sua vez, apresenta grande variabilidade, determinada por variações nos segmentos gênicos responsáveis por sua codificação e tem papel importante na replicação viral (FERRONATO *et al.*, 2011).

2.1.3 Apresentação clínica da infecção pelo VSR

O VSR é o principal agente responsável pelas infecções do trato respiratório inferior em crianças e lactentes, onde o diagnóstico adequado e medidas de suporte são suficientes para evitar o uso desnecessário de antibióticos quando a infecção é viral (NASCIMENTO *et al.*, 2006).

Estima-se que 4 a 5 milhões de crianças morram anualmente em decorrência de infecções respiratórias agudas, sendo assim, vários fatores de risco podem contribuir para o aumento da incidência e da gravidade das infecções respiratórias em crianças como, prematuridade, desnutrição, baixo nível sócio econômico, tabagismo passivo e frequência a creches (LOURENÇÃO *et al.*, 2006).

A 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; a mortalidade em crianças hospitalizadas variou de 3,2 % a 15,8 % dos casos; os vírus causam maior número de episódios de infecção respiratória aguda do que as bactérias; O VSR é o agente viral mais frequente (LOURENÇÃO *et al.*, 2005).

Vários fatores contribuem para o aumento da incidência do VSR. A sazonalidade, a imunidade não permanente, a presença de dois sorotipos diferentes e a ausência de anticorpos são responsáveis pela associação do VRS com uma maior morbidade em população de alto risco. A população de alto risco pode ser influenciada por vários aspectos, entre eles, o fator demográfico (sexo, idade), socioeconômico (renda familiar), ambientais (poluição atmosférica) nutricionais

(deficiência de vitamina A, desnutrição) (HARLAP; DAVIES, 1974; MC CONNOCHIE; ROGHMANN, 1986; LOURENÇÃO *et al.*, 2006; LAMARÃO *et al.*, 2011).

A maior parte das crianças abaixo dos 2 anos de idade infectadas pelo VSR apresenta doença leve do trato respiratório superior; entretanto, algumas estão sujeitas a desenvolver infecção grave do trato respiratório inferior (ITRI) que exige hospitalização, oxigenoterapia, ventilação mecânica e pode levar à morte (RESCH *et al.*, 2011). As crianças que possuem maior risco de desenvolver a doença grave são os lactentes pré-termo, os recém-nascidos com displasia broncopulmonar e os lactentes com cardiopatia congênita (CC) (NAVAS *et al.*, 1992; MOLER *et al.*, 1992; RESCH *et al.*, 2011). Alguns autores estimam que a taxa de mortalidade em lactentes prematuros hospitalizados com VSR possa chegar a 5 %. (MAROSTICA, 2009). Portanto, o VSR é considerado o agente mais frequente de infecções respiratórias agudas em lactentes e crianças, com distribuição mundial (PECCHINI, 2008).

A epidemia de VSR apresenta-se com sazonalidade bem clara, anualmente no período de outono tardio, inverno ou começo da primavera, porém não durante o verão (STENSBALLE *et al.* 2003, CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC, 2000). Cada epidemia tem duração de cinco meses, com 40 % dos casos ocorrendo no decorrer dos meses de pico, geralmente no centro do surto. (COLLINS, 1996; TAKAHASHI, 1998, 2000).

2.1.4 Artigo de Revisão Publicado pela Sociedade Brasileira de Virologia

ARTIGO 1

Virus Reviews and Research – 2014

Virus Reviews and Research

Sociedade Brasileira de Virologia

journal homepage: www.sbv.org.br/vrr/

Research Article

RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS: FROM DISCOVERY TO TREATMENT

Débora C Chong-Silva, M.D., MSc^{*}; Nelson A Rosário, M.D., Ph.D

Professor of Pediatrics - Federal University of Paraná.

ABSTRACT

To review the epidemiology, identification, clinical patterns and treatment of respiratory syncytial virus infection. Raised available studies in the MEDLINE database using the keywords respiratory syncytial virus, respiratory infection, bronchiolitis and indirect immunofluorescence in international studies since 1980. Respiratory Syncytial Virus (RSV) was first time isolated in 1956 and became the most frequently agent found, especially in the lower respiratory tract of children. It is responsible for significant morbidity and mortality in children younger than 18 months with risk factors such as prematurity and heart disease. It shows well-defined distribution along the year. Histopathology, immunohistochemistry and standardized molecular techniques to identify the virus have been described. The specific treatment of RSV infection is still limited. Antiviral agents as ribavirin showed limited effectiveness and restricted to use in a few patients with severe heart disease. Vaccines needs further studies before marketed. Humanized monoclonal antibody - palivizumab - is safe, well tolerated and the most cost-effective when used in children at risk for severe RSV infection. The high rate of children hospital admissions by RSV infection is a public health issue. Treatment is yet supportive and non specific according to severity. Epidemiologic surveillance, routine virus identification and accessibility to health centers are the key points to control infection by this virus.

Keywords: Respiratory syncytial virus, respiratory infection, bronchiolitis, prevention

Received in January 14, 2014 - Accepted in April 8, 2014 - Published ahead of print in April 14, 2014

The Discovery

In 1956 the Respiratory Syncytial Virus (RSV) was identified for the first time from upper airway secretion of chimpanzee monkeys with bronchiolitis symptoms. It was known as the *chimpanzee coryza agent* (Chanock et al. 1957). At the same time some cases of airway infections in humans were associated to this agent, especially lower airway infection in children. In 1957, due to the virus characteristics, infecting the airway and generating gigantic syncytial cells in tissue culture, it was renamed as Respiratory Syncytial Virus, used still nowadays (Chanock et al. 1957).

Researches have confirmed its importance and frequency of the RSV involvement as a leading cause of airway infections in children worldwide.

RSV belongs to the family *Paramyxoviridae* - as the measles virus, mumps virus, parainfluenza group and more recently discovered Nipah and Hendra virus. The RSV's subfamily is *Pneumovirinae* that includes

the Human Metapneumovirus (hMPV) capable to create a very similar clinical presentation of the RSV, as bronchiolitis and pneumonia (Van Den Hoogen et al 2001, Lourenção et al 2005). Nonetheless, the hMPV infection is more common in children with congenital anomalies, as cardiopulmonary and it is associated to a greater ventilatory demand (Zhang et al. 2009).

The RSV particles have a median size ranging from 120 to 300nm with helical symmetry (Lourenção et al. 2005). The viral nucleocapsid, also known as core, is composed of structural proteins combined with the viral genome, which is a single RNA strand. It is capable to performing at least 10 different types of proteins, most of them with structural function and two non-structural proteins with still unknown function (Bricks 2001). The viral genome consists of 15222 nucleotides that in association with nucleocapsid proteins, form a ribonucleoprotein complex resistant to RNase activity (Mohapatra & Lockey 2008).

The viral core is wrapped by an envelope that is formed by the plasma membrane of the host cell, composed by different types of glycoproteins. The Glicoprotein F and G are transmembrane proteins and

^{*} Corresponding author.

E-mail address: debchong@uol.com.br

also play a role as primary surface antigens working as target of the host's immunological response. The F protein contributes for the virus penetration in the cell and cell membrane fusion, resulting in the multinucleated syncytial gigantic cells. The G protein is responsible for the virus and host cell binding. Meanwhile the F protein suffer few changes, the G protein presents great genetic and antigenic diversity in the RSV group (Timothy & James Jr 2008, Riccetto et al. 2009, Da Silva et al. 2008).

The RSV has great growth capacity at pH=7.5, and despite the temperature sensitivity, it can be found after as long periods as one hour in contaminated gloves with infected nasal secretions. Stability in the hospital environment contributes for being a nosocomial pathogen (Carvalho et al. 2007).

RSV is classified into two antigenic groups, A and B, initially on the basis of the reactivity of the virus with monoclonal antibodies directed against the attachment glycoprotein (G protein) and currently through genetic analyses (Riccetto et al. 2009). The groups have been further divided according genotypes. There are 11 RSV-A (ON1, GA1 to GA7, SAA1, NA1, and NA2) and 17 RSV-B (GB1 to GB4, SAB1 to SAB3, and BA1 to BA10) genotypes (Da Silva et al. 2008, Entemadi et al. 2013).

Genetic study of protein sequence has supported this division and also has identified a great number of variations and lineages in each group.

The G protein is the most variable viral protein with a minimally conserved ectodomain that contains 2 hypervariable regions (HVRs). The second HVR (HVR2) carries the C terminus of the protein and is commonly sequenced to exam the genetic variability of RSV strains within a given population (Da Silva et al. 2008).

National (Da Silva et al. 2008) and international (Aamir et al. 2013, Entemadi et al. 2013) researches aimed to correlate epidemiological and clinical aspects of different groups (A or B) and several genotypes of RSV. They found variation by local research center and by current genotypes distribution.

Epidemiology and Seasonality

RSV is counted for significant mortality and morbidity in children younger than 18 months of life (Mohapatra & Lockey 2008, D'Élia et al. 2005, Stralioetto et al. 2004, Lavia et al. 1992). Epidemiological studies have showed that RSV is responsible for 50% to 90% of hospital admissions in children with bronchiolitis and 5% to 40% from those related to pneumonia. It is considered the main agent responsible for children's death during the winter season (Stralioetto et al. 2004). Infants under 6 weeks and children with an underlying condition as prematurity, immunodeficiency, cardiac disease or chronic pulmonary conditions are more susceptible to hospitalization by RSV infection (Lavia et al. 1992).

Studies in several countries have showed that up

to 90% of children around 2 years old presents antibodies against RSV, indicating that they have been infected at some time of their lives (Simões et al. 1999, Lavia et al. 1992, Pickering 2006, Robertson et al. 2004).

The combined action of CD4+ and CD8+ T cells have been involved in the development and healing of acute RSV infection, whereas antibodies can provide protection from re-infection. Despite eliciting an immune response that mediates clearance of the virus, immunity to the virus appears to wane over time and individuals remain susceptible to reinfection with RSV throughout their lifetime (Varga & Braciale 2013).

Several investigators in different regions of Brazil have studied and published epidemiological data about the frequency of the RSV infection in children (Table 1). The first studies date back to the 1980s and has been held periodically evaluating children under 5 years of age, hospitalized or in the emergency rooms of pediatric hospitals. The frequency of the RSV identification, isolated in secretions from nasopharyngeal wash (NPW), varied from 3% to 60% in these studies. A critical analysis is needed and the numerical data comparison should be careful since the identification methods were different and the figures are increasing in critical cases that resulted in hospitalization (D'Élia et al. 2005, Stralioetto et al. 2004, Suttmöller et al.1983, Nascimento et al.1991, Suttmöller et al. 1995, Cintra et al. 2001, Vieira et al. 2001, Checon et al. 2002, Stralioetto et al. 2002, Vieira et al. 2002, Moura et al. 2003, Bosso et al. 2004, Tsuchiya et al. 2005, Calegari et al. 2005, Nacul et al. 2005, Moura et al. 2006, Costa et al. 2006, Riccetto et al. 2006, Thomazelli et al. 2007, Vieira et al. 2007, Oliveira et al. 2008, Pecchini et al. 2008, Salomão et al. 2011).

In southern Brazil, the manifestation period of the virus is similar to other countries with temperate weather, with peaks in the winter and spring (D'Élia et al. 2005, Vieira et al. 2002, Calegari et al. 2005, Nacul et al. 2005). Up to 92% of the RSV infections occurs from April to June (Riccetto et al. 2006). Higher prevalence in this period was attributed to mother's asymptomatic infections, crowded child environment, infections in children with chronic pulmonary diseases and immunodeficiency patients (Riccetto et al. 2006).

The RSV is among viruses with marked seasonality. Epidemics were related to low temperatures (Suttmöller et al. 1983), lower sun hours (Nascimento et al. 1991) and more precipitation (Stralioetto et al. 2001). As an example, in countries as Indonesia and Mozambique the cases of RSV occurred mainly during the rainy season, whereas in countries as Nigeria and South Africa the cases occurred mainly during the dry season (Robertson et al. 2004). Despite this season variation in the prevalence of the disease, many studies in different countries have demonstrated that both strains of RSV tends to circulate simultaneously however the proportion between them varied year after year. Other

studies performed in countries as United State, Finland and France confirmed the co-circulation of those two groups annually with different time patterns and variable prevalence rates among them (Robertson et al. 2004).

In Brazil, there were simultaneous circulation of different groups of RSV in the North, Southeast and South regions, and this epidemiological pattern was not observed in other regions. Despite the climatic diversity, factor which influences the characteristics of the airway infection, there are still missing data about the RSV viral outbreak in each region of the country. Knowledge of antigenic variations is important for diagnosis and definition of vaccine composition (Polack & Karron 2004).

Clinical Aspects

RSV infection in children compromised lower respiratory tract and bronchiolitis was the most common condition (Wright & Piedimonte 2011, Bekhof et al. 2013, Thomazelli et al. 2007, Diniz et al. 2005). Pneumonia has been considered as virus infection too. Respiratory virus was found isolated in children's necropsies died by severe respiratory diseases (Chong DC et al. 2009).

Cough, tachypnea, and wheezing were the most common clinical signs described in children with lower respiratory tract infection (LRTI) (Ferone 2014, Wright & Piedimonte 2011, Thomazelli 2007, Diniz 2005). Other studies showed shortness of breath (Salomão Júnior et al. 2011) and cyanosis (Ricetto et al. 2006) were more frequently in RSV positive patients than RSV negative. Fever was found in 70,2% of hospitalized children for LRTI by RSV, proving to be a frequently sign. Temperatures upper to 39° C were found in 23,1% of children (Ferone, 2014).

LRTI severity was measured by oxygen needs, time of oxygen needs, Intensive Care Unit (ICU) admission and mechanical ventilation. There were no differences in hospitalization time and mechanical ventilation needs among RSV+ patients and Adenovirus+ in the nasopharyngeal secretion (Ferone, 2014).

It was observed that the first infection by the RSV is commonly more severe, if there are history of prematurity, pulmonary dysplasia, chronic heart conditions, congenital or acquired immunodeficiency and cystic fibrosis, therefore this patients have higher risk of death (Mohapatra & Lockey 2008). Risk factors such as gestational age under 35 weeks, birth weight lower than 2500 grams and lower maternal education than 5 years, were found in patients with RSV infection (Ricetto et al. 2006).

Although previously healthy patients also developed severe RSV disease, and several factors have been described as predictors of severity in this disease: male gender, under 6 months of life, birth during the first half of the season of RSV, early breastfeeding cessation, previous episodes of wheezing, low maternal

age, smokers in the family and home crowded, but not all studies confirmed this relationship (Ricetto, 2006).

Aimed to identify differences between infections severity among RSV groups, Cintra et al. 2001 evaluated 829 samples and there was no association of RSV group (A or B) and severity of disease.

When comparing clinical characteristics and RSV genotypes, Ricetto 2009 et al. found seasonality (April-May) as well oxygen saturation lower than 90% as signs indicating RSV infection. The most common genotypes were GA2, GA5 and SAA1 (RSV-A) and SAB1, SAB3 and BA (RSB-B), but there was no correlation between genotypes and clinical characteristics.

The RSV was identified in association with adenovirus, metapneumovirus, parainfluenza and influenza virus in children hospitalized for bronchiolitis and/or pneumonia (De Paulis et al. 2011, Bekhof et al. 2013, Bezerra et al. 2011, Da Silva et al.2013). There was no association between RSV co-infection or co-detection and clinical characteristics and severity of disease (De Paulis et al. 2011, Da Silva et al.2013).

The RSV is also one the causative agent of the post infection bronchiolitis obliterans (Teper et al. 2002). This disease is frequent in our environment and is one of the most important cause of chronic pulmonary obstructive disease in children, besides other etiologies as inhalation of toxic substances, aspiration syndromes and immunity diseases, and other infectious agents as adenovirus, influenza virus and parainfluenza. It was characterized by persistent wheezing, tachypnea, shortness of breath and cough for weeks or months after the initial infection (Teper et al. 2002)

Identification

The pathology analysis is a tool used for the identification of the etiologic agent of airway infections. Some authors have shown the advantages of making epidemiological researches with necropsies. When compared to population studies they reflect more reliable data with lower chance of bias seen in studies involving patients. The data obtained can be compared and reviewed more easily, neutral for the seasonality and other characteristics of some diseases (Mc Farlane et al. 1987).

Some virus presents typical cell inclusions that when seen in the microscope can define the etiologic diagnosis. Herpes simplex virus type 1 is known by the Cowdry's type A intranuclear inclusions, which the nuclear center is transformed in a big acidophilic inclusion that is separated from the nuclear border by an artificial cliff. The Cytomegalovirus can cause cytomegalic inclusions in almost all organs. In the lungs presents as an interstitial pneumonitis with intracellular inclusions in the alveolar coating, endothelial cells from the septal capillary and alveolar macrophages (Mc Farlane et al. 1987, Demur et al. 2010, Chong et al 2009).

Regarding the histopathological aspects of RSV presents as an interstitial pneumonitis pattern, pneumonia or with the two patterns concomitance. Typical virus inclusions are not the classical finding of RSV (Cotran 1991).

Immunohistochemical methods, the direct or indirect immunofluorescence have been studied and improved for the detection specific viral and bacterial antigens through the use of polyclonal and monoclonal specific antibodies. The use of immunofluorescence for virus investigation in oropharynx secretions is classical and is broadly described in clinical trials. Some variations were found in protocols that use this technique in paraffin material (Knott et al. 1994, Wang et al. 1995, Yun et al. 1995, Miyao et al. 1999).

The importance and applicability of immunofluorescence (IF) for viral antigen detection is a reality. Many authors have compared IF with other methods used for viral detection in tissue sample and cellular suspension. The advantages of IF relative to other methods were: the relative speed in obtaining the results, accessible cost for large scale, and feedback on the quality of collected material. The last one is an advantage that differentiates IF from the other compared methods. However this method requires trained personnel for handling samples and epifluorescence microscope reading. Readings are subjective and some virus with high antigenic variability make it difficult to identification with currently available antibodies. The indirect IF proved advantageous over the direct IF in relation to good signal quality and lowest occurrence of nonspecific background staining. IF has become useful method for detection of viral antigen, it is fast and cheaper when compared to other methods (Lanari et al. 2002, Forghani & Dennis 1989, Minnich & Ray 1982, Madeley & Peiris 2002).

New respiratory virus have been identified as Human Coronavirus, Human Bocavirus and porcine Influenza virus, and laboratories around the world developed new techniques to virus detection and follow behavior of these emerging virus (Mahony, 2008, Mahony et.al 2011).

Molecular tests based on nucleic acid amplification (NAAT) for respiratory viruses were the first to be developed and are widely used today. The most popular technique of NAAT is the Polymerase Chain Reaction (PCR) consisting of an enzymatic reaction using oligonucleotides flanking the target sequence to be amplified by the action of the enzyme DNA Polymerase (Mahony, 2008).

These tests are more sensitive than other laboratory diagnostic methods, including virus isolation in cell culture, the culture shell vial (SVC), antigen detection by direct fluorescent antibody (DFA), and fast enzyme immunoassay (EIA). NAAT provides fast, accurate and sensitive detection of respiratory viruses in clinical samples (Mahony, 2008, Mahony et.al 2011).

Introduced few years ago in the routine of several laboratories, multiplex PCR is able to detect up to 19 different viruses in a single test. Many of these multiplex PCR tests are commercially available and came to be seen as the best choice for cost-effective for the detection of respiratory viruses (Mahony, 2008, Mahony et.al 2011, Mahony et al. 2009)

NAATs are highly sensitive and was in initial phase in virology laboratories, including PCR using nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) and loop-mediated isothermal amplification (LAMP) already tested for RSV even produce results in up to 30 min (Mahony et al. 2013). These techniques and multiplex PCR still associated with fluidic microarrays using microbeads or DNA chips, will make up the roll of more modern techniques in detecting viral (Mahony, 2008, Mahony et.al 2011, Mahony et al. 2013).

Studies have shown the specificity and sensitivity of molecular assays and compared to cell cultures for RSV DFA and made of NAATs to be fast, accurate and sensitive method for the detection of choice currently RSV (Mahony, 2008, Mahony et al. 2009, Mahony et al 2011, Mahony et al. 2013).

Treatment

Surveys, some in phase III, are ongoing and promising new therapies for the treatment of infections caused by RSV. To date, the treatment of diseases caused by RSV is supportive and nonspecific (Olszewka & Openshaw 2008, Carbonell-Estrany et al 2010).

Ribavirin, inhibits the virus structure proteins synthesis, reducing its replication and the immunoglobulin E response (Carvalho et al. 2007, Ottolini & Hemming 1997) and represents the only licensed anti-viral drug for treating RSV infection. It has been associated with a mild decrease in infection with usual progression and it has a restricted indication for patients with T cell deficiency (Mohapatra & Lockey 2008). It is administered by aerosol form and was indicated for infants with severe bronchiolitis and immunocompromised patients, but has a limited use owing to variable efficacy, the risk of toxicity and high cost. Nowadays, ribavirin is restricted to use in a few patients with severe heart disease in a referee centers (Olszewka & Openshaw 2008, Krilov 2002, Murray et al. 2014).

There are no approved vaccines for RSV (Varga & Braciale 2013). The development of a vaccine has been worldwide limited after the 1960's initial tests, when vaccination exacerbated the disease caused by naturally acquired virus.

The ineffectiveness of the natural infection to induce long-term immunity, circulating a variety of genotypes and the fact of a person can develop the same disease genotype more than once, has made the development of RSV vaccines even more challenging (Varga & Braciale 2013).

Polack & Karron em 2004 demonstrated studies with intranasal vaccine compounded by genetic modified organism, a bovine parainfluenza virus inserted with protein F sequence from RSV. It doesn't have infecting ability in humans and can stimulate antibodies production against the ligand protein of RSV. This type of vaccine still remain experimental.

A variety of vaccines for active immunization against RSV are now in clinical trials. Two promising new antivirals are currently in phase I/II trials to verify effectiveness in preventing severe RSV LRTI (Murray et al. 2014).

Vaccine play role in decreasing severe cases of lower airway infection by RSV (Mohopatra & Lockey 2008, Robertson et al. 2004, Varga e Braciale 2013, Murray et al 2014) and would attenuate development of subsequent recurrent wheeze in children (Stein & Martinez 2010).

Immunoprophylaxis against RSV is described as active and passive approaches. The intravenous infusion of specific immunoglobulin against RSV can attain concentration of antibodies 6 times higher than neutralizing antibodies. The Prevent Study that included 54 centers and 510 children have shown that the immunoglobulin is safe, well tolerated and can reduce in 41% the hospitalization in preterm and children with bronchopulmonary dysplasia, and could be administered for children with congenital heart disease (The PREVENT Study Group 1997).

The passive immunoprophylaxis by monoclonal humanized antibodies - palivizumab, has some success for the protection of individuals with high risk of RSV infection (Carvalho et al. 2007, Ottolini & Hemming 1997).

The palivizumab, works in binding with the A epitope of RSV's F fusion protein, preventing the virus fusion with cell receptors, the important mechanism of the RSV pathogenesis (Simões & Groothuis 2002). Many safety, effectiveness and cost-benefit studies have been developed and published (Tavares et al. 2005). Passive immunization has been effective and can reduce the hospitalization related to RSV rates up to 55%, especially in preterm children (Vieira et al. 2001, The PREVENT Study Group 1997). The American Academy of Pediatrics recommends that immunoprophylaxis with humanized monoclonal antibodies to be considered in some specific group of children that are prone to the risk of severe RSV infection (American Academy of Pediatrics 1998), such as infants and children with bronchopulmonary dysplasia, prematurity, and hemodynamically significant congenital heart disease (The Impact-RSV Study Group 1998, Pickering 2006). These groups are also considered of greater risk by the Brazilian Society of Immunization (SBIm) guidelines on the use of antibodies (Vieira et al. 2007, Sociedade Brasileira de Imunizações - SBIm 2013, American Academy of Pediatrics 1998).

Studies with a novel monoclonal antibody developed from the affinity maturation of palivizumab with the fusion protein (F) RSV - Motavizumab - are being conducted. Estrany-Carbonell et al. 2010 analyzed the effects of Motavizumab in a large number of preterm found that this was relatively higher in the lower of the low respiratory infections receiving care, with no significant difference in adverse effects when the drugs were compared. Although several promising studies, this therapy is expensive to be used on large scale and for all countries (Simões & Groothuis 2002, Rudraraju et al. 2013, Murray et al. 2014).

RSV infects children in their first months of life, which theoretically should be protected by high levels of maternal antibodies (Vieira et al. 2007). One possible explanation for this phenomenon would be the existence of a great variety of circulating genotypes of RSV, whose levels also vary over the years. Some researches believe that a child can be infected by a subgroup which the mother has no antibodies. This hypothesis is supported by the fact that the prophylactic use of synthetic immunoglobulin can protect even young children against infections (Vieira et al. 2007).

Currently strong evidence appoints to the fact that re-infection could occur and probably for the same genotypes of RSV, which usually results in milder disease (Rudraraju et al. 2013). Risks of infection are inversely associated with serum neutralizing antibody titers-specific (Rudraraju et al. 2013). There is also evidence that RSV may cause persistent infection. Persistence has been demonstrated in animals. Persistent year-round RSV detection in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is associated with airway inflammation and accelerated decline in FEV1 (forced expiratory volume of the first second), an important parameter of pulmonary function. (Olszewka & Openshaw 2008, Valarcher et al.2001).

These and other factors discussed, do the antiviral treatment and development of vaccines a complex issues.

In the absence of active immunization available, the criteria still remain restricted to the use of passive immunization and specific treatments for trial. The approach of RSV infection remains at the level of prevention, focusing on reducing pre-natal risk factors, as prematurity, passive smoking and improving hygiene practices.

REFERENCES

- Aamir UB, Alam MM, Sadia H, Zaidi SSZ, Kazi BM 2013. Molecular Characterization of Circulating Respiratory Syncytial Virus (RSV) Genotypes in Gilgit Baltistan Province of Pakistan during 2011-2012 Winter Season. *PLoS ONE* 8(9): e74018. doi:10.1371/journal.pone.0074018
- American Academy of Pediatrics 1998. Committee on

- Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn. Prevention of Respiratory Syncytial Virus Infections: indication for the use of Palivizumab and Update on the use of RSV-IGIV. *Pediatrics* 102:1211-16.
- Bekhof J, Bakker J, Reimink R, Wessels M, Langenhorst V, Brand PLP et al 2013. Co-Infections in Children Hospitalised for Bronchiolitis: Role of Roomsharing. *J Clin Med Res* 5(6): 426-31.
- Bosso PAR, Candeias JMG, Paduan KS, Ricchetti SMQ, Miranda AFM, Rugolo LMSS, Durigon EL, Ventura AM 2004. Human Respiratory Syncytial Virus detection in children admitted at a community hospital in Botucatu, SP, Brazil. *Braz J Microbiol* 35: 348-51.
- Bricks LF 2001. Prevention of respiratory syncytial virus infections. *Rev Hosp Clin Fac Med Univ Sao Paulo* 56: 79-90.
- Bueno IAC, Riccetto AGL, Morcillo AM, Arns CW, Bacarat ECE 2012. Respiratory syncytial virus, infants and intensive therapy. *Braz J Infec Dis* 16(1):86-9.
- Calegari T, Queiroz DA, Yokosawa J, Silveira HL, Costa LF, Oliveira TFM et al 2005. Clinical-epidemiological evaluation of Respiratory Syncytial Virus Infection in children attended in a Public Hospital in Midwestern Brazil. *Braz J Infec Dis* 9: 156-61.
- Carbonell-Estrany X, Simões EAF, Dagan R, Hall CB, Harris B, Hultquist M et al 2010. Motavizumab for Prophylaxis of Respiratory Syncytial Virus in High-Risk Children: A Noninferiority Trial. *Pediatrics* 125: e35-e51.
- Carvalho WB, Johnston C, Fonseca MC 2007. Bronquiolite Aguda, uma revisão atualizada. *Rev Assoc Med Bras* 53(2): 182-88.
- Chanock R, Roizman B, Myers R 1957. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). I. Isolation, properties and characterization. *Am J Trop Med Hyg* 66: 281-90.
- Checon RE, Siqueira MM, Lugon KP, Dieter R 2002. Short report: Seasonal pattern of respiratory syncytial virus in a region with a tropical climate in southeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 67: 490-1.
- Chong DC, Raboni SM, Abujamara KB, Marani DM, Nogueira MB, Tsuchiya LRV, et al 2009. Respiratory Viruses in Pediatric Necropsies: An Immunohistochemical Study. *Pediatr Develop Pathol* 12: 211-16.
- Cintra AO, Owa MA, Machado AA et al 2001. Occurrence and severity of infections caused by subgroup A and B respiratory syncytial virus in children in southeast Brazil. *J Med Virol* 65: 408-12.
- Costa LF, Yokosawa J, Mantese OC, Oliveira TFM, Silveira HL, Nepomuceno LL et al 2006. Respiratory viruses in children younger than Five years old with acute respiratory disease from 2001 to 2004 in Uberlândia, MG, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101:301-06.
- Cotran RS. O sistema respiratório 1991. In: Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Patologia Funcional e Estrutural* 4º Ed. Guanabara Koogan, p 620-65.
- Da Silva LHA, Spilki FR, Riccetto AGL, Almeida RS, Bacarat ECE, Arns CW 2008. Genetic Variability in the G Protein Gene of Human Respiratory Syncytial Virus Isolated From the Campinas Metropolitan Region, Brazil. *J Med Virol* 80:1653-1660.
- Da Silva R, Pitrez PMC, Arruda E, Mattiello R, Sarria EE, Paula FE et al 2013. Severe lower respiratory tract infection in infants and toddlers from a non-affluent population: viral etiology and co-detection as risk factors. *BMC Infectious Disease* 13:41.
- D'Élia C, Siqueira MM, Portes SA, Sant'Anna CC 2005. Infecções do Trato Respiratório Inferior pelo Vírus Sincicial Respiratório em Crianças Hospitalizadas Menores de um Ano de Idade. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 7-10.
- De Paulis M, Gilio AE, Ferraro AA, Ferronato AE, Sacramento PR, Botosso VF et al 2011. Gravidade das coinfeções virais em lactentes hospitalizados com infecção por vírus sincicial respiratório. *J Pediatr (Rio J)* 87: 307-13.
- Demur MC, Raboni SM, Fizikonski FBZ, Chong DC, Persicote AP, Nogueira MB, et al 2010. Immunohistochemical assessment of respiratory viruses in necropsy samples from lethal non-pandemic seasonal respiratory infections. *J Clin Pathol* 63: 930-34.
- Etemadi MR, Sekawi Z, Othman N, Lye M, Moghaddam FY 2013. Circulation of Human Respiratory syncytial Virus strains Among Hospitalized children with Acute Lower Respiratory Infection in Malaysia. *Evolutionary Bioinformatics* 9:151-61.
- Ferone EA, Berezin EN, Durigon GS, Finelli C, Felício MCC, Storni JC et al 2014. Clinical and epidemiological aspects related to the detection of adenovirus or respiratory syncytial virus in infants hospitalized for acute lower respiratory tract infection. *J Pediatr (Rio J)* 90(1): 42-49.
- Forghani B, Dennis J 1989. Immunoenzymatic staining. In: Schmidt NJ, Emmons RW *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*. 6º Ed p135-56.
- Knott AM, Long CE, Hall CB 1994. Parainfluenza viral infections in pediatrics outpatients: seasonal patterns and clinical characteristics. *Pediatr Infect Dis J* 13: 269-73.
- Krilov LR 2002. Safety issues related to the administration of ribavirin. *Pediatr Infect Dis J* 21(5): 479-81.
- Lanari M, Giovannini M, Giuffrè L 2002. Prevalence of respiratory syncytial virus infection in Italian infants hospitalized for acute lower respiratory tract infections, and association between respiratory syncytial virus infection risk factors and disease

- severity. *Pediatr Pulmonol* 33: 458-65.
- Lavia WV, Marks MI, Stutman HR 1992. Respiratory syncytial virus puzzle: clinical features, pathophysiology, treatment, and prevention. *J Pediatrics* 121: 503-10.
- Lourenção LG, Salomão Jr JB, Rahal P, Souza FP, Zanetta, DM 2005. Infecções pelo Vírus Sincicial Respiratório em crianças. *Pulmão RJ* 14: 59-68.
- Madeley CR, Peiris JSM 2002. Methods in virus diagnosis: immunofluorescence revisited. *J Clin Virol* 25: 121-34.
- Mahony JB 2008. Detection of Respiratory Viruses by Molecular Methods. *Clin Microbiol Rev* 21 (4): 716-47.
- Mahony JB, Blackhouse G, Babwah J, Smieja M, Buracond S, Chong S et al 2009. Cost Analysis of Multiplex PCR Testing for Diagnosing Respiratory Virus Infections. *J Clin Microbiol* 9: 2812-17.
- Mahony JB, Petrich A, Smieja M 2011. Molecular diagnosis of respiratory virus infections. *Crit Rev Clin Lab Sci* 48 (5-6): 217-49.
- Mahony JB, Chong S, Bulir D, Ruyter A, Mwawasi K, Waltho D 2013. Development of a Sensitive Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay That Provides Specimen-to-Result Diagnosis of Respiratory Syncytial Virus Infection in 30 Minutes. *J Clin Microbiol* 51(8): 2696-701.
- McFarlane MJ, Feistein AR, Wells CK, Chan CK 1987. The 'epidemiologic necropsy': unexpected detections, demographic selections, and changing rates of lung cancer. *JAMA* 258: 331-38.
- Minnich LL, Ray CG 1982. Comparison of direct and indirect immunofluorescence staining of clinical specimens for detection of respiratory syncytial virus antigen. *J Clin Microbiol* 15: 969-70.
- Miyao CR, Gilio AE, Vieira SE, Hein N, Pahl MMC, Betta SL, et al 1999. Infecções virais em crianças internadas por doença aguda do trato respiratório inferior. *J Pediatr (Rio J)* 75: 334-44.
- Mohapatra SS, Lockey RF 2008. Respiratory Syncytial Virus Infection: from biology to therapy. *World Allergy Organization J* 1: 21-28.
- Moura FE, Borges LC, Portes SA, Ramos EA, Siqueira MM 2003. Respiratory Syncytial Virus Infection during an epidemic period in Salvador, Brazil. Viral Antigenic Group analysis and description of clinical and epidemiological aspects. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 98: 739-43.
- Moura FE, Nunes IF, Silva GB, Jr, Siqueira MM 2006. Short report: Respiratory Syncytial Virus infections in Northeastern Brazil: seasonal trends and general aspects. *Am J Trop Med Hyg* 74: 165-67.
- Murray J, Saxena S, Sharland M 2014. Preventing severe respiratory syncytial virus disease: passive, active immunisation and new antivirals. *Arch Dis Child*. Jan 24. doi: 10.1136/archdischild-2013-303764. [Epub ahead of print].
- Nacul LC, Kirkwood BR, Carneiro AC, Pannuti CS, Magalhães M, Arthur P 2005. Aetiology and clinical presentation of pneumonia in hospitalized and outpatient children in Northeast Brazil and risk factors for severity. *J Health Popul Nutr* 23:6-15.
- Nascimento JP, Siqueira MM, Suttmöller F, Krawczuk VF, Ferreira V, Rodrigues MJ 1991. Longitudinal study of acute Respiratory Disease in Rio de Janeiro: occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 33: 287- 96.
- Oliveira TF, Freitas GRO, Ribeiro LZS, Yokosawa J, Siqueira MM, Portes SAP et al 2008. Prevalence and clinical aspects of respiratory syncytial virus A and B groups in children seen at Hospital de Clínicas of Uberlândia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 417-22.
- Olshewska W, Openshaw P 2009. Emerging drugs for respiratory syncytial virus infection. *Expert Opin Emerg Drugs* 14(2): 207-17.
- Ottolini MG, Hemming VG 1997. Prevention and treatment recommendations for respiratory syncytial virus infection. Background and clinical experience 40 years after discovery. *Drugs* 54: 867-84.
- Pecchini R, Berezin EN, Felício MCC, Passos SD, Souza MCD, Lima LRAV et al 2008. Incidence and clinical characteristics of the infection by the Respiratory Syncytial Virus in children admitted in Santa Casa de São Paulo Hospital. *Braz J Infec Dis* 12: 476 - 79.
- Pickering LK 2006. American Academy of Pediatrics. Respiratory syncytial virus. In: Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases, 27th ed, (Ed), American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, p.560.
- Pickering, LK 2006. Respiratory syncytial virus. American Academy of Pediatrics. In: Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases, 27th ed, American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, p.560.
- Polack FP, Karron RA 2004. The future of respiratory syncytial virus vaccine development. *Pediatr Infect Dis J* 23: 65-73.
- Ricetto AGL, Ribeiro JD, Silva MTN, Almeida RS, Arns CW, Baracat ECE 2006. Respiratory Syncytial Virus in infants hospitalized for acute lower respiratory tract disease: incidence and associated risks. *Braz J Infec Dis* 10: 357-61.
- Ricetto AGL, Da silva LHA, Spilki FR, Morcillo AM, Arns CW, Bacarat ECE 2009. Genotypes and Clinical Data of Respiratory Syncytial Virus and Metapneumovirus in Brazilian Infants: A New Perspective. *Braz J Infec Dis* 13 (1): 35-39.
- Robertson SE, Roca A, Alonso P, Simoes EAF, Kartasmita CB, Olaleye DO, et al. 2004. Respiratory syncytial virus infection: denominator-based studies in Indonesia, Mozambique, Nigeria and South Africa. *Bull World Health Organ* 82: 891-970.
- Rudraraju R, Jones BG, Sealy R, Surman SL, Hurwitz JL

2013. Respiratory Syncytial Virus: Current Progress in Vaccine Development. *Viruses* 5: 577-94.
- Salomão Júnior JB, Gardinam LGA, Simas PVM, Bittar CO, Souza FP, Rahal P, Zanetta DMT 2011. Human respiratory syncytial virus in children hospitalized for acute lower respiratory infection. *J Pediatr* (Rio J) 87: 219-24.
- Simões EAF, Groothuis JR 2002. Respiratory Syncytial Virus prophylaxis – the story so far. *Respir Med* 96 (suppl B): S15-S24.
- Sociedade Brasileira de Imunizações (SBIm) 2013. Calendário de Vacinação do Prematuro, Recomendações de Vacinação da Sociedade Brasileira de Imunizações (SBIm) 2013/14 [Internet] available from: http://www.sbim.org.br/wp-content/uploads/2013/10/prematuro_calendarios-sbim_2013-2014_130916.pdf. Accessed 2014 January 11.
- Stein RT, Martinez FD 2010. Respiratory syncytial virus and asthma: still no final answer. *Thorax* 65: 1033-1034.
- Stralioatto SM, Nestor SM, Siqueira MM 2001. Respiratory syncytial virus groups A and B in Porto Alegre, Brazil, from 1990 to 1995 and 1998. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 155-58.
- Stralioatto SM, Siqueira MM, Machado V, Maia TM 2004. Respiratory Viruses in the pediatric intensive care unit: prevalence and clinical aspects. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro 99: 883-87.
- Stralioatto SM, Siqueira MM, Muller RL, Fischer GB, Cunha ML, Nestor SM 2002. Viral etiology of acute respiratory infections among children in Porto Alegre, RS, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 283-91.
- Sutmöller F, Ferro ZP, Asensi MD, Ferreira V, Mazzei S, Cunha BL 1995. Etiology of acute respiratory tract infections among children in a combined community and hospital study in Rio de Janeiro. *Clin Infect Dis* 20: 854-60.
- Sutmöller F, Nascimento JP, Chaves JR, Ferreira V, Pereira MS 1983. Viral etiology of acute respiratory disease in Rio de Janeiro: first two years of a longitudinal study. *Bull World Health Organ* 61: 845-52.
- Tavares EC, Ribeiro JG, Oliveira LA 2005. Imunização ativa e passiva no prematuro extremo. *J Pediatr* (Rio J) 81 (Supl 1): S89-S94.
- Teper A, Fischer GB, Jones MH 2002. Sequelas respiratórias de doenças virais: do diagnóstico ao tratamento. *J Pediatr* (Rio J) 78(Supl.2): S187-S194.
- The IMPact-RSV Study Group 1998. Palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, reduces hospitalization from respiratory syncytial virus infection in high-risk infants. *Pediatrics* 102: 531-7.
- The PREVENT Study Group 1997. Reductin of respiratory syncytial virus hospitalization among premature infants and infants with bronchopulmonary dysplasia using respiratory syncytial virus immune globulin prophylaxis. *Pediatrics* 99: 93-9.
- Thomazelli LM, Vieira S, Leal AL, Sousa TS, Oliveira DB, Golono MA et al. Surveillance of eight respiratory viruses in clinical samples of pediatric patients in Southeast Brazil 2007. *J Pediatr* (Rio J) 83: 422-28.
- Timothy RP, JAMES Jr EC. Respiratory Syncytial Virus. In Mandell GL, Douglas Jr RG, Bennett JE 2008. *Principles and Practice of Infectious Disease* 3rd ed. New York, 2008: cap 225.
- Tsuchiya LR, Costa LM, Raboni SM, Nogueira MB, Pereira LA, Rotta I et al 2005. Viral respiratory infection in Curitiba, Southern Brazil. *J Infect* 51: 401-07.
- Valarcher JF, Bourhy H, Lavenu A, et al 2001. Persistent infection of B lymphocytes by bovine respiratory syncytial virus. *Virology* 291(1): 55-67.
- Van Den Hoogen BG, De Jong JC, Groen J, Kuiken T, De Groot R, Fouchier RA, et al 2001. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nature Medicine* Jun; 7: 719-24.
- Varga SM, Braciale TJ 2013. The adaptive immune response to respiratory syncytial virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 372:155-71.
- Ventre K., Randholp A 2010. Ribavirin for respiratory syncytial virus infection of the lower respiratory tract in infants and young children. *Cochrane Database Syst Rev* 2010: CD000181.
- Vieira SE, Gilio AE, Durigon EL, Ejzenberg B 2007. Lower respiratory tract infection caused by respiratory syncytial virus in infants: the role played by specific antibodies. *Clinics* 62: 709-16.
- Vieira SE, Gilio AE, Miyao CR, Pahl MMC, Lotufo JPB, Hein N et al 2002. Infecção nosocomial pelo Vírus Respiratório Sincial em enfermaria de pediatria. *Pediatrics* (São Paulo) 24: 17-24.
- Vieira SE, Stewien KE, Queiroz DA, Durigon EL, Török TJ, Anderson LJ et al 2001. Clinical patterns and seasonal trends in respiratory syncytial virus hospitalizations in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 43: 125-31.
- Wang EEL, Law BJ, Stephens D 1995. Pediatrics investigators collaborative network on infections in Canada (PICNIC) prospective study of risk factors and outcomes in patients hospitalized with respiratory syncytial viral lower tract infection. *J Pediatr* 126 :212-19.
- Weinberg GA, Erdman DD, Edwards KM, Hall CB, Walker FJ, Griffin MR, et al and the New Vaccine Surveillance Network Stud Group 2004. Superiority of reverse-transcription polymerase chain reaction to conventional viral culture in the diagnosis of acute respiratory tract infections in children. *J Infect Dis* 189: 706-10.
- Wright M, Piedimonte G 2011. Respiratory Syncytial

Virus Prevention and Therapy: Past, Present, and Future. *Pediatr Pulmonol* 46: 324-47.

Yun B, Kim M, Park J, Choi E, Lee H, Yun C 1995. Viral etiology and epidemiology of acute lower respiratory infections in Korean children. *Pediatr Infect Dis J* 14: 1054-9.

Zhang SX, Tellier R, Zafar R, Cheung R, Adachi D, Richardson SE 2009. Comparison of human metapneumovirus infection with respiratory syncytial virus infection in children. *Pediatr Infect Dis J* Nov; 28: 1022-24.

2.2 ESTUDOS REALIZADOS EM OUTROS PAÍSES

Estudo realizado por Pineros *et al.*, (2013) em 6 cidades da Colômbia determinou-se a frequência, complicações e sazonalidade da infecção pelo VSR do trato respiratório inferior, causa de hospitalização em neonatos com um ano de idade ou menor.

Os diagnósticos dos pacientes incluíram: bronquiolite em 67%, pneumonia em 23%, broncopneumonia em 9,8%, e outros em 0,3%. O teste para VSR foi positivo 30% da população estudada (PINEROS *et al.*, 2013).

Entre os fatores de risco para ITRI por VSR destaque para a idade gestacional inferior a 32 semanas ao nascimento e doença pulmonar crônica, sendo que nesta população o teste para VSR foi positivo em 28,8% dos pacientes, o que sugere que a proporção da infecção em pacientes de alto risco é semelhante à da população geral. Para estes pacientes o tempo médio de permanência hospitalar foi de 8,6 dias por paciente, e 52,9% foram internados na unidade de terapia intensiva pediátrica. Desses, 41,2% necessitaram de ventilação mecânica por 3,8 dias, em média. A taxa de mortalidade foi de 5,8% (PINEROS *et al.*, 2013).

Carballal *et al.* (2001) estudaram 1278 crianças na Argentina, menores de 5 anos de idade, internadas por infecção do trato respiratório baixo. Dessa totalidade, 74% eram menores de 1 ano e em 25,3 % dos casos o VSR foi o agente etiológico responsável. Este achado correspondeu a 78,2 % de todos os casos com etiologia viral comprovada.

2.3 ESTUDOS REALIZADOS NO BRASIL

No Brasil, estudos mostram prevalência de infecção pelo VSR variando de 5% a 71,6 % dependendo diretamente dos aspectos da região estudada, população, apresentação clínica e metodologia empregada (QUADRO 1).

Em estudo realizado por Cox *et al.* durante o ano de 1991 no interior de São Paulo com crianças de zero a 24 meses, foi concluído que toda população estudada

possuía níveis de anticorpos anti-VRS, do tipo IgG, ao final dos 24 meses de vida. Nesse estudo, os níveis de anticorpos no cordão umbilical estão elevados, diminuindo nos primeiros meses. O aumento inicia a partir do oitavo mês de vida por exposição ao VSR (COX *et al.*, 1998).

Analisando um segmento populacional com idade inferior a 5 com doença respiratória aguda, revelou maior prevalência do VRS em pacientes menores de um 1 de idade com infecções respiratórias baixas, prevalecendo em 60 % dos casos (MOURA *et al.*, 2003).

Infecção pelo VSR foi a infecção respiratória mais frequente em crianças menores de 1 ano de idade, com uma prevalência de 26 % em Porto Alegre (STRALIOTTO *et al.*, 2001).

A incidência de infecção grave do trato respiratório inferior, causada pelo VSR, com necessidade de hospitalização, em 68 lactentes nascidos com < 35 semanas de idade gestacional, durante 1 ano de seguimento médico foi determinada mais recentemente em Porto Alegre. Doze pacientes foram hospitalizados (17,64%) sendo a maior parte com diagnóstico de ITRI (MAROSTICA *et al.*, 2009).

As crianças internadas e diagnosticadas com ITRI foram submetidas à pesquisa de VSR A e B nas ocasiões das internações. obtidos. O VSR mostrou associação com 1/3 das infecções graves do trato respiratório inferior (MAROSTICA *et al.*, 2009).

Vieira *et al.*, (2002) realizou estudo com 30 crianças com idade inferior à 3 meses e identificadas com ITRI por VSR, sem comorbidades, internadas em unidade de cuidados intensivos. Do grupo analisado, 20 crianças (67%) eram do gênero masculino, e 22 (73%) nasceram a termo. Nove crianças (30%) eram portadoras de bronquiolite, 3 (10%) de pneumonia e 18 (60%) de bronquiolite associada à pneumonia. Vinte e seis pacientes (87%) necessitaram de oxigenoterapia, sendo que 33% das crianças acompanhadas foram submetidas à ventilação mecânica. Não houve óbitos.

Este estudo analisou ainda o perfil de mediadores inflamatórios (interleucinas: CCL5, sL CAM-1, IL 10, IL6 , TNF α) e a correlação com a gravidade do quadro. Sendo que as concentrações dos mediadores inflamatórios na secreção nasofaríngea e no soro dos pacientes com ITRI grave por VSR mostrou correlação significativa com sICAM-1 ($r = 0,401$; $p = 0,028$) e IL-10 ($r = 0,412$; $p = 0,024$) na

secreção nasofaríngea e com IL-6 ($r = 0,469$; $p = 0,009$) no soro (VIEIRA *et al.*, 2002).

QUADRO 1: ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS SOBRE INFECÇÃO PELO VSR REALIZADOS NO BRASIL

AUTORES	PUBLICAÇÃO	PERÍODO	IDADE	CIDADE	CLÍNICA	CONDIÇÃO	MÉTODO	AMOSTRAS	VSR +
Sutmöller F <i>et al.</i>	<i>Bulletin of the World Health Organization, 1983</i>	1980-1981	< 5 anos	Rio de Janeiro	ITRS/ ITRI	Ambulatorial	Cultura	371	2 (3%)
Nascimento JP <i>et al.</i>	<i>Rev Inst Med Trop São Paulo, 1991</i>	1982 - 1985	< 5 anos	Rio de Janeiro	ITRS/ ITRI	Ambulatorial/ Hospitalizado	IFA	2190	(13%)
Sutmöller F <i>et al.</i>	<i>Clin Inf Dis, 1995</i>	1987 - 1989	< 5 anos	Rio de Janeiro	ITRS/ ITRI	Ambulatorial/ Hospitalizado	IFA	827	(38%)
Cintra OA <i>et al.</i>	<i>J Med Virol, 2001</i>	1993- 1995	< 2 anos	Ribeirão Preto	ITRS/ ITRI	Ambulatorial/ Hospitalizado	IFA	869	188 (21,6%)
Vieira SE <i>et al.</i>	<i>Rev Inst Med Trop São Paulo, 2001</i>	1995 - 1996	< 15 anos	São Paulo	ITRI	Hospitalizado	Cultura / IFA	239	100 (41,8%)
Checon RE <i>et al.</i>	<i>AM J Trop Med Hyg, 2002</i>	1997 -1998	< 5 anos	Vitória	ITRS/ ITRI	Ambulatorial	IFA	406	114 (28%)
Straliootto SM <i>et al.</i>	<i>Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2002</i>	1990 - 1992	< 5 anos	Porto Alegre	ITRS/ ITRI	Ambulatorial/ Hospitalizado	IFA	862	226 (26,2%)
Vieira SE <i>et al.</i>	<i>Pediatria (São Paulo), 2002</i>	1996	< 15 anos	São Paulo	ITRI	Hospitalizado (Infecção Nosocomial)	IFA / Cultura	52	4 (7,6%)
Moura FES <i>et al.</i>	<i>Mem Inst Oswaldo Cruz, 2003</i>	1998	< 5 anos	Salvador	ITRS/ ITRI	Ambulatorial	IFA	482	84 (17,4%)
Straliootto SM <i>et al.</i>	<i>Mem Inst Oswaldo Cruz, 2004</i>	1996	< 7 anos	Porto Alegre	ITRI	Hospitalizado (Cuidado Intensivo)	IFA	261	71(27,2%)
Bosso PAR <i>et al.</i>	<i>Brazilian Journal of Microbiology, 2004</i>	2000-2001	< 2 anos	Botucatu	ITRI	Hospitalizado	IFA / RT-PCR	84	15(18%)

AUTORES	PUBLICAÇÃO	PERÍODO	IDADE	CIDADE	CLÍNICA	CONDIÇÃO	MÉTODO	AMOSTRAS	VSR +
Tsuchiya LR <i>et al.</i>	<i>J Infect, 2005</i>	2000-2003	< 4 anos	Curitiba	ITRI	Hospitalizado	IFA / Cultura	265	190 (71,6%)
Calegari T <i>et al.</i>	<i>The Brazilian Journal of Infectious Disease, 2005</i>	2000 - 2003	< 5 anos	Uberlândia	ITRS/ ITRI	Ambulatorial/ Hospitalizado	IFA	317	76% (24)
D'Elia C <i>et al.</i>	<i>Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2005</i>	1997 - 1998	< 1 anos	Rio de Janeiro	ITRI	Hospitalizado	IFA	89	(47,1%)
Nacul LC <i>et al.</i>	<i>J Health Popul Nutr, 2006</i>	1994 - 1995	6 - 59 m	Recife	Pneumonia	Hospitalizado	IFA	472	5%
Moura FEA <i>et al.</i>	<i>AM J Trop Med Hyg, - 2006</i>	2001 - 2004	todas idades	Fortaleza	ITRS/ ITRI	Ambulatorial/ Hospitalizado	IFA	1950	409 (21%)
Costa LF <i>et al.</i>	<i>Mem Inst Oswaldo Cruz, 2006</i>	2001 - 2004	< 5 anos	Uberlândia	ITRS/ ITRI	Ambulatorial/ Hospitalizado	IFA / PCR	379	100 (26,4%)
Ricetto AGL <i>et al.</i>	<i>The Brazilian Journal of Infectious Disease, 2006</i>	2004	< 1 years	Campinas	ITRI	Hospitalizado	IF Direta	149	26 (17,5%)
Thomazelli LM <i>et al.</i>	<i>J Pediatr (Rio J), 2007</i>	2003	< 5 anos	São Paulo	ITRI	Hospitalizado	PCR	336	(24,1%)
Vieira SE <i>et al.</i>	<i>Clinics, 2007</i>	1999 - 2000	< 1 ano	São Paulo	ITRI	Hospitalizado	IFA / Cultura	192	117 (60%)
Oliveira TFM <i>et al.</i>	<i>Mem Inst Oswaldo Cruz, 2008</i>	2000 - 2007	< 5 anos	Uberlândia	ITRI	Ambulatorial/ Hospitalizado	IFA, Cultura, PCR	475	128 (26,9%)
Pecchini R <i>et al.</i>	<i>The Brazilian Journal of Infectious Disease, 2008</i>	2005 - 2006	< 60 m	São Paulo	ITRI	Hospitalizado	IFA	455	(28%)

AUTORES	PUBLICAÇÃO	PERÍODO	IDADE	CIDADE	CLÍNICA	CONDIÇÃO	MÉTODO	AMOSTRAS	VSR +
Pecchini R <i>et al.</i>	<i>The Brazilian Journal of Infectious Disease, 2008</i>	2005 – 2006	< 60 m	São Paulo	ITRI	Hospitalizado	IFA	455	(28%)
Ricetto AGL <i>et al.</i>	<i>The Brazilian Journal of Infectious Disease, 2009</i>	2004	< 1 ano	Campinas	ITRI	Hospitalizado	PCR	144	46 (31,9 %)
Salomão Júnior JB <i>et al.</i>	<i>J Pediatr (Rio J), 2011</i>	2004 – 2005	< 6 anos	São José do Rio Preto	ITRI	Hospitalizado	RT-PCR	209	(29.3%)
Bueno IAC <i>et al.</i>	<i>The Brazilian Journal of Infectious Disease, 2012</i>	2004, 2007, 2008	< 1 ano	São Paulo	ITRI	Hospitalizado (Cuidado Intensivo)	PCR	21	8 (38,1%)
Da Silva ER <i>et al.</i>	<i>BMC Infectious Disease 2013</i>	2007	< 3 anos	Porto Alegre	ITRI	Ambulatorial/Hospitalizado	PCR	260	139 (53,5%)
Ferone EA <i>et al.</i>	<i>J Pediatr (Rio J), 2014</i>	2008 - 2011	< 2 anos	São Paulo	ITRI	Hospitalizado	PCR	813	222 (27,3%)

ITRS: Trato respiratório superior ITRI: Trato respiratório inferior
 RT-PCR: Reação em cadeia de polimerase por transcriptase reversa

PCR: Reação em cadeia de polimerase
 IF: Imunofluorescência

IFA: Ensaio de Imunofluorescência

2.4 OS DEMAIS VÍRUS RESPIRATÓRIOS

ARTIGO 2

III Manual de Alergia, Pneumologia e Dermatologia Pediátrica – 2009
Sociedade Paranaense de Pediatria

Capítulo 33

Vírus e doenças respiratórias na infância

Débora Carla Chong e Silva



INTRODUÇÃO

As infecções respiratórias agudas (IRA) são reconhecidas como as principais causas de morbidade e mortalidade na faixa etária pediátrica em todo o mundo.

Países desenvolvidos, bem como os em desenvolvimento, têm mostrado taxas de morbidade semelhantes para as IRAs, sendo a principal causa de utilização dos serviços de saúde pediátricos e responsabilizando pela maciça ocupação dos leitos de internação nos meses de clima frio.

Quando se verificam taxas de mortalidade relacionadas à IRA, estas se mostram superiores em países em desenvolvimento especialmente em crianças menores de 5 anos de idade.

Clinicamente, as IRA se dividem em infecções agudas do trato respiratório superior e infecções agudas do trato respiratório inferior. As apresentações clínicas mais comuns das infecções do trato respiratório superior são as rinosfaringes (resfriados comuns), otites e as laringites. As pneumonias, as bronquiolites e exacerbações de quadros de asma são as representantes clínicas mais frequentes das infecções do trato respiratório inferior.

Os vírus são os principais responsáveis por estas infecções chegando a ser os agentes etiológicos de até 50 a 90% das infecções agudas do trato respiratório inferior em crianças pequenas. Diante dos inúmeros estudos epidemiológicos e das constantes inovações nas técnicas de detecções virais, tem sido possível traçar o perfil etiológico e epidemiológico das IRA na pediatria.

O Vírus Sincicial Respiratório Humano (VRS), Vírus do Grupo Parainfluenza humano (VPIH – I, II e III), Influenza A e B, Adenovírus, Rinovírus e mais recentemente o Metapneumovírus humano (MPVH), Bocavírus humano (BoVH) e o Coronavírus humano (CoVH) têm sido os mais identificados.

231

Capítulo 33

Neste capítulo abordaremos individualmente cada vírus citado, suas particularidades e as apresentações clínicas mais relacionadas a cada agente na pediatria.

ADENOVÍRUS

O adenovírus é um DNA vírus, composto por dupla-fita, não envelopado. Foi isolado primeiramente nos anos 50 em culturas celulares de tecido linfóide.

Apresenta a capacidade de infectar tecidos humanos e animais. Já são reconhecidos 51 sorotipos diferentes com apresentações clínicas variadas, infectando múltiplos órgãos e sistemas, apesar de algumas delas não apresentarem sintomas.

Este vírus sobrevive por longos períodos fora do hospedeiro e estudos epidemiológicos têm demonstrado que ele ocorre endemicamente ao longo do ano todo.

Adenovírus é comumente isolado em lactentes e crianças até a idade escolar.

Sua transmissão pode ocorrer por inoculação direta em conjuntiva, via fecal-oral, aerossol de partículas contaminadas, exposição a tecidos contaminados e sangue.

São descritas 6 síndromes clínicas diferentes relacionadas à infecção pelo adenovírus: doença respiratória aguda, febre faringoconjuntival, ceratoconjuntivite epidêmica, cistite hemorrágica aguda, gastroenterite e infecções em hospedeiros imunocomprometidos.

O adenovírus tem sido citado como responsável por aproximadamente 10% das infecções do trato respiratório inferior em crianças, predominantemente os sorotipos 4 e 7. As principais manifestações clínicas nesta faixa etária são a pneumonia e a bronquiolite viral aguda (BAV), sendo que alguns estudos relacionam a presença deste vírus com maior morbimortalidade por BAV, incluindo consequências de longo prazo, como a bronquiolite obliterante.

GRUPO PARAINFLUENZA

O vírus parainfluenza humano (VPIH) apresenta uma fita simples de DNA, composto por "pontas" de glicoproteínas em sua superfície, as proteínas de fusão e hemaglutininas-neuraminidases.

Existem 4 sorotipos (1 ao 4) e 2 subtipos (4a e 4b) os quais variam em forma e tamanho entre eles.

O vírus parainfluenza é instável no meio ambiente, sobrevivendo poucas horas em superfícies externas e sendo facilmente inativado por água e sabão.

Sua transmissão se dá por contato direto de material infectado com a mucosa ocular, oral, nasal e por inalação de aerossóis provocados pelo espirro ou tosse.

Estudos sorológicos têm mostrado o grupo parainfluenza como um freqüente agente etio-

lógico em crianças com infecções do trato respiratório inferior. Similar ao vírus sincicial respiratório, este grupo causa repetidas infecções ao longo da vida, sendo que 90% a 100% das crianças até os 5 anos de idade apresentam anticorpos contra o sorotipo 3 e 75% contra o sorotipo 1 e 2. O sorotipo 4 tem sido isolado menos frequentemente, provavelmente por não aparecer associado a infecções graves.

Estudos epidemiológicos mostram que os diferentes sorotipos variam em apresentações clínicas e sazonalidade. VPIH-1 tem sido identificado em surtos bienais principalmente no outono e o VPIH-2 em surtos anuais ou bienais também no outono e ambos apresentam principalmente quadros de laringotraqueobronquites, sendo o VPIH-1 o principal agente etiológico de laringites agudas em crianças, o VPIH-2 tem sido identificado em considerável menor número nestes casos. O VPIH-3 é o sorotipo mais relacionado com quadros de bronquiolites e pneumonias e tem sido isolado ao longo de todo o ano com predomínio durante todo o inverno até o início do verão.

BOCAVÍRUS

Este vírus recentemente descoberto é do gênero *Bocavirus*, subfamília *Parvovirinae* e da família *Parvoviridae*. Foi inicialmente isolado em amostras de secreção respiratória de crianças com infecção do trato respiratório inferior na Suécia e desde então tem sido chamado de *Bocavirus* humano (BoVH). É um DNA vírus identificado a partir da análise da sequência do gene VP2.

Estudos epidemiológicos iniciais têm demonstrado certa sazonalidade com predomínio da detecção do BoVH de dezembro a junho. Estes mesmos estudos verificaram a presença do BoVH predominantemente em crianças com infecções do trato respiratório inferior especialmente bronquiolite viral aguda. Também foi encontrado em crianças com exacerbação de quadros de asma e menos frequentemente em crianças com infecções do trato respiratório superior isoladamente, semelhante às condições clínicas observadas nas infecções pelo vírus sincicial respiratório (VSR) e metapneumovírus.

Autores relatam que doenças de base como asma, bem como episódios anteriores de bronquiolite e prematuridade, foram achados de história encontrados em até 61,5% das crianças infectadas pelo BoVH.

Altas de taxas de coinfeção do BoVH, juntamente com outros vírus respiratórios, entre eles o VSR e o adenovírus, têm sido descritas na literatura.

CORONAVÍRUS

Assim chamado pelo aspecto de "coroa" que este vírus envelopado adota à microscopia eletrônica. O coronavírus humano (CoVH) é um RNA vírus, simples-fita e simetria helicoidal. Per-

Capítulo 33

tence à ordem Nidovirales e família Coronaviridae. A estrutura global do vírus ("pontas", envelope, membrana e capsídeo nuclear) é de especial importância devido às proteínas que o compõem e que conferem o tropismo às células do hospedeiro e determinam diferenças entre os três grandes grupos do gênero Coronavírus.

Estudos epidemiológicos demonstram que o Coronavírus infecta inicialmente o trato respiratório superior e gastrointestinal em mamíferos e aves; nos humanos já foram identificados 5 diferentes subtipos do vírus: CoVH-229E, CoVH-OC43, SARS-CoV e 2 outros mais recentemente descritos, nos anos 2004 e 2005, o NL63 e HKU1 respectivamente.

A principal apresentação clínica da infecção com o CoVH é o resfriado comum em adultos especialmente no inverno e no início da primavera. Em crianças, infecções do trato respiratório inferior com sibilância e tosse já foram descritas em estudos recentes.

Um grande número de publicações tem relacionado o coronavírus com a Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto (Severe acute respiratory syndrome) – este subgrupo do coronavírus foi denominado de SARS – CoV. A epidemia de SARS resultou em mais de 8.000 casos com 10% de mortalidade iniciando em países da Ásia e expandindo-se para o mundo todo o SARS-CoV apresenta uma patogênese única onde causa infecção dos tratos respiratórios superior e inferior e também gastroenterite.

METAPNEUMOVÍRUS

O vírus metapneumovírus humano (MPVH) foi isolado pela primeira vez em 2001 na Holanda, em crianças com doença do trato respiratório.

É um RNA vírus, de fita simples, pertencente à ordem Mononegavirales e à família Paramyxoviridae. A análise filogenética do MPVH demonstrou a existência de 2 linhagens genéticas principais caracterizadas como subtipos A e B e subgrupos A1 e A2, B1 e B2 respectivamente. Até os 10 anos de idade, 98% das crianças já tiveram algum contato com o vírus e reinfecções parecem ser comuns.

De considerável importância epidemiológica, o metapneumovírus humano tem sido o segundo vírus mais encontrado em crianças com doença respiratória. Estudos têm demonstrado que sua incidência pode variar a cada ano, muitas vezes competindo e até mesmo excedendo a incidência do vírus sincicial respiratório (VSR).

As manifestações clínicas da infecção pelo MPVH parecem semelhantes às causadas pelo VSR, causando desde infecções de leve à moderada intensidade em adultos e crianças maiores e quadros mais graves e até hospitalizações em crianças menores, idosos e pacientes imunocomprometidos, nestes grupos podem ocorrer febre alta, mialgias, vômitos e exacerbação de quadros de doença obstrutiva crônica. Os achados radiológicos parecem diferir entre estes dois vírus, sendo que na infecção pelo MPVH têm mostrado, mais comumente, infiltrado peri-hilar bilateral.

Estudos epidemiológicos têm associado a infecção pelo MPVH com bronquiolite aguda e presença de sibilância em crianças abaixo dos 5 anos de idade. A coinfeção é um achado freqüente envolvendo este vírus, sendo o VSR e o influenza os vírus mais comumente descritos em infecções simultâneas.

RINOVÍRUS

É o vírus mais comum em infecções respiratórias em humanos, sendo classicamente o agente causador do resfriado comum em adultos. É composto por uma fita simples de RNA, em sentido positivo, não envelopado. Apresenta um capsídeo composto por 4 tipos de proteínas: VP1, VP2, VP3, VP4. As proteínas VP1 –VP3 compõem grande parte da superfície viral, importante por funcionarem como epítopos antigênicos na formação de anticorpos contra o vírus. A proteína VP4 é responsável por estabelecer a ligação entre o capsídeo e o RNA viral. Pertence a família Picornaviridae e 2 espécies rinovírus humano A e B.

O rinovírus humano (RVH), até então descrito como causador exclusivamente de infecções do trato respiratório superior em adultos, tem sido constante alvo de pesquisas como agente etiológico de infecções do trato respiratório inferior em crianças. A associação com exacerbações de quadros de asma e a detecção deste vírus em pacientes com fibrose cística e displasia broncopulmonar tem sido descrita.

Importantes estudos epidemiológicos, com a facilitação técnica da reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR), revelaram que a presença do RVH em quadros de bronquiolite viral aguda (BVA) em lactentes tem sido freqüente. Resultados não mostram diferenças estatísticas de idade e gênero entre os pacientes com infecção pelo RVH e as observadas pelo VSR. Também a presença de sibilância recorrente e o desenvolvimento de asma após quadro agudo de BVA por RVH, principalmente em pacientes atópicos, tem sido analisada, embora caiba ressaltar que os estudos têm demonstrado a coinfeção deste vírus com outros, especialmente com o VSR.

Embora a freqüência da identificação do RVH tenha sido relevante, a apresentação clínica da infecção do trato respiratório inferior em crianças, por este vírus, parece ser de menor gravidade.

VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO

O vírus sincicial respiratório humano (VSRH) pertence à família Paramyxoviridae e ao gênero Pneumovirus. Ele é considerado um vírus pleomórfico por apresentar diversas formas e possuir um diâmetro que varia de 150 a 300 nm. Quando em cultura, este vírus é capaz de induzir

Capítulo 33

a fusão de várias células, formando um sincício. O VSRH apresenta uma fita simples de RNA em seu genoma que transcreve em múltiplos mRNAs que irá traduzir em 10 proteínas virais específicas. Dentre estas proteínas, 3 (F, G, SH) são as mais importantes por serem responsáveis por ligarem o vírus à célula hospedeira.

O vírus apresenta 2 subtipos: A e B, de acordo com a sua reatividade com anticorpos monoclonais presentes na proteína G da sua superfície. De acordo com estudos comparativos, o genótipo A apresenta maior gravidade da doença.

A detecção do VSRH é possível por meio de métodos como a imunofluorescência indireta (utilizando anticorpos monoclonais contra epítopos do vírus) ou pesquisa de material genético (PCR – RT-PCR), ambos utilizando material obtido de aspirados nasofaríngeos. O VSRH tem sido detectado em infecções simultâneas com outros vírus como o parainfluenza, influenza, adenovírus e o metapneumovírus. O estudo da coinfeção entre o VSRH e o metapneumovírus humano abordando aspectos da patogênese, sazonalidade e apresentação clínica tem sido foco de muitas pesquisas atualmente.

Estudos epidemiológicos publicados nas últimas décadas têm mostrado o VSRH como o principal agente etiológico das infecções respiratórias fato que o torna o vírus mais estudado e pesquisado em todo o mundo especialmente entre a faixa etária pediátrica.

Infecções das vias aéreas superiores (IVAS), bronquiolites agudas, pneumonias e exacerbações de quadros de asma são as principais manifestações clínicas da infecção pelo VSRH. Entre os sintomas característicos podemos citar a tosse, febre, rinorréia e a sibilância. Estudos comprovaram que o contato direto com gotículas contaminadas é a principal via de transmissão.

O VSRH tem uma distribuição mundial, com surtos anuais seguindo um padrão regular. No Brasil, os surtos do vírus ocorrem geralmente no final do outono e início do inverno, com duração de até 5 meses, marcando a lotação dos serviços pediátricos nesta época.

A profilaxia da infecção pelo VSRH é uma questão bem determinada. Estudos demonstrando a relação custo-benefício do uso do anticorpo monoclonal humanizado (palivizumabe) já estão publicados em vários países com resultados variados e estão em início no Brasil. Atualmente a tendência mundial é a de seguir as normativas da Academia Americana de Pediatria nas indicações do uso do palivizumabe, nas quais a idade gestacional (prematuridade), doenças de base como a broncodisplasia e as cardiopatias e a relação entre a data da alta hospitalar e a época do ano são os critérios mais considerados.

INFLUENZA

A gripe é causada pelo vírus influenza que vem acometendo milhares de pessoas no decorrer da história, sendo denominado como "a última grande praga" do século XX.

O vírus pertence à família Orthomyxoviridae. Apresenta-se como uma partícula esférica e

irregular, tendo em seu interior uma única fita de RNA. Ao observar as diferenças das nucleoproteínas internas, o vírus foi dividido em 3 subtipos: A, B e C. Nelas podemos verificar a presença de hemaglutina (H) e neuraminidase (N) os quais determinam a hemaglutinação e disseminação de uma celular para outra, respectivamente. Ambos os antígenos podem sofrer mutações de forma independente.

Os subtipos A e B são os responsáveis pelas epidemias sazonais que ocorrem todos os anos no país e que levam os infectados a uma variedade de sintomas. Entretanto, o subtipo C caracteriza-se pelos sintomas mais amenos muitas vezes até assintomáticos. A transmissão ocorre pelo contato direto de gotículas contaminadas. Estudos comprovaram que até 40% das crianças saudáveis são acometidas pelo vírus influenza anualmente.

Clinicamente, as crianças com o vírus apresentam febre ($> 38^{\circ}\text{C}$), mialgia, cefaléia, tosse seca e mal-estar por 3 a 4 dias. Podem apresentar como complicações ótilas médias agudas e bronquiolite.

A prevenção através de vacinas inativadas contra o vírus está sendo a melhor opção para profilaxia. Existem 2 tipos de vacinas: aquelas que possuem o vírus total inativado e outras que possuem antígenos de superfície. A quantidade de hemaglutina (H) é padronizada pela OMS, aproximadamente entre 7 e 25 μg , mas a neuraminidase (N) varia de acordo com o tipo de vacina.

Agradecimento

À acadêmica de medicina da Pontifícia Universidade Católica do Paraná Liza Uchimura pelo apoio na revisão e compilação bibliográfica.

LITERATURA RECOMENDADA

- 1 American Academy of Pediatrics. Parainfluenza Viral Infections. In: Peter G. ed. 1997 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 24th ed.; 1997:379.
- 2 Duarte DMG, Botelho C. Perfil clínico de crianças menores de cinco anos com infecção respiratória aguda. *J Pediatr (Rio J)* 2000;76(3):207-12.
- 3 Oliveira JF, Sá JPO, Cruz EM. Identificação e monitorização do vírus influenza A e B, em população de Macaé. *Cienc Saúde Coletiva* 2004;9(1):1-10.
- 4 Pítrez PMC, Stein RT, Stuermer L, Macedo IS, Schmitt VM, Jones MH, Arruda E. Bronquiolite aguda por rinovírus em lactentes jovens. *J Pediatr (Rio J)* 2005;81(5):417-20.

Capítulo 33

- 5 Woo PC, Lau SK, Chu CM. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol* 2005; 79:884-95.
- 6 Centers for Disease Control and prevention: respiratory and enteric viruses branch. Adenoviruses . Janeiro, 2005. www.cdc.gov Acessado em 6 de Janeiro de 2008.
- 7 Centers for Disease Control and prevention: respiratory and enteric viruses branch. Human Parainfluenza Viruses. Junho,2006. www.cdc.gov Acessado em 6 de Janeiro de 2008.
- 8 Foulongne V, Rodière M, Segondy M. Human Bocavirus in children. *Emerg Infect Dis* 2006;12(5) 1-4.
- 9 Foulongne V, Ofejnik Y, Perez V, Alaerts S, Rodière M, Segondy M. Human Bocavirus in French Children. *Emerg Infect Dis* 2006;12(8) 1-4.
- 10 Kussel MM, de Klerk NH, Holt PG, Keadze T, Johnston SL, Sly PD. Role of respiratory viruses in acute upper and lower respiratory tract illness in the first year of life: a birth cohort study. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(8):680-6.
- 11 Thomazelli LM, Vieira S, Leal A, Souza TS, Oliveira DBL, Golono MA, Gilio AE, Stwien KE, Erdman DD, Durigon EL. Vigilância de oito vírus respiratórios em amostras clínicas de pacientes pediátricos no sudeste do Brasil. *J Pediatr (Rio J)* 2007; 83(5): 422-428.
- 12 Manoha C, Espinosa S, Aho SL, Huet F, Pothier P. Epidemiological and clinical features of HMPV, RSV and RVs infections in young children. *J Clin Virol* 2007;38:221-6.
- 13 Regamey N, Kaiser L, Roïha HL, Deffemez C, Kuehni CE, Latzin P, Aebi C, Frey U, on behalf of the Swiss Paediatric Respiratory Research Group. Viral aetiology of acute respiratory infectious with cough in infancy: a community-based birth cohort study. *Pediatr Infect Dis J* Jan 2008 (in press).

2.5 SIBILÂNCIA, ASMA E OS VÍRUS RESPIRATÓRIOS

ARTIGO 3

Jornal Paranaense de Pediatria – 2009

ASMA E VIROSES RESPIRATÓRIAS: O OVO OU A GALINHA?

ASTHMA AND RESPIRATORY VIRUSES: WHO COMES FIRST?

Débora Carla Chong e Silva

Introdução

Infeções virais do trato respiratório são as principais causas de atendimentos pediátricos em serviços de emergência¹. O acometimento do trato respiratório inferior, representado clinicamente por bronquiolite aguda e pneumonia, chega a ser responsável por até 70% das internações de crianças nos meses de inverno¹.

Estudos epidemiológicos, com crianças portadoras de pneumonia aguda adquirida na comunidade, mostraram o vírus sincicial respiratório (VSR) como o agente etiológico mais comum nos 3 continentes^{2,3}. O VSR é um patógeno onipresente, responsável por epidemias da doença em todo o mundo⁴. Acima de 90% das crianças até os 2 anos de idade apresentam anticorpos para o VSR denotando algum contato com este vírus até esta idade⁵.

Outros vírus como o rinovírus, influenza, o grupo parainfluenza e o adenovírus também estão entre os agentes causadores de infecções do trato respiratório inferior em crianças abaixo dos 5 anos de idade^{6,7,8}. Mais recentemente o coronavírus, bocavírus e metapneumovírus foram isolados em secreções de crianças com infecções agudas do trato respiratório inferior, boa parte dos quadros apresentavam sibilos na sintomatologia^{9,10,11}.

Sibilância é um sintoma freqüente durante a infância. Em nosso meio 45% das crianças já apresentaram ao menos 1 episódio de sibilância confirmada no primeiro ano de vida¹². Presente em quadros respiratórios de crianças asmáticas e não asmáticas, tem sido um achado clínico relacionado às infecções virais do trato respiratório inferior¹³.

Além das manifestações agudas da infecção por vírus, estudos recentes sugerem uma associação entre a infecção aguda e sintomas recorrentes de sibilância e asma em adolescentes e adultos jovens¹⁴. Inúmeros autores tem estudado a relação da infecção pelo VSR e o posterior desenvolvimento de asma.

RESPOSTA IMUNOLÓGICA AO VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO

O Vírus Sincicial Respiratório Humano (VSRH) é um RNA vírus de fita simples, não segmentado pertencente ao gênero *Pneumovirus*, à subfamília *Pneumoviridae* e à família *Paramyxoviridae*. Dentre as proteínas virais traduzidas por este vírus 3, a proteína F, G e SH, são as mais importantes por serem responsáveis por ligarem o vírus à célula hospedeira¹⁵.

Há mais de 30 anos, quando percebeu-se que sintomas recorrentes eram observados em crianças com infecção anterior pelo VSR, tem-se procurado identificar a resposta imunológica responsável por este situação já no momento da infecção aguda^{16,17,18,19,20}.

Mohapatra e col. (2008), provaram que em humanos e em modelos animais os linfócitos pulmonares estimulam respostas Th1 e Th2 quando infectados pelo VSR. Estes autores listaram o envolvimento de proteínas do hospedeiro com ICAM 1, IFN γ , ERK1,2, STAT – 1/3 e PKC α como as principais envolvidas com a infecção por este vírus. IFN γ parece estar relacionado à replicação do VSR e as demais proteínas à expressão gênica precoce do vírus e à inflamação¹⁵.

Queiroz e col. (2002) analisaram a resposta imunológica humoral e celular de crianças infectadas pelo VSR e demonstraram que antes dos 3 meses de idade a taxa de soroconversão é baixa e a de detecção altos níveis de IgG específica, especialmente IgG1, se dá às custas de anticorpos maternos, os quais apresentam pouca atividade neutralizadora. Crianças maiores de 3 meses de idade,

onde ocorre predomínio da resposta celular por linfócito B (CD20), apresentam boa soroconversão. Neste estudo, ao analisar as citocinas liberadas após estimulação de células monocleares com antígenos do VSR, houve resposta específica, porém sem predomínio significativo de nenhum padrão, com produção de citocinas padrão Th1 e Th2²¹.

Quanto à gravidade da doença aguda pelo VSR, estudos já demonstraram que presença de altos níveis de IgE específica contra o vírus, bem como níveis de IL-2 e IL-10 são fatores relacionados com a gravidade do episódio agudo, duração da insuficiência respiratória e consequente maior morbidade do quadro respiratório após a alta^{22,23}.

VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO E SIBILÂNCIA RECORRENTE

Vários estudos de seguimento de crianças que foram hospitalizadas por bronquiolite pelo VSR demonstraram que cerca de 50% destas apresentaram episódios de sibilância recorrente após a alta. Os mesmos estudos mostraram desaparecimento destes episódios, em média, com 3 a 4 anos de idade¹⁶. Sigurs e col. (1995) acompanhando 47 casos de crianças com bronquiolite confirmada pelo VSR, por 3 anos, verificou que 60% apresentaram sibilância recorrente no período de acompanhamento contra 32% dos controles. Dos casos VSR positivos que 32% apresentavam relação com atopia¹⁷.

Stein e col. (1999), acompanharam crianças não hospitalizadas por infecções virais de diferentes etiologias até os 13 anos. Crianças com infecção confirmada pelo VSR apresentaram 3 a 4 vezes mais chance de sibilância recor-

Especialista em Pneumologia Pediátrica, Mestre em Ciências Biológicas – UFPR, Professora de Atenção Primária em Pediatria – PUC-PR, Professora Assistente de Pediatria – UFPR.

*DCCS: Rua Carlota Straube de Araújo, 541, casa 1, Boa Vista
e-mail: debchong@uol.com.br*

82540-220 Curitiba-PR.

rente até os 6 anos de idade quando comparado aos controles. Aos 13 anos esta diferença não foi significativa. Os demais agentes etiológicos verificados neste estudo, entres eles, o vírus influenza, o adenovírus, rinovírus, clamídia e até algumas bactérias, mostraram a mesma tendência de manter sintomas recorrentes após a infecção aguda, porém em menor consistência quando comparado ao VSR²⁶.

Atualmente, sugere-se 2 hipóteses que justifiquem esta associação:

HIPÓTESE 1: A infecção por VSR (manifestado pelo quadro de bronquiolite aguda) seria o *desencadeador* da sibilância recorrente em pacientes que já possuem uma predisposição a atopia;

HIPÓTESE 2: A infecção do VSR em uma fase precoce da vida, tornando-se o vírus o *causador* da sibilância;

O ovo ou a galinha?

Discutindo a HIPÓTESE 1

No caso de primeira hipótese o VSR seria um mero indicador de uma condição pré-existente.

Já em 1990, Larrañaga e col., sugeriram fatores que poderiam predispor uma criança a desenvolver sibilância recorrente a partir de uma infecção aguda pelo VSR²⁴:

- Hiperresponsividade á alérgenos comuns;
- Hiperresponsividade da via aérea;
- Alterações pulmonares anatômicas ou fisiológicas.

A ocorrência de produção de IgE específica ao VSR e o consequente envolvimento de mastócitos e basófilos na infecção aguda, parece ser uma condição inerente da criança infectada e ser um fator sinalizador de atopia e sibilância recorrente^{25,26}.

Deteção de histamina em secreção nasofaríngea,

leucotrieno C4 (LTC4), eosinofilia periférica e proteína eosinofílica catiônica (ECP) tem sido considerados bons marcadores de sibilância recorrente pelo fato de estarem relacionados significativamente á produção de IgE específica ao VSR quando comparados aquelas crianças que não produzem esta imunoglobulina no quadro agudo^{27,28}.

A pré-disposição de produzir uma reação de hipersensibilidade tipo I quando em contato com o VSR tem sido o fator determinante dos sintomas recorrentes.

Em relação á ocorrência de bronquiolite bem como a gravidade deste quadro ser justificada pela atopia do hospedeiro tem sido um tema controverso, bons estudos controlados tem falhado em mostrar esta relação.

Outra condição pré-existente é relacionado á hiperresponsividade brônquica a estímulos inespecíficos. Sugere-se que crianças com hiperresponsividade quando em contato com VSR e outros vírus respiratórios desencadariam bronquiolite aguda quando comparadas com crianças sem esta condição. A dificuldade de confirmar a hiperresponsividade através de exames de provocação (metacolina, histamina) e ainda mais, a realização destes exames antes do episódio de infecção aguda tem deixado esta hipótese ainda mais distante de uma confirmação^{29,30}.

Vários autores tem apoiado a idéia de que alterações anátomo-fisiológicas como alterações do calibre da via aérea, ocasionando redução da função pulmonar na infância seria um fator predisponente de sibilância por vírus. Martinez e col. (1988) demonstraram que crianças com parâmetros reduzidos de função pulmonar ao nascimento apresentaram mais frequentemente sibilância ao contato com vírus e quadros de recorrência destes sintomas até aproximadamente 3 anos de idade. Foi o primeiro estudo que atraiu a atenção de pesquisadores para os diferentes fenótipos de sibilância. Estas crianças seriam os sibilantes transitórios²⁹.

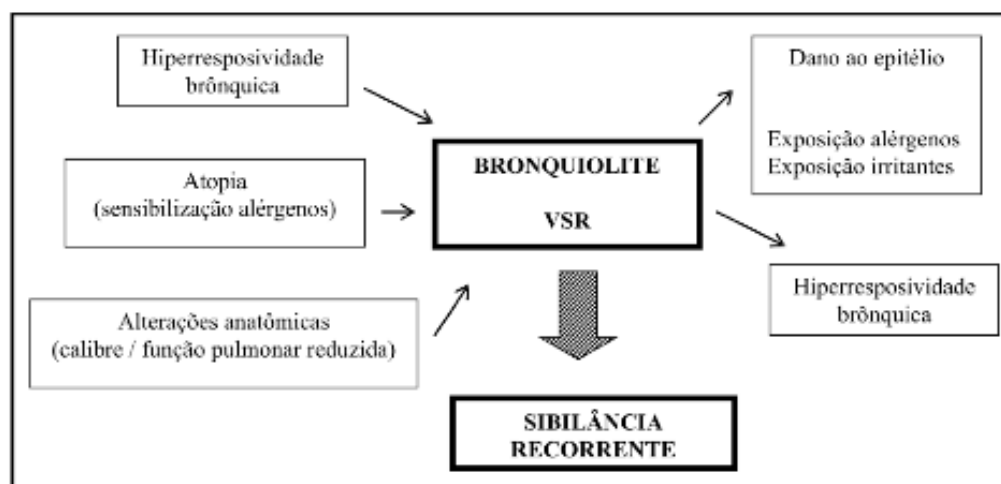


Figura 1. Esquema representativo das hipóteses de sibilância recorrente após infecção pelo VSR. Modificado de Fonseca C e col. (2003)³¹.

Discutindo a HIPÓTESE 2

Esta hipótese sustenta a idéia de que o VSR seria o causador de quadros de sibilância recorrente em crianças sem quadros pré-existentes.

Durante a bronquiolite, especialmente em quadro agudos graves, o dano da mucosa respiratória ocasionada pelo intenso processo inflamatório durante a infecção aguda, facilitaria a sensibilização por outros alérgenos ou provocaria a exposição de receptores irritativos resultando na sibilância recorrente³⁰.

Trabalhos que estudaram o comportamento de linfócitos humanos após infecção por VSR, demonstraram grande sensibilização ao ácaro *Dermatophagoides farinae*, caseína e ovoalbumina³¹.

Estudos em modelos animais confirmaram aumento da hiperresponsividade brônquica após infecção pelo VSR. Larsen e col (1999) demonstram um aumento da contração brônquica pela via colinérgica e não-adrenérgica e diminuição na broncodilatação mediada pela via inibitória destes mecanismos³².

A carência de registros de dados laboratoriais que definem o padrão de atopia e hiperresponsividade de crianças pequenas e anteriormente à infecção pelo VSR dificultam a determinação da real relação do VSR na gênese de asma e atopia na infância.

É importante lembrar de fatores como, poluição, tabagismo passivo e sensibilização a outros diferentes alérgenos fazem parte da vida destas crianças e podem interferir em diferentes proporções com quadros de sibilância recorrente durante a infância e a vida adulta.

Conclusão

Metade das crianças com infecção das vias aéreas infe-

riores pelo VSR apresentam quadros de sibilância recorrente. Duas hipóteses tem sido estudadas para justificar tal situação. Na primeira o VSR seria um desencadeante de um quadro pré-existente de atopia ou hiperresponsividade brônquica. Na segunda hipótese o VSR causaria, por dano direto, a sensibilização a diferentes aeroalérgenos, ou por determinado padrão de estimulação celular, atopia e hiperresponsividade em crianças previamente hígdas.

Estudos prospectivos e de coorte, comparados com grupos controles, poderão no futuro, elucidar o enigma desta relação.

Referências Bibliográficas

- Silva DC, Zavadniak AF, Dias JR, Dóti EM, Rosário Filho NA. Asma e atopia em crianças com infecção anterior pelo vírus respiratório sincicial. *Jornal Paranaense de Pediatria* 2001; 2: 38-41.
- Law BJ, Carbonell-Estrany X, Simoes EA. An update on respiratory syncytial virus epidemiology: a developed country perspective. *Respir Med* 2002; 96: S1-S7.
- Ducoffre G, Cauchi P, Hendrickx E. Respiratory syncytial virus epidemiology in Belgium in 1998, 1999 and 2000. *J Perinat Med* 2001; 29 (Suppl 1, Part 2): 352.
- Smyth RL, Opershaw PJM. Bronchiolitis. *Lancet* 2006; 368:312-22.
- Gleason WP, Paredos A, Allison JE, Taber KH, Frank AL. Risk of respiratory syncytial virus infection for infants from low-income families in relationship to age, sex, ethnic group, and maternal antibody level. *J Pediatr* 1981; 98:708-715.
- Macarnezny JM, Johnson S, Schoub BD. Surveillance of respiratory viruses: a 10-year laboratory-based study. *S Afr Med J* 1994; 84: 473-7.
- Hemming VG. Viral respiratory diseases in children: classification, etiology, epidemiology, and risk factors. *J Pediatr* 1994; 124: S13-S60.
- Knott AM, Long CE, Hall CB. Parainfluenza viral infections in pediatric outpatients: seasonal patterns and clinical characteristics. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 269-73.
- Woo PC, Lau SK, Chu CM. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus HKU1 from patients with pneumonia. *J Virol* 2005; 79: 884-95.
- Foukongne V, Rodière M, Segondy M. Human Bocavirus in children. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 1-4.
- Manoha C, Espinosa S, Aho SL, Huet F, Pothier P. Epidemiological and clinical features of HMPV, RSV and RVs infections in young children. *J Clin Virol* 2007; 38: 221-6.
- Chong Neto HJ, Rosário NA, Sole D, Mallol J. Prevalence of recurrent wheezing in infants. *J Pediatr (Rio J)* 2007; 83: 357-62.
- Cunha AJL, Galvão MGA, Santos M. Wheezing and respiratory infections in Brazilian children: does a standard management work? *J Tropic Pediatr* 2008; 35: 198-201.
- Selwyn BJ. The epidemiology of acute respiratory tract infection in young children: comparison of findings from several developing countries. *Rev Infect Dis* 1990; 12: S870-S880.
- Mohopatra SS, Lockey RF. Respiratory Syncytial Virus infection: from biology to therapy, a perspective. *WAO Journal* 2008; 1: 21-8.
- Sims DG, Downham MA, Gardner PS. Study of 8-year-old children with a history of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy. *BMJ* 1978; 1: 11-7.
- Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B, Brorsten B. Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: a prospective cohort study with matched controls. *Pediatrics* 1995; 95: 500-5.
- Stein RT, Sherill D, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13. *Lancet* 1999; 354: 541-5.
- Ehlenfeldt DR, Cameron K, Welliver RC. Eosinophilia at the time of respiratory syncytial virus bronchiolitis predicts childhood reactive airway disease. *Pediatrics* 2000; 105: 79-83.
- Chong-Silva DC, Raboni SM, Abujamra K, et al. Respiratory virus in pediatric necropsies: an immunohistochemical study. *Pediatr Develop Pathol* 2009; 12: 211-6.
- Queiroz DAO, Durigon EL, Botosso VF, et al. Immune response to respiratory syncytial virus in young Brazilian children. *Braz J Med Biol Res* 2002; 35: 1183-93.
- Welliver RC. Respiratory syncytial virus immunoglobulin and monoclonal antibodies in the prevention and treatment of respiratory syncytial virus infection. *Seminars in Perinatology* 1994; 22: 87-95.
- Bont L, Van Aalderen WMC, Kimpen JLL. Long-term consequences of respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis. *Paediatr Respiratory Rev* 2000; 1: 221-7.
- Larrañaga C, Avendano L. Infección por virus sincicial respiratorio humano. *Rev Chil Infectol* 1990; 7: 189-95.
- Welliver RC, Duffy L. The relationship of RSV-specific immunoglobulin E antibody responses in infancy, recurrent wheezing, and pulmonary function at age 7-8 years. *Pediatr Pulmonol* 1993; 15: 19-27.
- Caswell SJ, Thomson AH, Ashmore SP et al. Lactent sensitization to respiratory syncytial virus during acute bronchiolitis and lung function after recovery. *Arch Dis Child* 1990; 65: 946-52.
- Martinez FD, Stern DA, Wright AL et al. Differential immune response to acute lower respiratory illness in early life and subsequent development of persistent wheezing and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 915-20.
- Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F. Eosinophil cationic protein in nasal secretion and in serum and myeloperoxidase in serum in respiratory syncytial virus bronchiolitis: relation to asthma and atopy. *Acta Paediatr* 1994; 83: 1151-5.
- Martinez FD, Morgan WJ, Wright AL et al. Diminished lung function as a predisposing factor for wheezing respiratory illness in infants. *N Engl J Med* 1988; 319: 1112-7.
- Follierts G, Nijkamp FP. Virus-induced airway hyperresponsiveness - role of inflammatory cells and mediators. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1666-74.
- Noma T, Mori A, Yoshizawa I. Induction of allergen-specific IL-2 responsiveness of lymphocytes after respiratory syncytial virus infection and prediction of onset of recurrent wheezing and bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 1-26.
- Larsen GL, Colasurdo GN. Neural control mechanisms within airways: Disruption by respiratory syncytial virus. *J Pediatr* 1999; 135:S21-S27.
- Fonseca CB, Gris S. Bronchiolitis, respiratory syncytial virus and recurrent wheezing: what is the relationship? *Hosp Clin Fac Med S Paulo* 2003; 58: 39-48.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de estudo observacional, analítico do tipo coorte, com coleta de dados prospectiva.

3.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

O pacientes foram recrutados a partir do serviço de neonatologia do Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná e foram acompanhados, durante 1 ano após a alta, no serviço de pneumologia pediátrica do Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná.

O recrutamento ocorreu de março de 2008 à dezembro de 2009. Cada paciente incluído foi acompanhado por 1 ano após a alta hospitalar. O seguimento encerrou-se em dezembro de 2010.

3.3 CASUÍSTICA

Nos anos de 2008 e 2009 o serviço de neonatologia do Hospital de Clínicas era composto por unidade de terapia intensiva (UTI) com 10 leitos e unidade de cuidados intermediários com 15 leitos, que atendiam recém-nascidos com doenças de alta complexidade que nascem na maternidade do Hospital de Clínicas ou foram encaminhados de outros serviços da região.

A maternidade do Hospital de Clínicas é referência para gestações de alto risco onde, na época, eram são realizados aproximadamente 2000 partos por ano.

Quase a totalidade da ocupação do serviço de neonatologia ocorre por recém nascidos prematuros, totalizando em média 600 internações por ano.

3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- a) Lactentes de ambos os sexos que tenham nascido com ≤ 35 semanas de idade gestacional;
- b) Possibilidade da inclusão ser realizada no mesmo dia da alta do serviço de neonatologia;
- c) Menos de 6 meses de idade no momento da alta hospitalar;
- d) Crianças com possibilidade de receber seguimento médico e permitir completar as informações clínicas durante o período do estudo;
- e) O representante legal voluntariamente assinar e datar o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE), na versão aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas - UFPR (CEP), após ter recebido as informações sobre o estudo.

3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- a) Crianças com infecção prévia confirmada pelo VSR;
- b) Crianças que tenham recebido *Palivizumab*, outra imunoglobulina hiperimune ou imunoglobulina intravenosa policlonal;
- c) Retirada do TCLE;
- d) Perda de acompanhamento, não completando o mínimo de 3 consultas clínicas no período de 1 ano de seguimento.

3.6 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Todos os pacientes oriundos do serviço de neonatologia do Hospital de Clínicas que preencheram os critérios de inclusão e que não apresentaram nenhum

dos critérios de exclusão especificados foram considerados para compor a população do estudo. Cento e quinze pacientes foram recrutados e 103 concluíram o período de seguimento proposto.

3.7 AMOSTRA E TÉCNICA DE AMOSTRAGEM

Durante o período de recrutamento (2008/2009) a equipe do serviço de neonatologia comunicava ao pesquisador as altas dos recém nascidos prematuros.

A partir das crianças prematuras identificadas e antes da alta hospitalar, os pacientes tinham seus prontuários avaliados e os critérios de inclusão e exclusão revisados.

Na próxima etapa realizava-se a abordagem com os pais e/ou responsáveis, onde a explicação detalhada do estudo foi realizada com ênfase na importância do comparecimento às consultas programadas e não programadas, na identificação do evento respiratório e nos exames laboratoriais que seriam coletados. Abordava-se também, neste momento, os riscos potenciais e as variáveis de proteção relacionadas para infecção pelos vírus respiratórios.

De comum acordo e cientes do estudo, o TCLE foi assinado e datado pelos responsáveis legais na presença do pesquisador. Esta criança foi considerada incluída no estudo.

3.8 MÉTODO

3.8.1 Delineamento e plano geral do estudo

Após a inclusão, os pacientes foram acompanhados mensalmente durante os primeiros 6 meses após a alta e depois, a cada dois meses, até completarem 1 ano de seguimento médico. Em cada visita, a história social e clínica foi atualizada e o exame físico realizado. Os responsáveis foram orientados a notificar o pesquisador caso ocorresse qualquer quadro respiratório ou internação, momento em que o paciente foi reavaliado pelo pesquisador. As crianças diagnosticadas clinicamente com ITRI foram submetidas aos testes para diagnóstico viral. Os pacientes com ITRI

que não necessitaram de hospitalização foram acompanhados semanalmente por telefone, até a resolução do quadro. As crianças internadas com ITRI recebiam visitas diariamente durante a internação e depois foram acompanhadas semanalmente por telefone, até a resolução do quadro. Todas as intervenções clínicas e evoluções foram registradas.

3.8.2 Avaliações clínicas/visitas

3.8.2.1 Visita de inclusão

Realizada no serviço de neonatologia, após a assinatura do TCLE, onde foi preenchida uma ficha clínica, com dados demográficos e de nascimento: idade, sexo, idade gestacional (cronológica – Data da última menstruação (DUM) – ecográfica e pós-natal (escore de Ballard), peso ao nascimento, tipo de parto, gestações múltiplas, datas de internação e de alta hospitalar, datas de início e suspensão oxigenoterapia suplementar, necessidade de ventilação mecânica, diagnóstico de broncodisplasia pulmonar ou outra doença pulmonar crônica, cardiopatia congênita, doença neurológica, necessidade de administração de surfactante ou uso de antibióticos. Os dados sociais foram registrados: número e idade das pessoas de contato domiciliar, número de fumantes na casa, permanência em creche, nível de escolaridade dos pais, presença de animais de estimação em casa, história familiar de asma e atopia. Dados referentes ao pré-natal e às complicações durante a gestação foram pesquisados no prontuário da parturiente (obstetrícia) e registrados.

A primeira visita programada foi agendada e a data e local foram anotados para os responsáveis.

Os pais receberam o número de telefone para contato com o pesquisador caso, antes da primeira visita programada, ocorresse algum evento respiratório agudo e também um cartão de identificação caso fosse necessário comparecer ao hospital para um atendimento de emergência (ANEXO 3).

3.8.2.2 Visitas programadas

As visitas programadas ocorreram mensalmente, até os 6 meses após a alta e de 2 em 2 meses até um ano de seguimento médico. Em cada visita programada foi realizado exame físico e preenchida a ficha clínica com atualização da história clínica e social e demais dados sobre as variáveis pesquisadas.

Nos meses em que não houve visita programada, o contato telefônico com os responsáveis foi realizado onde se atualizava a história clínica e doenças e/ou episódios de hospitalização não relatados.

3.8.2.3 Visitas de encerramento

A visita programada ao final de um ano de seguimento médico. Nesta visita foi realizado o exame físico completo e os dados obtidos foram registrados na ficha clínica bem como os atualizados os dados da história clínica e social.

Os pacientes que necessitavam de continuidade de acompanhamento foram encaminhados para os ambulatórios especializados do serviço pneumologia.

3.8.2.4 Visitas não programadas

A partir da notificação, pelo responsável, de um quadro compatível com doença respiratória aguda, foi realizada a avaliação do paciente dentro de 72 horas, pelo pesquisador.

Os dados foram registrados na ficha clínica como também a atualização dos dados demográficos e sociais. Anamnese cuidadosa da história clínica atual foi realizada e o paciente era examinado para verificação de sinais de ITRI.

Os pacientes com infecção do trato respiratório superior (ITRS) passavam a ser acompanhados semanalmente, por telefone, até a resolução ou progressão do quadro. Todas as mudanças de condição e data de resolução do quadro foram documentadas.

Os pacientes com diagnóstico de ITRI, segundo os critérios definidos, foram submetidos ao lavado nasofaríngeo (LNF) para a identificação viral.

Nos casos em que o paciente era hospitalizado, o acompanhamento foi diário, durante todo o período de hospitalização. Os detalhes da evolução no hospital foram documentados na ficha clínica. Os dados registrados de maior importância incluíam: dados clínicos, oxigênio suplementar, uso de antibióticos, necessidade e duração dos cuidados intensivos, ventilação mecânica.

Após a alta hospitalar, o paciente foi acompanhado semanalmente por telefone, até a resolução do quadro.

Os pacientes com ITRI que não necessitaram de hospitalização foram acompanhados semanalmente por telefone. Sintomas persistentes, tratamentos instituídos e a data de resolução do quadro eram documentados.

Os pacientes que já estavam internados por qualquer outro motivo e que desenvolveram uma doença respiratória aguda no hospital foram acompanhados da mesma forma descrita acima para os pacientes ambulatoriais.

3.8.3 Identificação viral

3.8.3.1 Técnica do lavado nasofaríngeo (LNF)

A coleta da amostra de secreção pela técnica do LNF foi realizada pela pesquisadora após treinamento.

Uma seringa de 3-5 mL conectada a sonda de borracha de 20 cm foi preenchida com solução salina fisiológica estéril. A cabeça do paciente ficava estendida para trás, em um ângulo de 45 graus. A extremidade da sonda era introduzida em uma das narinas, até a cavidade nasal. A solução salina era injetada e imediatamente aspirada. As amostras foram transportadas, refrigeradas à 4°C, imediatamente para o laboratório. Após centrifugação da amostra, alíquotas de 250 µL foram separadas para análise rápida do VSR. O restante da amostra foi congelada à -20°C para uso posterior no teste molecular.

3.8.3.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR) vírus respiratórios

O teste de PCR foi realizado no laboratório de virologia da Universidade de São Paulo - USP, em Ribeirão Preto. Cada amostra de LNF coletada durante o estudo foi congelada a -20°C depois da retirada de $250\mu\text{L}$ para a detecção rápida de VSR. As amostras congeladas foram armazenadas e enviadas mensalmente ao laboratório citado. A refrigeração recomendada foi mantida durante todo o transporte das amostras.

Para realização da PCR foi utilizado material da TaqMan[®] (Life Technologies, Grand Island, NY, USA) contendo os *primers* e sondas para pesquisa dos vírus: VSR, Influenza A e B, Parainfluenza I, Parainfluenza III, Metapneumovírus, Rinovírus, Bocavírus, Adenovírus e Coronavírus (APÊNDICE 1).

3.9 DEFINIÇÕES DO ESTUDO

3.9.1 Definição de infecção respiratória aguda

Foi considerado infecção respiratória aguda, qualquer sinal ou sintoma, isolado ou associado, que caracterizasse acometimento agudo da via respiratória. Foram eles: coriza/ rinorreia, obstrução nasal, tosse (de qualquer característica), taquipneia, dificuldade respiratória e presença de sibilância.

A adequada percepção desses sinais e sintomas foi importante pois a partir dessa identificação os responsáveis foram orientados a acionar a equipe ou procurar atendimento médico dentro de 72 horas do aparecimento.

3.9.2 Definição de infecção do trato respiratório inferior (ITRI)

Os episódios de ITRI foram caracterizados pelo diagnóstico clínico de bronquiolite aguda ou pneumonia.

Quando no momento da avaliação clínica eram observados febre, taquipneia e presença de sibilos à ausculta, o diagnóstico clínico foi de bronquiolite aguda. Quando a febre e a taquipneia eram associadas à ausculta de estertores finos, sem

a presença de sibilos o diagnóstico clínico foi de pneumonia. Outros diagnósticos como bronquite aguda/ traqueobronquite aguda foram cogitados para algumas crianças.

Na ausência desses diagnósticos clínicos bem definidos, a caracterização dos episódios de ITRI foi determinada pelo pesquisador, após análise clínica detalhada e na presença de sintomas característicos como coriza / rinorreia, tosse e febre associados à pelo menos 1 dos seguintes sinais: taquipneia, retrações musculares (tiragens) e alteração da ausculta pulmonar como roncos, sibilos e estertores finos, sendo que, na ausência deste último grupo de sinais o evento foi caracterizado como infecção do trato respiratório superior (ITRS).

Além disso, episódios de apneia associado aos achados de ausculta pulmonar ou sintomas clínicos como febre ou coriza foram considerados como episódios de ITRI.

Durante o período de estudo, alguns pacientes apresentaram mais de 1 episódio de ITRI. Nos casos onde os sinais e sintomas característicos foram relatados após ou durante a fase de resolução de uma ITRI, o quadro foi considerado como um novo evento (nova ITRI). Foi considerado resolução do quadro quando o paciente retomava à sua condição respiratória basal ou apresentava completa melhora da doença respiratória vigente.

3.9.3 Definições dos tipos de hospitalização

Foi considerada hospitalização por VSR quando este vírus foi identificado nas seguintes condições:

- hospitalização por ITRI, avaliado clinicamente e laboratorialmente dentro das 72 horas após admissão ou
- aparecimento de sinais e sintomas respiratórios compatíveis com ITRI, de início recente, em paciente já hospitalizado, avaliado clinicamente e laboratorialmente dentro das 72 horas do surgimento dos sintomas.

3.9.4 Definição de infecção grave pelo VSR

Definiu-se como infecção grave pelo VSR, cuja determinação da incidência foi o objetivo principal do estudo, como a presença de ITRI com identificação do VSR (isolado ou em co-deteccões) que necessitou de hospitalização em enfermaria ou UTI.

3.10 REGISTRO E GERENCIAMENTO DE DADOS

Os dados clínicos, sociais e laboratoriais coletados foram anotados em ficha clínica (prontuário) e repassados para planilha exclusivamente pela pesquisadora.

Estes dados foram compartilhados com os demais grupos (centros de pesquisa) uma vez que se trata de um estudo multicêntrico.

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis numéricas, como os dados demográficos e sociais, número de hospitalizações e vírus identificados isolados ou em co-deteccões, foram expressas em média, mediana, freqüências e percentuais.

Análises univariadas foram realizadas para comparar os grupos (graves *versus* não-graves e sibilantes recorrentes *versus* não sibilantes recorrentes) de acordo com fatores pré-definidos, utilizando o teste do qui-quadrado ou teste exato de Fischer, onde foi considerado significância estatística se valor de $p < 0,05$.

3.12 ÉTICA EM PESQUISA

Em conformidade com as Boas Práticas Clínicas (BPC) o protocolo clínico, e suas emendas bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – ANEXO 2) foram revisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital de Clínicas em 25 de setembro de 2007 (ANEXO 1) (CAAE: 0213.1.208-000-07 - Registro no CEP: 1532.197/2007-090).

Durante a condução do estudo, a pesquisadora forneceu relatórios escritos ao CEP, sobre as mudanças que ocorreram no protocolo inicialmente proposto.

O pesquisador explicou a natureza do estudo à cada representante legal das crianças incluídas na pesquisa e respondeu todas as questões relacionadas ao estudo. Antes de se realizar qualquer procedimento relacionado ao estudo, o TCLE foi revisado, datado e assinado pelo representante legal do sujeito da pesquisa e pela pesquisadora. Uma cópia do TCLE foi entregue aos representantes legais.

O representante legal do sujeito da pesquisa foi informado de forma clara e detalhada sobre os objetivos do estudo, benefícios e riscos esperados, e o caráter voluntário da participação, bem como deixada aberta a possibilidade de recusar a participação da criança ou retirá-la do estudo a qualquer momento.

3.13 MONITORIZAÇÃO DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada considerando as medidas de proteção, minimização de riscos, confidencialidade, responsabilidade do pesquisador e da instituição, de acordo com o compromisso firmado com o CEP do Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná na ocasião da submissão do projeto.

3.14 FOMENTO PARA A PESQUISA, PROFISSIONAIS E SERVIÇOS ENVOLVIDOS

Este trabalho é parte de um estudo multicêntrico nacional – Incidência de Infecções Graves pelo Vírus Sincicial Respiratório em Crianças Prematuras Brasileiras – BREVI – Estudo Brasileiro do Vírus Respiratório em Lactentes Prematuros, cujos centros foram Ribeirão Preto, Curitiba e Porto Alegre.

Este estudo recebeu patrocínio da AbbVie (Abbott Brazil).

A AbbVie contribuiu para o desenho do estudo, bem como, com o material necessário para a coleta, armazenamento e transporte do LNF até o destino. Realizou também a compilação e análise estatística dos dados gerais.

Os resultados aqui apresentados (centro Curitiba) foram interpretados e analisados pela pesquisadora, individualmente.

Não foram efetuados pagamentos diretos à pesquisadora para realizar o estudo ou redigir o manuscrito.

Todas as amostras laboratoriais foram analisadas pelo laboratório de virologia da USP em Ribeirão Preto sob a responsabilidade dos doutores Flávia Escremim de Paula e Eurico Arruda.

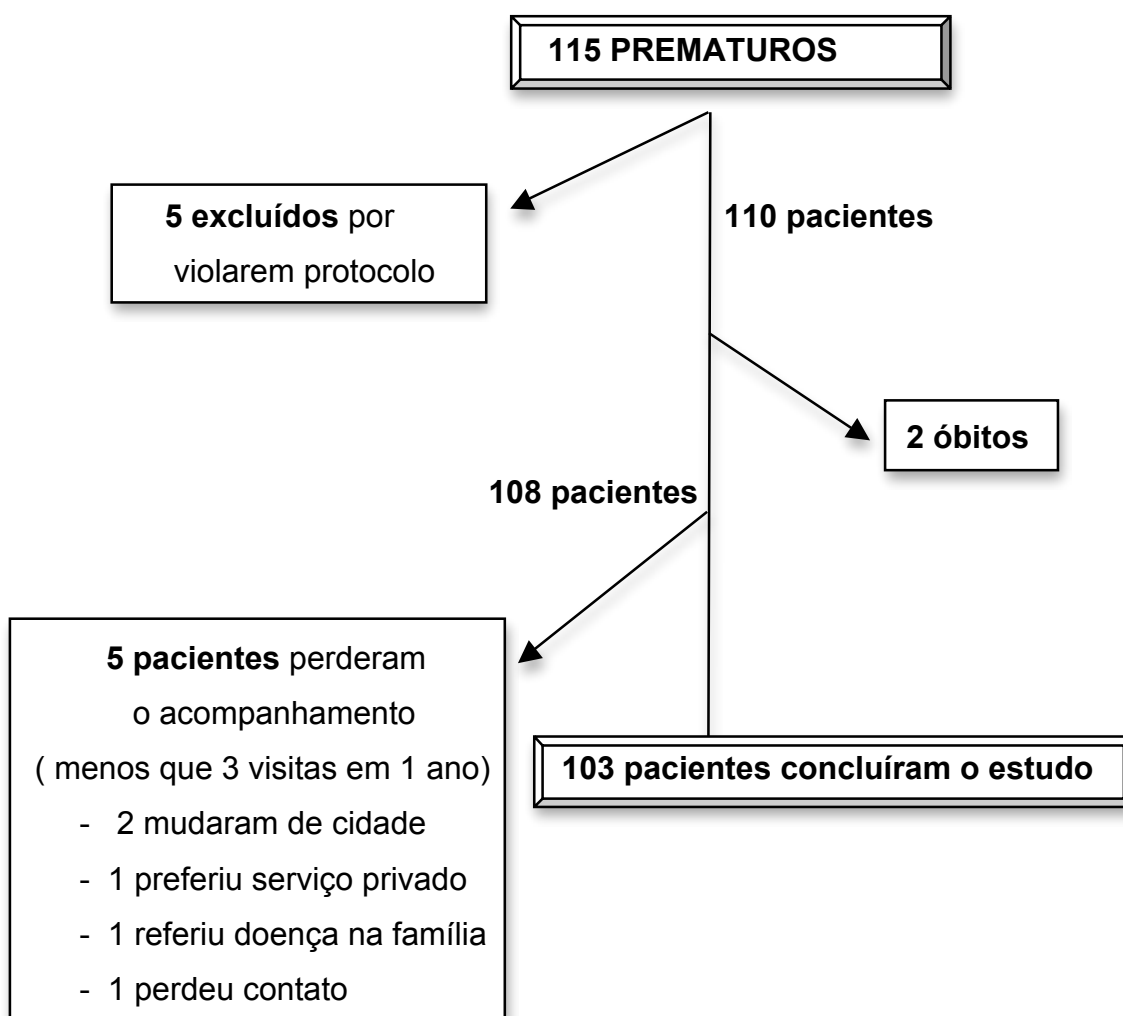
4 RESULTADOS

4.1 POPULAÇÃO

Cento e quinze prematuros foram recrutados, destes 5 foram excluídos por violarem o protocolo proposto para a pesquisa, 4 utilizaram ao menos 1 dose de Palivizumabe e 1 utilizou imunoglobulina hiperimune.

Dos 110 pacientes que iniciaram o acompanhamento 2 deles foram à óbito durante o período e 5 pacientes realizaram menos do que 3 consultas (programadas ou não programadas) durante 1 ano de acompanhamento. Diversos motivos foram relatados para a perda de acompanhamento (Algoritmo 1).

Não houve nenhum caso de retirada de TCLE.



ALGORITMO 1 – POPULAÇÃO DO ESTUDO

4.1.1 Os óbitos

Dois pacientes foram à óbito durante o estudo. Nos 2 casos o óbito foi na fase inicial do seguimento (o primeiro paciente havia comparecido à 1 consulta programada e o segundo paciente à 2 consultas programadas). Não havia relato de ITRI para os casos.

O primeiro paciente apresentava diagnóstico de cardiopatia congênita e foi a óbito no Hospital de Clínicas, logo após o atendimento emergencial. A causa da morte foi choque cardiogênico.

O segundo paciente foi a óbito na cidade de origem – Paranaguá - PR. Os dados enviados pelo hospital foram escassos e, associados aos relatos da família, sugerem infecção do sistema nervoso central como *causa mortis*.

4.2 DADOS DEMOGRÁFICOS E SOCIAIS

4.2.1 Sexo e grupo étnico

Cento e três pacientes cumpriram o acompanhamento no estudo, sendo 57 do sexo masculino (55,3%) e 46 do sexo feminino (44,6%).

Somente 4 crianças acompanhadas eram negras, a maioria da população apresentava-se como brancos (99 / 103 – 96%).

4.2.2 Idade gestacional

A idade gestacional dos pacientes acompanhados variou de 21 semanas + 5 dias até 35 semanas. Para o cálculo da idade gestacional foi dado prioridade à data da última menstruação (DUM). Idade gestacional ecográfica e cálculos pós-natais para a idade gestacional (Método de *Ballard*) só foram obtidos quando a data da última menstruação não era confiável em 16,5 % (17/103) e 0,9% (1/103) dos casos respectivamente.

Observou-se que 71 pacientes (68,9%) possuíam idade gestacional igual ou superior a 30 semanas e 32 pacientes (31%) acompanhados apresentavam idade gestacional inferior à 30 semanas (prematuridade extrema).

4.2.3 Amamentação

Na visita de inclusão 98 pacientes (96%) amamentavam ao seio materno exclusivamente. Durante o ano de acompanhamento, leites artificiais bem como alimentação sólida foi introduzida para a totalidade do grupo.

Trinta e nove pacientes (38,2%) acompanhados amamentaram exclusivamente até os 6 meses de idade cronológica.

4.2.4 História familiar de atopia

Havia relato de atopia em algum dos familiares próximos, a considerar mãe, pai ou irmãos, em 56 crianças (57,1%). A rinite foi a apresentação clínica mais encontrada, seguida de asma/bronquite.

A mãe foi o familiar mais citado em 43 casos (43,9 %), seguidos dos irmãos em 23 casos (22,8 %).

4.2.5 Condições ambientais e sociais

Quarenta e cinco crianças (44%) eram expostas ao tabagismo passivo domiciliar. O tabagista mais citado foi o pai em 47 (46,7 %), seguido da mãe em 20 casos (20%)

Das crianças acompanhadas 52 delas (52,5%) apresentavam algum tipo de animal de estimação (sendo investigados o cão, gato e outros) e em 46 casos (46,5%) as crianças estudadas conviviam com irmãos em idade escolar.

Os pais e/ou representantes legais de 100 crianças acompanhadas apresentava algum grau de escolaridade (98%), sendo que em 28 casos (27,6 %), haviam cursado o ensino fundamental, em 36 casos (35,7 %) o ensino médio e em 7 casos (7,1 %) o ensino superior.

4.2.6 Creche

Mesmo o acompanhamento tendo ocorrido no primeiro ano de vida no maior parte do tempo, 7 crianças terminaram o ano frequentando creches ou berçários. Um resumo dos dados demográficos e sociais no grupo estudado está registrado na TABELA 1.

TABELA 1 - DADOS SOCIAIS DAS CRIANÇAS ESTUDADAS

DADOS DEMOGRÁFICOS	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
Amamentação Exclusiva (n=102)	39	38,2
Atopia Familiar (n=98)	56	57,1
Tabagismo Passivo (n=101)	45	44,5
Animais Domésticos (n=99)	52	52,5
Irmãs Escolares (n=99)	46	46,5
Creche (n=99)	7	7,1

FONTE: O autor (2014)

4.3 DADOS DE NASCIMENTO

Todas as crianças incluídas neste estudo nasceram na maternidade do Hospital de Clínicas da Universidade Federal e estiveram internadas no serviço de neonatologia deste mesmo hospital.

O tempo de permanência no hospital ao nascimento variou de 1 a 113 dias, com uma mediana de 30 dias. Distress respiratório (36%), apneia (31%) e sepsis (28,4%) foram as doenças descritas como principais intercorrências no período neonatal.

Houve distribuição homogênea entre os meses de nascimento, nos anos de 2008 e 2009. Os meses onde mais crianças nasceram foi março (19,8%) e julho (13,9%) respectivamente.

4.3.1 Peso de nascimento

A média do peso de nascimento foi de 1362g, sendo que 77 pacientes (75%) dos 103 acompanhados foram classificados como adequados para idade gestacional (AIG) ao nascimento e 22 pacientes (21,7 %) foram considerados pequenos para a idade gestacional (PIG).

4.3.2 Antecedentes da gestação

Em nosso estudo, todas as gestantes foram admitidas ao serviço de obstetrícia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná previamente ao parto, o qual foi conduzido até o nascimento da criança. Em 69 casos (67,3%) as mães relatavam gestações anteriores.

Setenta e sete gestantes (77,2 %) admitidas apresentavam alguma doença identificada, sendo a doença hipertensiva específica da gestação (DHEG) a mais frequente, em 51 casos (50,4 %), isoladamente ou em associação com outras doenças. Foram identificadas nas gestantes do estudo ainda: Diabetes Gestacional, lúpus eritematoso sistêmico, AIDS, infecção urinária, cardiopatias e pneumopatias que se apresentaram isoladamente ou em associação com outras doenças (TABELA 2). Vinte e quatro gestantes (23,8%) relatavam abortos anteriores. O tipo de parto foi cesárea em 77 casos (77%).

TABELA 2 – DOENÇAS MATERNAS DURANTE AS GESTAÇÕES DAS CRIANÇAS ESTUDADAS

INTERCORRÊNCIAS GESTAÇÃO	FREQUÊNCIA	PORCENTAGEM (%)
Nenhuma	23	22,8
DHEG	51	50,4
DHEG isoladamente	34	33,7
DHEG + Gripe H1N1	1	1
DHEG + AIDS	2	2
DHEG + Lúpus Sistêmico	1	1
DHEG + Diabetes Gestacional	5	5
DHEG e outras	8	7,9
Diabetes Gestacional	2	2
Diabetes Gestacional isoladamente	1	1
Diabetes Gestacional e outras	1	1
Infecção Urinária	2	2
Cardiopatía + Asma	1	1
Fibrose Pulmonar	1	1
AIDS	2	2
Outras causas não especificadas	19	18,8

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Dados obtidos de 101 pacientes

4.3.3 Gemelaridade

Em 23 casos (23%) os pacientes acompanhados foram resultado de gestações gemelares. Houve 3 casos de trigemelaridade em nosso grupo.

4.4 QUADROS RESPIRATÓRIOS

4.4.1 As infecções do trato respiratório superior (ITRS)

Cento e quarenta e dois episódios de infecções do trato respiratório superior foram detectados durante o período e acompanhados até sua resolução. Setenta e

nove crianças (76,7%) apresentaram ITRS variando de 1 à 5 episódios (média de 3 episódios por criança).

Coriza foi o sinal clínico de maior frequência (94/142 – 66%) seguido de obstrução nasal (92/142 – 64,7%). Em 2 casos (1,4%) foi necessário utilizar antibióticos para otite média aguda associada ao quadro viral. Todos os demais casos foram tratados com medicamentos sintomáticos (99%).

Quando comparou-se o grupo de crianças que apresentaram ITRS e o grupo que não apresentou e analisou-se as variáveis de sociais e ambientais percebeu-se que crianças submetidas ao tabagismo passivo domiciliar (31/79) apresentaram mais ITRS quando comparadas as crianças sem esta exposição ($p=0,04$). A mesma significância comprovou-se ao analisar as crianças com ITRS e irmãos em idade escolar (57/76) ($p= 0,001$). Permanência em creches não mostrou-se mais frequente no grupo de crianças com episódios de ITRS (TABELA 3).

TABELA 3 - VARIÁVEIS AMBIENTAIS PARA OS QUADROS DE ITRS NAS CRIANÇAS ESTUDADAS

VARIÁVEIS DE RISCO	ITRS POSITIVO n = 79	VALOR DE P **
Tabagismo Passivo		
Sim	31	0,04
Não	48	
Frequência Creche		
Sim	4	0,14
Não	75	
Irmãos em Idade Escolar *		
Sim	57	0,001
Não	19	

FONTE: O autor (2014)

Nota: * Informação obtida de 76 pacientes ** Teste exato de Fisher

4.4.2 As infecções do trato respiratório inferior (ITRI)

Cento e trinta e sete episódios de ITRI foram detectadas conforme os critérios citados, avaliadas e acompanhadas até a resolução, durante o período do estudo.

Sibilância foi o sinal clínico mais frequentemente encontrado ao exame físico das crianças examinadas durante os episódios de ITRI. Oitenta e oito crianças episódios de ITRI apresentavam sibilos (64,2%). Oito pacientes apresentaram mais que 3 episódios de sibilância durante diferentes episódios de ITRI. Três crianças tiveram o diagnóstico clínico de pneumonia (2,1%).

Foi realizada a pesquisa de vírus no LNF, conforme o método descrito, em 125 das ITRI avaliadas. As principais razões da não análise do LNF em 12 (8,7%) casos foi amostra insuficiente e dificuldade técnica na coleta.

Houve necessidade de internamento em 20 casos de ITRI (14,5% - 20/137), sendo 12 episódios em enfermaria e 8 em UTI. Todos os casos com diagnóstico clínico de pneumonia necessitaram de internamento (2 em enfermaria e 1 em UTI), os demais 17 internamentos (10 em enfermaria e 7 em UTI) apresentavam o diagnóstico clínico de bronquiolite e por conseguinte apresentavam sibilos ao exame físico.

4.4.3 A Identificação viral

Em 125 casos de ITRI a amostra do LNF foi adequadamente obtida e analisada, conforme técnica descrita, para identificação de um grupo de vírus respiratórios. O método molecular de identificação - PCR - foi utilizado em todos os casos, com sondas e *primers* para identificação dos vírus: VSR, Influenza, Parainfluenza I, Parainfluenza III, Metapneumovírus, Rinovírus, Bocavírus, Adenovírus e Coronavírus, conforme descrito no método.

Em 34 casos (27,2 %) a pesquisa foi negativa para o grupo de vírus testado, nos demais 92 casos de ITRI (73,6%) ao menos um dos vírus pesquisados foi encontrado. Em 45 amostras foi identificado mais de um vírus (36%), variando de 2 até 4 vírus em uma mesma amostra de ITRI.

O VSR foi o vírus mais detectado, sendo encontrado em 42 análises (42/125 – 33,6%), onde, em 20 casos, foi encontrado isoladamente e em 22 casos em co-deteccões com os demais vírus pesquisados. Em 5 amostras de secreção os 2 subgrupos (A e B) do VSR foram detectados. O VSR subgrupo B foi mais freqüente (25 deteccões) quando comparado ao subgrupo A (22 deteccões).

O Bocavírus foi o segundo vírus mais encontrado nas amostras analisadas, em 8 delas, isoladamente, e em 21 em co-deteccão com outros vírus, totalizando 29 vezes.

O Rinovírus foi o terceiro vírus em frequência, detectado em 25 amostras, em 5 delas isoladamente e em 20 em co-deteccão com outros vírus.

O Metapneumovírus foi encontrado em 7 casos isoladamente e em 15 em co-deteccão com os outros vírus pesquisados.

Do grupo Parainfluenza, o Parainfluenza 3 foi encontrado em 7 casos (3 isoladamente e 4 em co-deteccões), enquanto o Parainfluenza 1 foi encontrado em 3 das amostras analisadas (1 isoladamente e 2 em co-deteccões).

O Adenovírus foi encontrado em 6 amostras e em todas em co-deteccão com outros vírus.

O vírus Influenza, do subgrupo A, foi encontrado em 3 casos, todos em co-deteccão com outros vírus. O vírus Influenza A H1N1, não foi detectado em nenhuma amostra.

O Coronavírus foi encontrado em 3 amostras (1 isoladamente e em 2 co-deteccões).

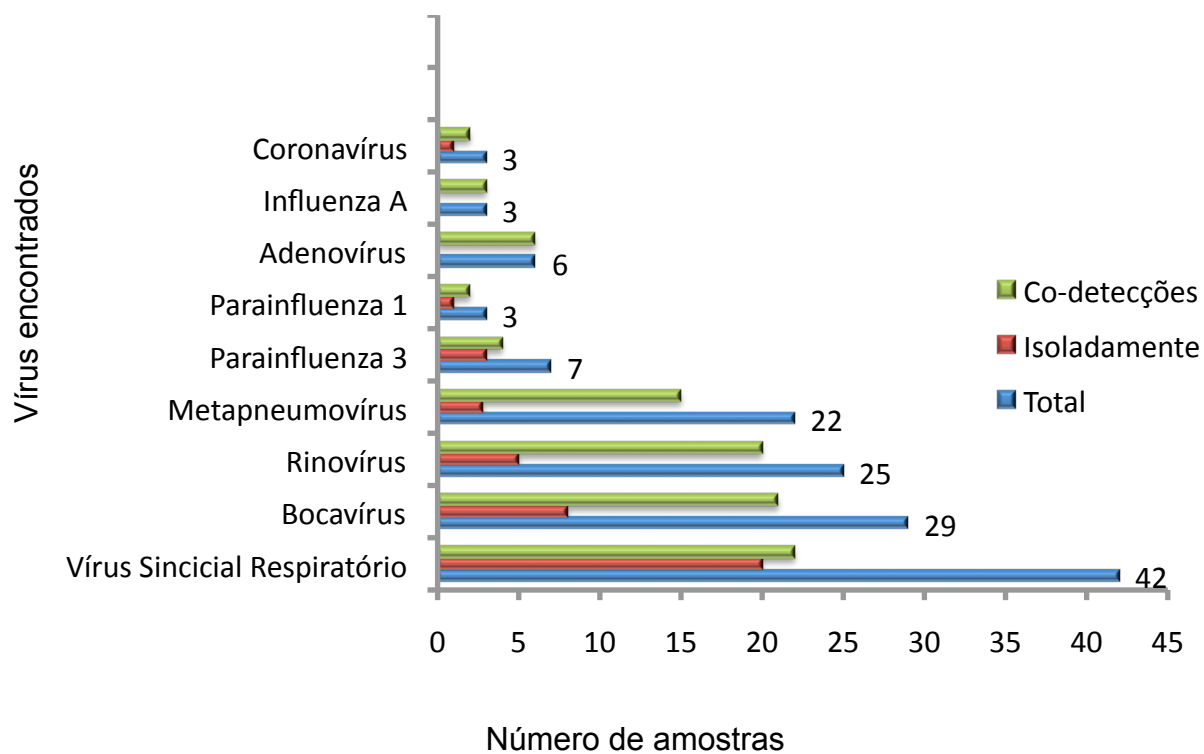


GRÁFICO 1 - FREQUÊNCIA DA IDENTIFICAÇÃO DOS VÍRUS RESPIRATÓRIOS NAS ITRI (ISOLADAMENTE OU EM CO-DETECÇÕES) (n = 125 AMOSTRAS)

4.4.4 Dados demográficos dos pacientes que necessitaram internações

Quinze pacientes necessitaram internação e 3 necessitaram de admissão hospitalar em 2 quadros diferentes de ITRI, 1 deles foi internado por 3 vezes, totalizando 20 hospitalizações. Dos pacientes que necessitaram internação, 6 pacientes apresentavam comorbidades diagnosticadas previamente, como displasia broncopulmonar, comum à 3 pacientes (TABELA 4).

Na avaliação descritiva dos pacientes internados: 11 eram do sexo masculino (73,3%), 14 brancos, 8 crianças apresentavam IG inferior à 30 semanas e 2 caso de gemelaridade (1 caso de gêmeos e 1 de trigêmeos).

4.4.5 A Identificação viral *versus* gravidade da ITRI

Dos 137 episódios de ITRI acompanhados, 20 eventos (14,5%) necessitaram de admissão hospitalar sendo que em 8 casos houve necessidade de internação em UTI. Dos 20 casos que precisaram de internação, em 2 houve falha na técnica de identificação e as amostras não puderam ser processadas e em 2 casos a identificação foi negativa para os vírus pesquisados. Das identificações negativas, o primeiro apresentava clínica compatível com pneumonia bacteriana (taquipneia, febre e desconforto respiratório) sem a presença de sibilância, e foi tratado com antibioticoterapia endovenosa. Já o segundo paciente apresentava quadro clínico de bronquiolite aguda com taquipneia, desconforto respiratório e sibilância. Dos 16 casos onde a identificação viral foi positiva, em 7 casos, após exames laboratoriais e radiográficos, o diagnóstico de pneumonia foi sugerido como complicação bacteriana secundária ao quadro inicial. Dos 8 casos internados em UTI pneumonia foi sugerido em 4 casos. Os demais casos foram diagnosticados como bronquiolite viral aguda.

O VSR foi encontrado em 45% dos casos (9 casos: 5 isoladamente e 4 em co-deteccões). O VSR subgrupo B foi encontrado em 8 quadros de ITRI que necessitaram de internação, sendo que em 4 foi identificado isoladamente. O VSR A foi identificado em 2 casos e em ambos estava em co-deteccão com outros vírus.

Dos 8 casos que necessitaram internação em UTI, o VSR esteve envolvido em 5 casos sendo 3 VSR B (em 2 casos encontrado isoladamente) e 2 VSR A.

A incidência de infecções graves com o envolvimento do VSR foi de 0,087-8,7 % (9 / 103).

O Bocavírus foi o segundo vírus mais encontrado nas secreções das crianças que necessitaram de internação: 8 vezes (2 isoladamente e 6 em co-deteções). Esteve presente em 5 casos que necessitaram terapia intensiva, em 2 isoladamente. Outros vírus também foram detectados nas análises das crianças internadas: o Adenovírus em 2 casos, o Metapneumovírus em 2 casos, Rinovírus em 1 caso e Coronavírus em 1 caso. Nenhum deste vírus foram encontrados isoladamente entre os casos internados (TABELA 4).

Os dados demográficos dos pacientes que necessitaram de internação estão descritos na TABELA 4.

Os dados sociais dos pacientes que necessitaram de internação na enfermaria e na UTI estão descritos nas TABELAS 5 e 6 respectivamente.

TABELA 4 - DADOS DEMOGRÁFICOS DOS 15 PACIENTES QUE NECESSITARAM DE INTERNAÇÃO NOS 20 EPISÓDIOS DE ITRI GRAVE.

PCTE	GÊNERO	RAÇA	IG	PN	GEMELAR	COMORBIDADES	UTI	VÍRUS
7	M	B	33+1	AIG	Não	Não	N	VSR B
10	M	B	29+6	AIG	Não	Não	N S	<i>Negativo</i> VRS B
18	M	N	29+3	AIG	Não	Broncodisplasia + Exposto ao HIV	N	NR
26	M	B	26	AIG	Não	Cardiopatia	N	VSR B
31	F	B	34+1	AIG	Não	Não	S	VSR B
32	M	B	29+5	AIG	Não	Não	N	Boca + Metapneu
33	M	B	27+5	AIG	Sim	Não	N	VRS B + Bocavírus
53	M	B	30+3	GIG	Não	Sínd. Down	N S	<i>Negativo</i> Bocavírus
63	M	B	25+2	AIG	Sim	Broncodisplasia + Hipertensão pulmonar	S	VSR A + Bocavírus
65	M	B	28	AIG	Não	Não	N	NR
70	F	B	33+4	AIG	Não	Não	N S	Bocavírus VSR A e B + Bocavírus
80	M	B	33+2	AIG	Não	Alergia à proteína do leite de vaca	S N S	Rino + Metapneumo Adenovírus + Coronavírus Bocavírus
81	F	B	30+4	AIG	Não	Não	N	VSR A e B + Metapneumo A + B
95	F	B	34+1	AIG	Não	Não	N	VSR A e B
105	M	B	29+4	AIG	Não	Broncodisplasia + neuropatia	S	Adeno + Bocavírus

FONTE: O autor (2014) NOTA: NR= Não realizado, AIG= Adequado para a Idade Gestacional, GIG= Grande para Idade Gestacional

TABELA 5 - DADOS SOCIAIS DOS CASOS INTERNADOS POR ITRI EM ENFERMARIA E A IDENTIFICAÇÃO VIRAL (n = 12 INTERNAMENTOS)

PCTE	LEITE MATERNO	CRECHE	FUMO	IRMÃOS ESCOLARES	ATOPIA FAMILIAR	ESCOLARIDADE PAIS	VÍRUS
7	Não	Não	Não	Sim	Não	< 8 anos	VSR B
10	Não	Não	Sim	Sim	Não	< 8 anos	<i>Negativo</i>
18	Não	Não	Não	Sim	Sim	< 8 anos	NR
26	Não	Não	Sim	Sim	Sim	8 – 10 anos	VSR B
32	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	> 10 anos	Boca + Metapneu
33	Não	Não	Não	Não	Não	< 8 anos	VRS B + Boca
53	Sim	Não	Sim	Sim	Não	< 8 anos	<i>Negativo</i>
65	Sim	Não	Não	Sim	Não	8 – 10 anos	NR
70	Sim	Não	Não	Sim	Não	< 8 anos	Bocavírus
80	Não	Não	Não	Sim	Sim	< 8 anos	Adenovírus + Coronavírus
81	Não	Não	Não	Sim	Sim	8 – 10 anos	VSR A e B + Metapneumo A + B
95	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	< 8 anos	VSR A e B

FONTE: O autor (2014)

NOTA: NR = não realizado

TABELA 6 - DADOS SOCIAIS DOS CASOS INTERNADOS POR ITRI EM UTI E A IDENTIFICAÇÃO VIRAL (n = 8 INTERNAMENTOS)

PCTE	LEITE MATERNO	CRECHE	FUMO	IRMÃOS ESCOLARES	ATOPIA FAMILIAR	ESCOLARIDADE PAIS	VÍRUS
18	Não	Não	Sim	Sim	Sim	< 8 anos	VRS B
31	Não	Não	Não	Sim		Analfabeto	VSR B
63	Não	Não	Sim	Não	Sim	> 10 anos	- VSR A + bocavírus - Bocavírus
80	Não	Não	Não	Sim	Sim	< 8 anos	- VSR A e B + bocavírus - Rinovírus + metapneumo
81	Não	Não	Não	Sim	Sim	8 – 10 anos	Bocavírus
105	Não	Não	Não	Sim	Não	< 8 anos	Adenovírus + bocavírus

FONTE: O autor (2014)

4.4.6 Infecção pelo VSR *versus* gravidade da ITRI

Foram 42 quadros de ITRI com identificação do VSR (isolado ou em co-deteccões). Desses, 10 quadros necessitaram de internação em 9 pacientes, sendo que 1 paciente foi internado por 2 vezes com a identificação do VSR positiva.

Trinta e dois casos, com deteção positiva para o VSR no LNF, não necessitaram de internamento durante o episódio de ITRI.

Quando comparou-se o grupo de pacientes com deteção positiva para o VSR (isoladamente ou não) com o grupo positivo para os demais vírus (isoladamente ou em co-deteccões, VSR -) para a variável necessidade de internação não percebe-se diferença estatística (TABELA 7). O mesmo constatou-se

ao comparar os casos VSR positivos com o grupo com investigação negativa para os vírus pesquisados quanto a mesma variável (TABELA 8).

Ao comparar os grupos de VSR positivo, que necessitou internação, com o grupo VSR positivo que não necessitou internação, não ocorreu diferença estatisticamente significativa quanto às variáveis demográficas, sociais e ambientais pesquisadas: sexo ($p=0,88$), raça ($p=0,40$), idade gestacional ($p=0,14$), desmame precoce ($p=0,38$), tabagismo passivo ($p=0,71$), frequência à creche ($p=,38$), aglomeração domiciliar ($p=0,51$), irmãos em idade escolar ($p=0,72$), escolaridade dos pais ($p=0,12$) e comorbidades ($p=0,16$). A comorbidade mais encontrada nas crianças com detecção positiva para o VSR durante a ITRI (9 crianças) foi a displasia broncopulmonar (3) seguido das cardiopatias (2). Ainda faziam parte do grupo crianças com doenças neurológicas, com Síndrome de Down e expostas ao vírus HIV (TABELA 9).

TABELA 7 - COMPARAÇÃO DO GRUPO COM INFECÇÃO POR VSR COM O GRUPO COM INVESTIGAÇÃO POSITIVA PARA OUTROS VÍRUS PARA A VARIÁVEL INTERNAÇÃO

INFECÇÃO	INTERNAÇÃO +	INTERNAÇÃO -
VSR +	9	33
Outros vírus + (VSR -)	10	43

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Teste exato de Fisher $p= 0,47$

TABELA 8 - COMPARAÇÃO DO GRUPO COM INFECÇÃO POR VSR COM O GRUPO COM INVESTIGAÇÃO NEGATIVA PARA OS VÍRUS PESQUISADOS PARA A VARIÁVEL INTERNAÇÃO

INFECÇÃO	INTERNAÇÃO +	INTERNAÇÃO -
VSR +	9	33
Ausência de vírus (Exame Negativo)	2	31

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Teste exato de Fisher $p= 0,98$

TABELA 9 – ASSOCIAÇÃO DAS VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS, SOCIAIS E AMBIENTAIS NOS CASOS GRAVES DE ITRI PELO VSR (NECESSITARAM DE INTERNAMENTO) X ITRI PELO VSR NÃO GRAVES (TRATAMENTO AMBULATORIAL)

VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS	ITRI GRAVE (N=9)	ITRI NÃO GRAVE (N=25)	VALOR DE P
Gênero			
Masculino	6	13	
Feminino	3	12	0,88
Raça			
Branco	8	24	0,40
Negro	1	1	
Idade Gestacional			
< 30 semanas	5	7	0,14
≥ 30 semanas	4	18	
Peso Nascimento			
AIG	9	20	0,19
PIG/ GIG	0	5	
Leite Materno			
Sim	0	3	0,38
Não	9	22	
Creche			
Sim	0	3	0,38
Não	9	22	
Fumo Passivo			
Sim	4	12	0,71
Não	5	13	
Aglomerado (> 7 pessoas/ casa)			
Sim	2	4	0,51
Não	7	21	
Irmãos Escolares			
Sim	8	22	0,72
Não	1	3	
Escolaridade Pais			
> 8 anos	3	16	0,12
< 8 anos	6	9	
Comorbidades			
Sim	4	5	0,16
Não	5	20	

FONTE: O autor (2014)

4.4.7 Presença de co-deteccção viral *versus* gravidade da ITRI

Em 45 amostras analisadas foi identificado mais de um vírus (36%), variando de 2 até 4 vírus em uma mesma amostra de ITRI.

O VSR foi o vírus mais encontrado em associação com outros vírus (22/45 – 48,8%) embora todos os vírus pesquisados terem sido detectados em co-deteccções em variadas freqüências. Das co-deteccções mais encontradas, VSR + Rinovírus e VSR + Metapneumovírus foram igualmente freqüentes em 5 casos cada um.

Ao analisarmos ITRI grave, co-deteccções foram encontrada em 8 casos (8/20 – 40%).

Ao buscarmos associação entre a deteccção isolada e a co-deteccção com gravidade (internamento) não foi encontrada diferença significativa quando avaliado o grupo para todos os vírus ($p= 0,29$ – TABELA 10) bem como para o grupo VSR isolado ou em co-deteccção com outros vírus ($p=0,40$ – TABELA 11).

TABELA 10 - COMPARAÇÃO DO GRUPO COM INFECÇÃO ISOLADA COM O GRUPO DE CO-DETECCÇÃO VIRAL PARA A VARIÁVEL INTERNAÇÃO

INFECÇÃO	INTERNAÇÃO +	INTERNAÇÃO -
Único vírus ou exame negativo	10	68
Co-deteccção viral	8	36

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Teste exato de Fisher $p= 0,29$

TABELA 11 - COMPARAÇÃO DO GRUPO COM INFECÇÃO ISOLADA PELO VSR COM O GRUPO DE CO-DETECÇÃO DO VSR E OUTROS VÍRUS PARA A VARIÁVEL INTERNAÇÃO

INFECÇÃO	INTERNAÇÃO +	INTERNAÇÃO -
VSR isolado	5	14
VSR em co-deteccção	4	18

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Teste exato de Fisher $p= 0,40$

4.4.8 Distribuição sazonal

O VSR foi identificado nos 12 meses do ano durante os três anos de estudo. É importante lembrar que no ano de 2008 o primeiro paciente incluído foi no mês de março.

A taxa mensal de infecções por VSR variou ao longo dos 3 anos consecutivos variando de 14% à 100% das amostras coletadas, totalizando positividade em 42 amostras (42/125 – 33,6%) (QUADRO 2).

Em 2008 o número de amostras coletadas foi menor e os picos melhor definidos em julho e outubro. Nos anos seguintes 2009 e 2010 houve aumento nas identificações do VSR de março à junho e um novo pico entre setembro e outubro.

NÚMERO DE AMOSTRAS COLETADAS				
	2008	2009	2010	N VSR Positivo - %
Janeiro	0	0	2	0
Fevereiro	0	2	8	0
Março	0	4	9	2 / 12 – 15%
Abril	0	2	6	2 / 8 - 25%
Maio	2	7	8	6 / 17 – 35%
Junho	0	4	9	3 / 13 - 23%
Julho	4	4	5	6 / 13 – 46%
Agosto	2	0	0	2 / 2 – 100%
Setembro	1	11	2	5 / 14 – 35,7%
Outubro	2	9	3	7 / 14 – 50%
Novembro	0	11	0	8 / 11 – 72%
Dezembro	0	4	3	1 / 7 – 14%
TOTAL AMOSTRAS	125 AMOSTRAS			42 / 125 – 33,6%

QUADRO 2 - DISTRIBUIÇÃO MENSAL DAS COLETAS DE AMOSTRAS DE LAVADO NASOFARÍNGEO NOS 3 ANOS DE ESTUDO (2008-2010) (n= 142 AMOSTRAS)

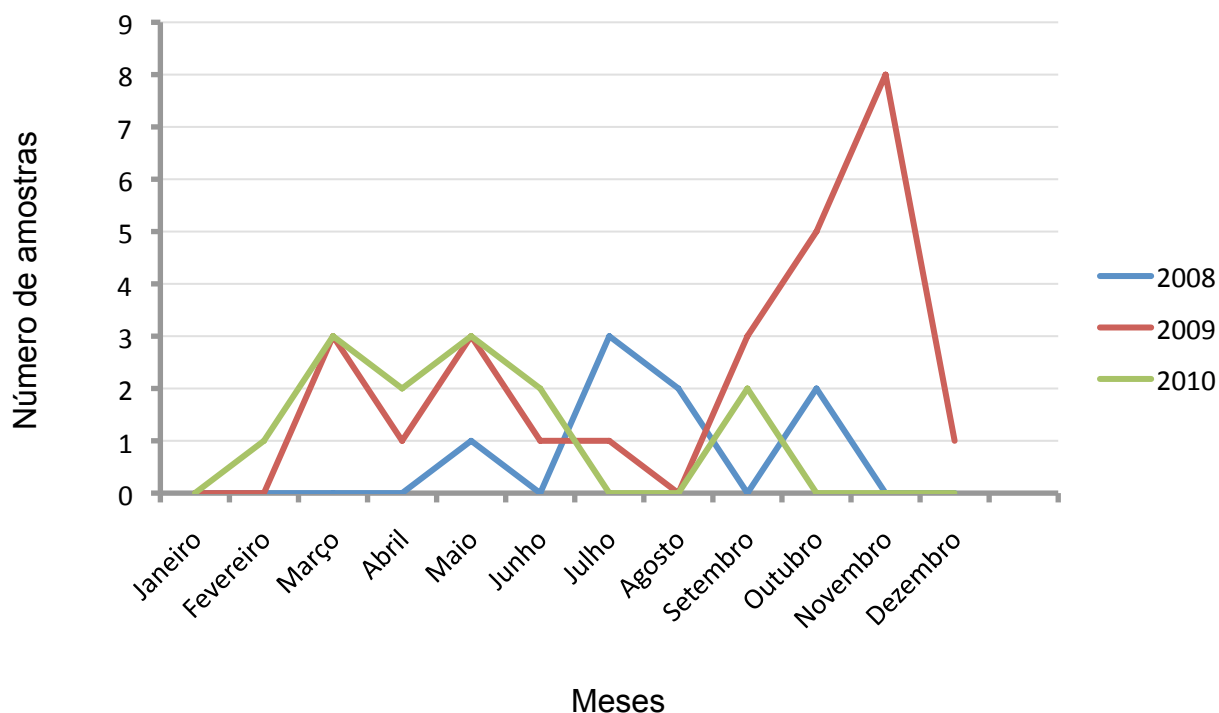


GRÁFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO MENSAL DA IDENTIFICAÇÃO DO VSR NOS 3 ANOS DE ESTUDO (2008-2010) (n= 42 AMOSTRAS)

4.4.9 Sibilância recorrente *versus* infecção pelo VSR

Nos 137 episódios de ITRI, 89 episódios (65%) em 49 pacientes, apresentaram sibilância como sinal clínico evidente. Destes, em um caso houve falha na coleta do LNF.

Dentre os episódios analisados com pesquisa viral (88) em 33 (37,5%) o VSR foi detectado isoladamente ou associado a outros vírus.

Em 34 (38,6%) episódios de ITRI outros vírus que não o VSR foram detectados, e em 21 (23,8%) casos a pesquisa viral foi negativa para o grupo de vírus testados.

Oito (8/103 – 7,7%) pacientes apresentaram recorrência dos quadros de sibilância (três vezes ou mais em média) enquanto 41 pacientes (41/103 – 39,4%) sibilaram no máximo 2 vezes durante o período de acompanhamento.

A frequência dos episódios de sibilância na presença da infecção pelo VSR, detectada no momento da ITRI (33 episódios) quando comparada à presença de

sibilância com VSR negativo (55 episódios) não mostrou diferença significativa com $p=0,84$ (TABELA 10).

Quando estratificamos ainda mais essa associação, comparando o grupo de ITRI com sibilância com infecção pelo VSR (33 episódios), com o grupo de positivo para outros vírus (34 episódios) e também quando comparado com as ITRI com a pesquisa negativa para os vírus testados (21 episódios) não houve diferença entre si onde $p= 0,68$ e $p= 0,15$ respectivamente (TABELAS 11 e 12)

Todos os pacientes que apresentaram sibilância recorrente, 3 vezes ou mais, durante o período de acompanhamento do estudo tiveram a detecção positiva para o VSR em ao menos um dos quadros de ITRI.

O grupo com infecção anterior pelo VSR em algum episódio de ITRI não estava correlacionado com história familiar positiva para atopia ($p=0,09$) (TABELA13).

No grupo não exposto anteriormente ao VSR não houve casos de sibilância recorrente.

Os dados sociais das crianças que apresentaram sibilância recorrente bem como os vírus encontrados em cada ITRI estão descritos na TABELA 14.

TABELA 12 - ASSOCIAÇÃO ENTRE INFECÇÃO PELO VSR E PRESENÇA DE SIBILÂNCIA DURANTE ITRI NAS CRIANÇAS ESTUDADAS

INFECÇÃO	SIBILÂNCIA +	SIBILÂNCIA -
VSR + (isolado ou associado outros vírus)	33 (37,5%)	13 (30,2%)
VSR - (outros vírus ou exame negativo)	55 (62%)	30 (69,7%)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Teste exato de Fisher $p=0,84$

TABELA 13 - ASSOCIAÇÃO DA INFECÇÃO PELO VSR E OUTROS VÍRUS E SIBILÂNCIA DURANTE ITRI NAS CRIANÇAS ESTUDADAS

INFECÇÃO	SIBILÂNCIA +	SIBILÂNCIA -
VSR + (isolado ou associado outros vírus)	33 (37,5%)	13 (30,2%)
OUTROS VÍRUS (VSR -)	34 (38,6%)	15 (34,8%)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Teste exato de Fisher $p=0,68$

TABELA 14 - ASSOCIAÇÃO DA PRESENÇA DE SIBILÂNCIA COM INFECÇÃO PELO VSR E AUSÊNCIA DE VÍRUS

INFECÇÃO	SIBILÂNCIA +	SIBILÂNCIA -
VSR + (isolado ou associado outros vírus)	33 (37,5%)	13 (30,2%)
AUSÊNCIA VÍRUS	21 (23,8%)	15 (34,8%)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Teste exato de Fisher $p= 0,15$

TABELA 15 - SIBILÂNCIA RECORRENTE E HISTÓRIA FAMILIAR DE ATOPIA NO GRUPO COM INFECÇÃO ANTERIOR PELO VSR EM ITRI

ATOPIA	SIBILÂNCIA + (n=8)	SIBILÂNCIA - (n=19)
Atopia Familiar + (VSR +)	5	5
Atopia Familiar - (VSR +)	3	14

FONTE: O autor (2014) NOTA: Teste exato de Fisher $p= 0,09$

TABELA 16 - DADOS SOCIAIS DAS CRIANÇAS COM SIBILÂNCIA RECORRENTE (>3 VEZES)

PCTE	LEITE MATERNO	CRECHE	FUMO	IRMÃOS ESCOLARES	ATOPIA FAMILIAR	EPISÓDIOS SIBILÂNCIA	VÍRUS
28	Não	Não	Sim	Sim	Não	3 x	- Parainfluenza III - VSR A e B - VSR B
53	Sim	Não	Sim	Sim	Não	3 x	- VSR A + bocavírus - Parainfluenza III + rinovírus - <i>NEGATIVO</i>
63	Não	Não	Sim	Sim	Sim	4x	- Bocavírus - VSR A + bocavírus - VSR A + metapneumo A e B - <i>NEGATIVO</i>
79	Não	Não	Não	Sim	Sim	3 x	- VSR A + metapneumo A e B - VSR A e B + rinovírus - <i>NEGATIVO</i>
80	Não	Não	Não	Sim	Sim	6 x	- VSR A + bocavírus - VSR B + metapneumo B + rinovírus - <i>NEGATIVO</i> - <i>NEGATIVO</i>
81	Não	Não	Não	Sim	Sim	3 x	- Adenovírus + coronavírus - Adenovírus + coronavírus - Bocavírus - Bocavírus + rinovírus - VSR A e B + metapneumo A e B
111	Não	Não	Sim	Sim	Sim	4x	- Bocavírus + bocavírus - VSR A + bocavírus - <i>NEGATIVO</i>
112	Não	Não	Não	Sim	Não	5 x	- Coronavírus - Metapneumo A - VSR A e B - <i>NEGATIVO</i> - Metapneumo B - Parainflu III + metapneumo B

5 DISCUSSÃO

Os estudos longitudinais, especialmente os estudos de coorte, ainda representam um grande desafio aos pesquisadores no mundo todo.

Esses estudos caracterizam-se por iniciar com um grupo de indivíduos livres de doença onde as variáveis de interesse são especificadas e medidas e a coorte inteira acompanhada, com o objetivo de ver o surgimento de novos casos da doença pesquisada ou outros desfechos, bem como, se esses diferem entre os grupos, conforme a presença ou não de exposição (BONITA *et al.* 2006).

Os estudos de coorte fornecem a melhor informação sobre a etiologia das doenças e a medida mais direta do risco de desenvolvê-la (BONITA *et al.* 2006).

Esse trabalho mostra a experiência de recrutamento e acompanhamento de 115 crianças prematuras nascidas entre março de 2008 a dezembro de 2009 na maternidade do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os principais desafios enfrentados no período foram manter o acompanhamento por 1 ano, sem faltas nas avaliações clínicas programadas; tornar conhecida à equipe todos os casos de infecção respiratória, avaliá-las e coletar os exames propostos para este evento e acompanhar diariamente os casos internados.

Dos 115 pacientes recrutados, 103 puderam ter os resultados de seus acompanhamentos analisados. Violação do protocolo (critérios de exclusão), óbitos (2 casos) e perda de *follow-up* foram os motivos da redução de 10,4% da amostra inicial.

Na pneumopediatria, estudos de coorte consagraram-se nas últimas décadas, mudando conceitos e fazendo história na especialidade. Dificuldade de recrutamento e retenção dos pacientes durante o acompanhamento foram os maiores desafios relatados pelos pesquisadores (VICTORIA *et al.*, 1996; NAFSTAD *et al.*, 2005).

O interesse em pesquisar as infecções causadas pelo VSR é pela reconhecida pela relação deste vírus com alta mortalidade e morbidade em crianças menores de 18 meses de vida (LAVIA *et al.*, 1992; STRALIOTTO *et al.*, 2004; D'ELIA *et al.*, 2005; MOHAPATRA E LOCKEY 2008). Estudos epidemiológicos mostraram que o VSR é responsável por 50 % a 90 % das internações hospitalares em crianças com bronquiolite e 5% a 40 % daqueles relacionados à pneumonia, sendo

considerado o principal agente responsável pela morte das crianças durante o inverno (STRALIOTTO *et al.*, 2004).

Estudos realizados em vários países têm mostrado que até 90 % das crianças em torno de 2 anos de idade apresentam anticorpos contra RSV, o que indica que foram infectados, em algum momento no início de suas vidas (LAVIA *et al.*, 1992; SIMÕES *et al.*, 1999, ROBERTSON *et al.*, 2004; PICKERING *et al.*, 2006).

As diferentes regiões do Brasil têm relatado dados epidemiológicos sobre a frequência da infecção por VSR em crianças. Os primeiros estudos datam da década de 80 e desde então têm sido realizados periodicamente avaliando crianças menores de 5 anos de idade, hospitalizadas ou nas salas de emergência de hospitais pediátricos. A frequência de identificação RSV, isolado em secreções de nasofaringe (lavado nasofaríngeo - LNF), variou de 3% a 60% nesses estudos. A análise crítica é necessária e a comparação dos resultados deve ser feita com cuidado uma vez que os métodos de identificação eram diferentes e os números tendem a aumentar em casos graves que resultam na hospitalização (D'ELIA *et al.*, 2005; SUTMÖLLER *et al.*, 1983; NASCIMENTO *et al.*, 1991; SUTMÖLLER *et al.*, 1995; SINTRA *et al.*, 2001; VIEIRA *et al.*, 2001; CHECON *et al.*, 2002; STRALIOTTO *et al.*, 2002; VIEIRA *et al.*, 2002; MOURA *et al.*, 2003; STRALIOTTO *et al.*, 2004; BOSSO *et al.*, 2004; TSUCHIYA *et al.*, 2005; CALEGARI *et al.*, 2005; NACUL *et al.*, 2005; MOURA *et al.*, 2006; COSTA *et al.*, 2006; RICCETTO *et al.*, 2006; THOMAZELLI *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2008; PECCHINI *et al.*, 2008; SALOMÃO *et al.*, 2011).

Neste estudo foram acompanhados 103 prematuros, com IG igual ou menor que 35 semanas, nascidos na maternidade de um hospital universitário durante o primeiro ano após a alta hospitalar.

A amostra foi homogênea quanto ao sexo onde 55,3% eram do sexo masculino e 44,6% do feminino. A média de peso ao nascimento foi 1362g, o que é considerado baixo peso ao nascer (peso menor que 1500g), porém quando analisado a adequação deste peso para a idade gestacional, 75% das crianças acompanhadas foram consideradas com peso adequado (AIG) ao nascimento uma vez que eram prematuras.

Dados publicados anteriormente mostraram que entre crianças saudáveis, as do sexo masculino têm maior probabilidade de desenvolverem doença grave pelo VSR em comparação com as crianças cujo sexo é feminino, e as crianças pequenas para

a idade gestacional têm maior probabilidade de desenvolverem doença grave que as crianças com peso adequado (STENSBALLE *et al.*, 2010; PARK *et al.*, 2012).

Variáveis sociais e ambientais foram pesquisadas buscando uma associação significativa com ITRI grave pelo VSR neste estudo. Nível de escolaridade dos pais, aglomerações domiciliares, tabagismo passivo, frequência às creches, convívio com irmãos em idade escolar e desmame precoce foram pesquisados.

Percebemos que no grupo estudado menos da metade (38%) das crianças foram amamentadas exclusivamente até os 6 meses de idade. Quarenta e cinco por cento eram expostas ao tabagismo passivo, 52,5% apresentavam convívio próximo com animais domésticos e quase metade (46,5%) conviviam com irmãos em idade escolar e apesar do estudo acompanhar crianças prematuras e, na maior parte, no primeiro ano de vida, 7 casos terminaram o ano freqüentando creches ou berçários. A maioria dos pais (98%) apresentava algum grau de instrução, sendo que apenas 7,1% relataram completar o ensino superior.

Achados anteriores mostraram uma associação de educação materna superior à diminuição do risco para gravidade da infecção pelo VSR (HOLBERG *et al.*, 1991). Outros estudos também correlacionaram a taxa de ITRI grave pelo VSR com a exposição à fumaça do tabaco doméstico (CINTRA *et al.*, 2001; BRADLEY *et al.*, 2005; SEMPLE *et al.*, 2011; ALONSO *et al.*, 2012), a permanência em creches, ambientes domésticos superpovoados e contato com crianças menores em casa, especialmente àquelas em idade escolar (LAMARAO *et al.*, 2012).

Quando avaliamos o comprometimento respiratório das vias aéreas superiores (ITRS) estes episódios foram estatisticamente mais significativos em crianças expostas ao tabagismo passivo ($p=0,04$) e irmãos em idade escolar ($p=0,001$) de acordo com que a literatura apresenta (PEREIRA *et al.*, 2005; BEST D, 2009).

Porém quando buscou-se a associação entre os fatores ambientais e sociais relatados e a internação em ITRI por VSR, não foi constatado diferença significativa entre as internações e as variáveis citadas. O grande número de vírus identificados em associação ao VSR com a dificuldade de entender-se exatamente o impacto destas co-detecções no contexto da infecção e o relativo curto tempo de acompanhamento, podem ser a justificativa para não encontramos relação entre as variáveis citadas e a gravidade da infecção pelo VSR.

Durante um ano de acompanhamento dos prematuros, identificou-se, seguindo os critérios clínicos, 137 ITRI, destas 125 com identificação viral. O VSR esteve presente isoladamente ou em co-deteccões em 42 episódios (33,4%) seguido do bocavírus (23,5%) e do rinovírus (20%). Quando analisou-se as ITRI graves, determinada pela necessidade de internação, nossos resultados mostraram 20 episódios, sendo que em 45% deles (9/20) o VSR foi identificado isoladamente ou em co-deteccões. A incidência de infecção grave pelo VSR foi de 8,7% e a taxa de hospitalização de 21,4%. Mais importante ainda, dos 20 episódios de ITRI graves que resultaram em internação, 8 necessitaram de suporte ventilatório sendo transferidos à Unidade de Terapia Intensiva onde o VSR foi identificado em cinco casos (2 isoladamente).

A associação do VSR com infecção respiratória grave foi documentado em uma série de estudos internacionais e nacionais, por várias regiões do Brasil e o envolvimento deste vírus em quadros de ITRI graves em pacientes hospitalizados já foi bem documentado (VIEIRA *et al.*, 2001; STRALIOTTO *et al.*, 2004; THOMAZELLI *et al.*, 2007; SALOMÃO JÚNIOR *et al.*, 2011; FERONE *et al.*, 2014) com frequências de detecção do VSR de 41,8%, 27,2%, 24,1%, 29,3%, 27,3% respectivamente.

É importante considerar que a maior parte dos estudos epidemiológicos foram transversais, onde a coleta do material para a identificação viral era realizado em um único contato com o paciente, estando este já internado, em enfermaria ou UTI. Por não serem estudos longitudinais, na maior destes foi possível determinar a taxa de hospitalização, porém a determinação da incidência destes episódios sobre uma população geral ficou dificultado, onde a influência dos variáveis de risco ambientais e sociais e as comorbidades, não foram considerados.

O resultado encontrado reforça a importância do controle da infecção pelo VSR, particularmente nas crianças, que são mais susceptíveis ao desenvolvimento de doença respiratória grave, como o neste grupo composto por prematuros.

Todos os demais vírus pesquisados foram encontrados, em menor frequência, nos episódios de ITRI. Em ordem decrescente: o bocavírus, rinovírus, metapneumovírus, grupo parainfluenza, influenza e coronavírus foram identificados, isoladamente ou em co-deteccões.

As taxas globais observadas de detecção de metapneumovírus e grupo parainfluenza em crianças que participaram do estudo mostraram-se semelhantes ao descrito entre populações favorecidas economicamente (NASCIMENTO *et al.*,

2010), sugerindo, assim, que estes resultados são independentes de fatores sociais e ambientais.

Em nossa amostra o bocavírus assumiu uma posição de destaque uma vez que foi o segundo vírus de maior frequência (29/125), depois do VSR. Foi detectado em 8 dos 20 casos de ITRI graves, que necessitaram de internação, e destes em 5 casos com necessidade de ventilação mecânica (5/8), em 2 destes casos foi encontrado isoladamente. A taxa de hospitalização pelo bocavírus foi de 27,5%.

O bocavírus (HBoV) é um DNA vírus da família *Parvoviridae*, descrito em 2005 por Allender *et al.* (2005) e desde então vem sendo descrito como um vírus encontrados em secreções de crianças com infecções respiratórias agudas. Dos 3 subgrupos descritos o subgrupo 1 (HBoV 1) parece ter maior relação com as vias respiratórias.

Estudos epidemiológicos mostram uma distribuição mundial do Bocavírus, com sua frequência variando de 1,5% - 19%, sendo alto o percentual em co-deteccões com outros vírus (ALLANDER *et al.*, 2005; BASTIEN *et al.*, 2006; CHUNG; KIM, 2006; FOULONGNE *et al.*, 2006; KAPLAN *et al.*, 2006; SMUTS *et al.*, 2006; WEISSBRICH *et al.*, 2006).

Silva AK *et al.* (2008), quando analisaram 397 amostras de secreção de crianças da região Amazônica, atendidas ambulatorialmente por infecção respiratória, detectaram o HBoV em somente 3 casos. Já Gagliardi *et al.* (2009) analisando a virologia, de pacientes hospitalizados por infecção respiratória, verificaram uma frequência na identificação do bocavírus de 10,5% (26/ 248) sendo em 19% (5/26) encontrado isoladamente. Duas crianças (8%), do grupo acompanhado, necessitaram de ventilação mecânica.

Um estudo prospectivo de 3 anos utilizando grupo com controles saudáveis, pesquisou o HBoV em secreções faríngeas e fezes de pacientes ambulatoriais e internados com menos de cinco anos de idade e diagnóstico de ITRI (ZHAO *et al.*, 2013).

Neste estudo, a carga viral (análise quantitativa) do HBoV foi determinada em todas as amostras onde a PCR foi positiva para este vírus. O VSR A foi o mais freqüentemente encontrado em co- detecção com o HBoV1 o que parece demonstrar que estes vírus co-circulam com variações sazonais semelhantes. Cargas virais do HBoV altas ($> 10^6$ cópias / ml) foram significativamente mais freqüentes em pacientes internados e ambulatoriais do que em controles saudáveis.

Houve uma correlação direta da carga viral elevada com o aumento da gravidade da doença em pacientes co- infectados com HBoV1 e pelo menos um outro vírus respiratório. A conclusão do estudo é que o HBoV1 pode causar ITRI, mas que a infecção sintomática é observada apenas quando a carga viral é elevada.

A pesquisa aqui demonstrada não realizou análise quantitativa (carga viral) o que supostamente estaria alta nos casos de ITRI grave com necessidade de internação. É importante lembrar, que, o grupo estudado é composto por crianças prematuras, muitas delas com outras comorbidades, e que, estudos que analisem o impacto da infecção pelo bocavírus em crianças de risco são necessários.

Outro achado relevante do estudo é a alta frequência de co-deteccões, especialmente as associadas com o VSR . A co-deteccão em crianças com mais de um vírus, não é incomum em casos de ITRI (NASCIMENTO *et al.*, 2010; DA SILVA *et al.*, 2013; ZHAO *et al.*, 2013).

Neste estudo o número de co-deteccões foi substancial. Entre 125 amostras analisadas de eventos ITRI, 44 (35,2%) eram co-deteccões, destas em quase a metade (21/44) o VSR estava presente entre os vírus identificados. Das co-deteccões mais encontradas, VSR + Rinovírus e VSR + Metapneumovírus foram igualmente freqüentes em 5 casos cada um. Em 4 episódios de ITRI foram detectados 3 vírus em uma mesma amostra e em 1 caso foram detectados 4 vírus durante o evento.

Quando analisamos o perfil de frequência dos vírus respiratórios encontrados em estudos epidemiológicos já publicados, percebe-se que o VSR é, habitualmente, o vírus mais frequentemente identificado em amostras de doentes com infecções respiratórias e que a associação com outros vírus ocorre com frequências variadas dependendo, especialmente de fatores geográficos e sazonais (PITREZ *et al.*, 2005; ARRUDA *et al.*, 2014).

A associação do VSR e Rinovírus foi mais encontrada em crianças com infecção respiratória aguda no Japão (HARADA *et al.*, 2013) e em crianças com bronquiolite viral aguda no sudeste do Brasil (NASCIMENTO *et al.*, 2010). Outras associações também foram descritas: VSR + metapneumovírus + adenovírus foram os vírus encontrados em co-deteccões em outros estudos realizados no Brasil (GAGLIARDI *et al.*, 2009; DA SILVA *et al.*, 2013) enquanto que o influenza foi o vírus mais encontrado em associações em doenças respiratórias em crianças em um estudo em Grego (KOUANI *et al.*, 2013).

A frequência de detecção do VSR do subgrupo A e B foi homogêneo (25 e 22 casos respectivamente) sendo que em 5 casos os 2 subgrupos foram co-detectados. Entre os casos de internação (20 casos) em 8 foi detectado o VSR B (40%) e o VSR A em 4 casos (20%), sendo que em 2 casos ambos os subtipos foram detectados, mostrando um predomínio do VSR B entre os casos graves.

Estudos em diferentes países têm demonstrado que ambos os subgrupos (A e B) tende a circular simultaneamente, no entanto, a proporção entre eles a cada ano tem variado. Estudos realizados em países como Estado Unidos, Finlândia e França confirmaram a co-circulação desses dois subgrupos anualmente com padrões de tempo diferentes e as taxas de prevalência variável entre eles (ROBERTSON *et al.*, 2004; ROCA *et al.* 2004). No Brasil, Oliveira *et al.*, 2008, mostrou que o VSR A foi mais detectado em secreções de crianças com ITRI bem como foram mais propensos à hospitalização quando comparados ao grupo infectado pelo VSR B. Em crianças atendidas com ITRI em serviço de emergência em Ribeirão Preto, mostrou que os 2 subtipos de VSR co-circulam ao mesmo tempo em frequências variadas e não mostrou diferença na gravidade dos quadros entre os subtipos. Neste estudo o VSR B pareceu infectar mais crianças com fatores de risco quando comparado ao VSR A (CINTRA *et al.*, 2001) semelhante ao que ocorreu no presente estudo.

Quando buscamos associar a gravidade da ITRI e a presença de mais de um vírus na amostra estudada, notamos que dos 20 casos que necessitaram de internação, 9 apresentavam positividade para mais de 1 vírus (45%) sendo que nos casos que necessitaram de UTI, a metade (4/8- 50%) apresentavam co-deteções nas amostras. A associação entre os grupos detecção de um único vírus e co-deteções e identificação isolada do VSR com identificação do VSR em associação com outros vírus não mostrou diferença estatística neste estudo.

O VSR e o bocavírus foram os vírus mais encontrados nas amostras com co-deteções, aparecendo igualmente nos casos de internação em enfermaria (VSR 3/5, Bocavírus 2/5) e UTI (VSR 3/4 e Bocavírus 3/4).

Na busca por entender a importância das co-deteções e sua relação com a clínica do paciente bem como o impacto na gravidade dos quadros respiratórios, muitos estudos foram previamente realizados (DA SILVA *et al.*, 2013; HARADA *et al.*, 2013; KOUANI *et al.*, 2013; DO CARMO *et al.*, 2010).

Estudo recente realizado no Brasil, entre as crianças menores de 3 anos de idade com ITRI, a associação de VSR + metapneumovírus foi a co-deteção mais comumente encontrada (DA SILVA *et al.*, 2013). Neste mesmo estudo crianças com menos de 6 meses com co-deteção de VSR e rinovírus foram significativamente mais propensos a gastar mais tempo no hospital em comparação com as crianças sem co-deteção (DA SILVA *et al.*, 2013).

Entre crianças menores de 5 anos de idade no Japão, com quadro de infecção respiratória aguda, o RSV quando em co-deteção foi significativamente associada a doença moderadamente mais grave (HARADA *et al.*, 2013). Quando avaliou-se crianças com menos de 14 anos de idade na Grécia, com infecções respiratórias graves que não pneumonia, notou-se que a co-deteção levou à um aumento da probabilidade de hospitalização (KOUANI *et al.*, 2013). Em contrapartida um estudo Chinês não mostrou diferença na gravidade das manifestações clínicas entre crianças com a deteção isolada do Metapneumovírus ou em associação deste com outros vírus (XIAO *et al.*, 2013).

Em um estudo brasileiro não houve correlação entre a co-deteção e a gravidade das manifestações clínicas em crianças < 5 anos (GAGLIARDI *et al.*, 2009). Além disso, a co-deteção do VSR com outros vírus respiratórios não foi associada com o aumento dos dias de hospitalização ou com internação em UTI em crianças menores de 2 anos (NASCIMENTO *et al.*, 2010).

Um estudo que analisou tecidos de pulmão em necrópsias de crianças que morreram no Brasil, de 1985-2005, após doença respiratória grave, descobriu que o VSR foi o vírus respiratório mais comumente identificado, tanto isoladamente como em parte de co-infecções (DO CARMO *et al.*, 2010).

A justificativa para resultados aparentemente contraditórios pode estar relacionada à metodologia diferenciada e critérios de inclusão variados nos estudos.

A dificuldade de entender o impacto das co-deteções e as infecções respiratórias na infância é universal e estudos epidemiológicos atuais demonstram que os mecanismos associados com a virulência da doença em casos de co-deteções virais são complexas e, até o momento, longe de serem claros. Interações diretas entre genes virais ou produtos de genes entre si bem como as interações indiretas destes produtos com um hospedeiro comprometido são algumas das explicações estudadas, atuando de forma independente, ou em conjunto umas com as outras (DA PALMA *et al.*, 2010; JARTTI *et al.*, 2013).

Evidências indicam a possibilidade de existir indivíduos com vírus detectáveis pelos métodos moleculares existentes habitualmente e que pode ser indicativo de agentes replicantes e / ou a persistência de restos de infecções anteriores (PROENCA-MODENA *et al.*, 2012; LYSHOLM *et al.*, 2012). Isso nos leva ao questionamento se a detecção de vários vírus em uma única amostra pode realmente ser o resultado de uma infecção prévia em vez de uma infecção existente e até de tais “fragmentos” serem possíveis indicativos da persistência de replicação contínua, embora em níveis mais baixos. E por quanto tempo estes “fragmentos” moleculares (traços) permaneceriam detectáveis por PCR nas secreções? (ARRUDA *et al.*, 2014). Estas são questões importantes que exigem mais estudos para serem respondidas.

Neste estudo a taxa mensal de infecções por VSR variou ao longo dos 3 anos consecutivos (2008-2010).

Em 2008, no primeiro ano do estudo, o número de amostras foi o menor dos 3 anos de seguimento e a identificação do VSR ocorreu em picos menos expressivos porém mais evidentes de junho à setembro, de acordo com o que mostra grande parte dos estudos nacionais que estudaram a sazonalidade deste vírus (VIEIRA *et al.*, 2002; D'ELIA *et al.*, 2005; RICCETTO *et al.*, 2006;), o mesmo se repetiu em 2010 de forma mais expressiva. No ano de 2009 percebeu-se identificação aumentada do VSR em amostras de outubro e novembro, caracterizando um possível pico deste vírus nestes meses.

O VSR é um vírus com sazonalidade bem definida. Epidemias foram relacionados a baixas temperaturas, menores horas de sol e mais precipitação (STRALIOTTO *et al.*, 1988; SUTMOLLER *et al.*, 1983). Em países como Indonésia e Moçambique, os casos de RSV ocorreram principalmente durante a estação chuvosa, enquanto que em países como a Nigéria e a África do Sul, os casos ocorreram principalmente durante a estação seca (ROBERTSON *et al.*, 2004).

No sul do Brasil, o período de circulação do vírus é semelhante ao de outros países com clima temperado, com picos no inverno e na primavera (TSUCHYIA *et al.*, 2005; STRALIOTTO *et al.*, 2002). Até 92% das infecções por VSR, descritas em estudos epidemiológicos, ocorre de abril a junho.

Deve-se analisar a sazonalidade com cautela. Houve grande variabilidade no número de amostras analisadas a cada ano, motivada por questões locais como a equipe mais entrosada e a logística do trabalho mais ágil, desde a identificação da

ITRI, a coleta das amostras até o processamento, armazenamento e envio. O fato do estudo abordar pacientes hospitalizados e ambulatoriais bem como questões climáticas próprias do ano de 2009, podem justificar o padrão diferenciado que o VSR adotou neste ano.

Ao analisarmos a sazonalidade faz-se necessário avaliarmos paralelamente as condições climáticas. Segundo dados do Instituto Nacional de Meteorologia no ano de 2009, o mês de novembro apresentou a maior precipitação registrada para o mês desde 1961, podendo este ser um fator que explique o comportamento atípico do VSR neste ano. (INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – INMET)

Há décadas pesquisadores procuram explicar a relação da infecção prévia pelo VSR e o desenvolvimento de sibilância recorrente (BLANKEN *et al.*, 2013) e apesar de parecer que a infecção do trato respiratório inferior pelo VSR e a sibilância recorrente está bem documentada, a hipótese da atopia como causa desta relação não é bem clara.

Gern e Busse (2002) sugeriram 2 hipóteses para esta relação. A primeira onde a infecção pelo VSR interferiria no desenvolvimento normal dos pulmões da criança sadias e na sua maturação imunológica, favorecendo, a partir daquele ponto, a sibilância recorrente. Outra hipótese defende a ideia que infecção pelo VSR seria o estímulo para a sibilância em crianças predisponentes, ou por susceptibilidade genética ou por alteração da função pulmonar.

Oito crianças acompanhadas apresentaram sibilância recorrente (mais que 3 episódios) no ano de acompanhamento. Todas, em algum momento, apresentaram pesquisa positiva para o VSR durante episódio de ITRI, porém quando analisamos os quadros de ITRI com presença de sibilância na fase aguda não comprovamos diferença entre aquelas com infecção pelo VSR (isolado ou em co-deteção) com as ITRI sem deteção do VSR ou aquelas com deteção negativa para os vírus pesquisados. O que reflete que outros vírus pesquisados também provocaram sibilância nos quadros agudos.

Achados significativos da literatura, especialmente de estudos em modelos animais, sugerem que a infecção por vírus respiratórios, especialmente o VSR, e que, desencadeam sibilância nos episódios de infecção aguda, motivam uma cascata inflamatória onde, a regulação da expressão do receptor de alta afinidade para a IgE (*high-affinity receptor* para a região Fc da imunoglobulina E) FcεR1 em monócitos circulantes e em células dendríticas, seria o estímulo necessário para

polarizar a resposta imune para Th2 e o subsequente desenvolvimento de asma e atopia nestes lactentes (HOLT *et al.*, 2012).

Por outro lado, Simões *et al.*, 2010, em estudo multicêntrico, acompanhando prematuros, mostrou que a profilaxia com anticorpo monoclonal humanizado Palivizumab diminuiu em até 80% a taxa de sibilância recorrente nestes lactente, mas sem diferença naqueles com atopia comprovada quando comparado aos sem atopia, mostrando que a sibilância pós infecção por VSR pode não ter relação com atopia. No grupo estudado não realizamos a investigação laboratorial de atopia, mas ao pesquisarmos atopia familiar, não mostrou diferença no grupo de sibilantes recorrentes quando comparado grupo que não sibilou mais do que 3 vezes.

Uma discussão importante levantada por Bacharier *et al.*, (2012) é o fato destes lactentes, com pais (especialmente a mãe) com asma, aderirem melhor ao acompanhamento, frequentando as consultas e valorizando mais os sintomas. Ao avançar no acompanhamento dos pacientes em uma coorte de 7 anos de seguimento, percebeu que ao final do estudo, a história familiar de atopia, que inicialmente mostrava diferença, deixou de ser um fator de risco o grupo estudado.

Chong Neto *et al.*, 2010, no Estudo Internacional de Lactentes Sibilantes (EISL), entrevistou pais de 3003 crianças e mostrou que 22,6% destas sibilaram mais do que 3 vezes no período no primeiro ano de vida, sendo que um dos fatores protetores observados foi a ocorrência de resfriados em idade mais tardia (acima de 4 meses de idade). A incidência de sibilância recorrente no grupo estudado foi de 7,7%, abaixo do que publicado pelo estudo de Chong Neto *et al.*, o que nos faz refletir que o grupo de prematuros, por serem menos expostos às infecções virais (mais tempo em casa, baixa frequência à creches), estariam mais protegidos, resultando em menos episódios de sibilância demonstrado no período de acompanhamento. Uma avaliação mais detalhada das variáveis sociais (irmãos escolares, tabagismo passivo, aglomerações, aleitamento materno) bem como um período de acompanhamento mais prolongado seria fundamental para definir o futuro desses sibilantes.

As limitações deste estudo são o número de indivíduos envolvidos, um pouco menor ao experimentado por outros estudos epidemiológicos, a dificuldade vivenciada na inclusão do paciente de risco, dificuldade de coleta de algumas amostras e o fato do estudo envolver indivíduos de apenas um local / região, o que pode fazer dos resultados aqui apresentados não representativos de todo o país.

Estudos epidemiológicos de incidência de VSR muitas vezes atuam como ferramentas valiosas para a formulação de práticas de tratamentos eficazes. No entanto, os resultados de estudos individuais são influenciados por questões demográficas, geográficas, sazonais, desenho do estudo e considerações econômicas, o que fazem uma comparação significativa entre os estudos desafiadora.

Dados obtidos das populações locais podem ser melhor guia para o desenvolvimento de políticas regionais de saúde e que as diferenças observadas entre os estudos podem revelar justamente estes fatores díspares, tornando estudos como este, interessantes e de caráter individualizado.

6 CONCLUSÕES

a) A incidência de infecção grave pelo VSR foi de 0,087 – 8,7% na população estudada.

As variáveis pesquisadas: sexo, raça, idade gestacional, desmame precoce, tabagismo passivo, frequência à creche, aglomeração domiciliar, irmãos em idade escolar, escolaridade dos pais se mostraram como fatores de risco para infecções graves pelo VSR para a população estudada.

b) A comorbidade mais encontrada nas crianças com infecção grave pelo VSR foi a displasia broncopulmonar, seguido das cardiopatias. Ainda faziam parte do grupo, crianças neuropatas, com síndrome genética (crianças com Síndrome de Down) e expostas ao vírus HIV. A presença de comorbidades não foi fator de risco para infecções graves pelo VSR neste grupo.

c) Todos os vírus pesquisados foram encontrados em proporções variáveis. O bocavírus foi o segundo vírus mais encontrado nas amostras das crianças internadas, incluindo aquelas que necessitaram de cuidados intensivos. Foi encontrada co-deteção em 45 amostras (36%) analisadas, sendo o VSR o vírus mais encontrado em co-deteções (22/45 – 48,8%).

d) A taxa mensal de infecções por VSR variou ao longo dos 3 anos do estudo. Em 2008 e 2010 os picos foram mais evidentes de junho à setembro. Em 2009 houve detecção aumentada do VSR em amostras de outubro e novembro, caracterizando um possível pico deste vírus nestes meses.

- e) A incidência de sibilância recorrente entre os pacientes acompanhados foi de 0,077 – 7,7%. A infecção prévia pelo VSR não demonstrou correlação significativa com a recorrência dos quadros de sibilância.

REFERÊNCIAS

ALLANDER, T. *et al.* Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, Washington, v.102, p.12891-12896, 3005. Erratum in: **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, Washington, v.102, p.15712, 2005.

ALONSO, WJ. *et al.* Comparative dynamics, morbidity and mortality burden of pediatric viral respiratory infections in an equatorial city. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, Amsterdam, v.31, p.e9-14, 2012.

ANDRES, S. Internação devido a infecção pelo vírus sincicial respiratório em pacientes menores de 2 anos com doença cardíaca congênita hemodinamicamente significativa. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.8, p. 246-252, 2012.

ARMSTRONG, D. *et al.* Severe viral respiratory infections in infants with cystic fibrosis. **Pediatr. Pulmonol.**, New York, v.26, p.371-379,1998.

ARRUDA, E. *et al.* The burden of single virus and viral coinfections on severe lower respiratory tract infections among preterm infants: A prospective birth cohort study in Brazil. **PIDJ** In Press, March, 2014.

BASTIEN, N. *et al.* Human bocavirus infection, Canada. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v.12, p.848-850, 2006.

BEST D, COMMITTEE ON ENVIRONMENTAL HEALTH, COMMITTEE ON NATIVE AMERICAN CHILD HEALTH AND COMMITTEE ON ADOLESCENCE. Secondhand and prenatal Tobacco Smoke Exposure. **Pediatrics**,124(5):1017-1026, 2009.

BLANKEN, MO. *et al.* Dutch RSV neonatal network. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.368, p.1791-1799, 2013.

BLOUNT, JR.; MORRIS JR.; SAVAGE RE. Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, Malden, v.92, p.544-549, 1956.

BONITA, R.; BEAGLEHOLE R.; KJELLSTRÖM T. Types of studies. In: BONITA, R.; BEAGLEHOLE, R.; KJELLSTRÖM. T. (Ed.). **Basic epidemiology**. 2.ed. Geneva: World Health Organization, 2006. p. 39–62.

BOSSO, PAR. *et al.* Human Respiratory Syncytial Virus detection in children admitted at a community hospital in Botucatu, SP, Brazil. **Braz J Microbiol.**, 35: 348-51, 2004.

BOYCE, TG. *et al.* Rates of hospitalization for respiratory syncytial virus infection among children in Medicaid. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.137, p.865-870, 2000.

BRADLEY, JP. *et al.* Severity of respiratory syncytial virus bronchiolitis is affected by cigarette smoke exposure and atopy. **Pediatrics**, Evanston, v.115, p.e7-14, 2005.

BRICKS, LF. Prevention of respiratory syncytial virus infections. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med.**, Sao Paulo, v.56, p.79-90, 2001.

BUENO, IAC. *et al.* Respiratory syncytial vírus, infants and intensive therapy. **Braz. J. Infec. Dis.**, Salvador, v16, p.86-89, 2012.

CALEGARI, T. *et al.* Clinical-epidemiological evaluation of respiratory syncytial virus infection in children attended in a public hospital in midwestern. **Braz. J. Infec. Dis.**, Salvador, v.9, p.156-161, 2005.

CANDEIAS, JA. Isolation of the respiratory syncytial vírus from children with acute respiratory infections. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, São Paulo, v.9, p.27-30, 1967.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Respiratory syncytial virus activity-United States, 1999-2000 season. **MMWR Morb. Mort. Wkly. Rep.**, Atlanta, v.49, p.1091-1093, 2000.

CHANOCK, RM.; ROIZMAN, B.; MYERS, R. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA): isolation, properties and characterization. **Am. J. Hyg.**, Baltimore, v.66, p.281-290, 1957.

CHECON, RE. *et al.* Short report: Seasonal pattern of respiratory syncytial virus in a region with a tropical climate in southeastern Brazil. **Am J Trop Med Hyg.**, 67: 490–1, 2002.

CHI, H. *et al.* Epidemiological study of hospitalization associated with respiratory syncytial virus infection in Taiwanese children between 2004 and 2007. **J. Formos. Med. Assoc.**, Taipei, v.110, p.388-396, 2011.

CHONG NETO, HJ. *et al.* Associated factors for recurrent wheezing in infancy. **Allergy**, Mar;65(3):406-7, 2010.

CHUNG, J.Y. *et al.* Bocavirus infection in hospitalized children, South Korea. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v.12, p.1254-1256, 2006.

CINTRA, AO. *et al.* Occurrence and severity of infections caused by subgroup A and B respiratory syncytial virus in children in southeast Brazil. **J. Med. Virol.**, New York, v.65, p.408-412, 2001.

COSTA, LF. *et al.* Respiratory viruses in children younger than Five years old with acute respiratory disease from 2001 to 2004 in Uberlândia, MG, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 101:301-06, 2006.

DA PALMA, T. *et al.* A systematic approach to virus-virus interactions. **Virus Res.**, Amsterdam, v.149, p.1-9, 2010.

DA SILVA, ER. *et al.* Severe lower respiratory tract infection in infants and toddlers from a non-affluent population: viral etiology and co-detection as risk factors. **BMC Infect. Dis.**, London, v.13, p.41, 2013.

D'ELIA, C. *et al.* Infecções do trato respiratório inferior pelo vírus sincicial respiratório em crianças hospitalizadas menores de um ano de idade. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Brasília, v.38, p.7-10, 2005.

DO CARMO DEBUR M. *et al.* Immunohistochemical assessment of respiratory viruses in necropsy samples from lethal non-pandemic seasonal respiratory infections. **J. Clin. Pathol.**, London, v.63, p.930-934, 2010.

FERONE EA. *et al.* Clinical and epidemiological aspects related to the detection of

adenovirus or respiratory syncytial virus in infants hospitalized for acute lower respiratory tract infection. **J Pediatr (Rio J)**, 90(1): 42-49, 2014.

FIGUEIREDO, LTM. Pneumonias virais: aspectos epidemiológicos, clínicos, fisiopatológicos e tratamento. **J. Bras. Pneumol.**, São Paulo, v.35, p. 899-906, 2009.

FONSECA, CB; GRISI, S. Bronchiolitis, respiratory syncytial virus, and recurrent wheezing: what is the relationship? **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med.**, Sao Paulo, v.58, p.39-48, 2003.

FOULONGNE, V. *et al.* Human bocavirus in French children. **Emerg. Infect. Dis.** Atlanta, v.12, p.1251-1253, 2006.

FUNCHAL, G. **O papel da proteína de fusão do vírus sincicial respiratório sobre a geração de redes extracurriculares de neutrófilos (NETS)**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

GAGLIARDI, TB. *et al.* Concurrent detection of other respiratory viruses in children shedding viable human respiratory syncytial virus. **J. Med. Virol.**, New York, v.85, p.1852-1859, 2013.

GARENNE, M. *et al.* The magnitude of mortality from acute respiratory infections in children under 5 years in developing countries. **World Health Stat. Q.**, Geneve, v.45, p.180-191, 1992.

GERN, JE.; BUSSE, WW. Relationship of viral infections to wheezing illnesses and asthma. **Nat. Rev. Immunol.**, London, v.2, p.132-1328, 2002.

GLEZEN, WP. *et al.* Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. **Am. J. Dis. Child.**, Chicago, v.140, p.543-546, 1986.

GOUYON, JB. *et al.* Hospitalizations for respiratory syncytial virus bronchiolitis in preterm infants at <33 weeks gestation without bronchopulmonary dysplasia: the CASTOR study. **Epidemiol. Infect.**, Cambridge, v.141, p.816-826, 2013.

HARADA, Y. *et al.* Does respiratory virus coinfection increase the clinical severity of acute respiratory infection among children infected with respiratory syncytial virus? **Pediatr. Infect. Dis. J.**, Amsterdam, v.32, p. 441-445, 2013.

HARLAP, S.; DAVIES, AM. Infant admissions to hospital and maternal smoking. **Lancet**, London, v.1, p. 529-532, 1974.

HIATT, PW. *et al.* Effects of viral lower respiratory tract infection on lung function in infants with cystic fibrosis. **Pediatrics**, Evanston, v.103, p. 619-626, 1999.

HOLBERG, CJ. *et al.* Risk factors for respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illnesses in the first year of life. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.133, p.1135-1151, 1991.

HOLT PG. *et al.* Virus infection and allergy in the development of asthma: what is the connection? **Curr Opin Allergy Clin Immunol.**, 12:151 – 157, 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – INMET. Disponível em <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>. Acesso em 23/01/2015.

JARTTI, T. *et al.* New molecular virus detection methods and their clinical value in lower respiratory tract infections in children. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.14, p.38-45, 2013.

KAPLAN, NM. *et al.* Human bocavirus infection among children, Jordan. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v.12, p.1418-1420, 2006.

KOUNI, S. *et al.* Evaluation of viral co-infections in hospitalized and non-hospitalized children with respiratory infections using microarrays. **Clin. Microbiol. Infect.**, Oxford, v.19, p.772-777, 2013.

LAMARÃO, LM. **Pesquisa epidemiológica e molecular do vírus respiratório sincicial humano (VRS) em amostras de pacientes hospitalizados com pneumonia, na Cidade de Belém.** Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2011.

LAMARÃO, LM. *et al.* Prevalence and clinical features of respiratory syncytial virus in children hospitalized for community-acquired pneumonia in northern Brazil. **BMC Infect. Dis.**, London, v.12, p.119, 2012.

LAVIA, WV.; MARKS, M.I.; STUTMAN, H.R. Respiratory syncytial virus puzzle: clinical features, pathophysiology, treatment, and prevention. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.121, p.503-510, 1992.

LAW B. *et al.* The Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada study of predictors of hospitalization for respiratory syncytial virus infection for infants born at 33 through 35 completed weeks of gestation. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, Amsterdam, v. 23, p.806-814, 2004.

LOURENÇÃO, LG. *et al.* Infecções pelo vírus sincicial respiratório em crianças. **Pulmão**, Rio de Janeiro, v.14, n.1, jan./mar, 2005.

LOURENÇÃO, LG. **Infecções respiratórias por vírus sincicial respiratório em crianças de creche.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, São José do Rio Preto, 2006.

LYSHOLM, F. *et al.* Characterization of the viral microbiome in patients with severe lower respiratory tract infections, using metagenomic sequencing. **PLoS ONE**, San Francisco, v.7, p.e30875, 2012.

MACDONALD, NE. *et al.* Respiratory syncytial viral infection in infants with congenital heart disease. **N. Engl. J. Méd.**, Boston, v.307, p.397-400, 1982.

MAROSTICA, LC. *et al.* **Incidência de infecções graves pelo vírus sincicial respiratório em crianças prematuras brasileiras – BREVI (Estudo Brasileiro do Vírus Respiratório em Lactentes Prematuros).** X Salão de Iniciação Científica. Porto Alegre: Instituto de Pesquisas Biomédicas da Faculdade de Medicina da PUCRS, 2009.

MCCONNOCHIE, KM.; ROGHMANN. K.J. Parental smoking, presence of older siblings and family history of asthma increase risk of bronchiolitis. **Am. J. Dis. Child.**, Chicago, v.140, p.806-812, 1986.

MEISSNER, HC. *et al.* Immunoprophylaxis with palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, for prevention of respiratory syncytial virus infection in high risk infants: a consensus opinion. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, Amsterdam, v.18, p.223-231, 1999.

MOHAPATRA SS, LOCKEY RF. Respiratory Syncytial Virus Infection: from biology to therapy. **World Allergy Organization**, J1: 21-28, 2008.

MOLER, FW *et al.* Respiratory syncytial virus morbidity and mortality estimates in congenital heart disease patients: a recent experience. **Crit. Care Med.**, New York, v.20, p.1406-1413, 1992.

MOURA, FE. *et al.* Estudo de infecções respiratórias agudas virais em crianças em um centro pediátrico em Salvador (BA). **J. Bras. Patol. Med. Labor.**, Rio de Janeiro, v. 39, p. 275-282, 2003.

MOURA, FE. *et al.* Respiratory Syncytial Virus Infection during an epidemic period in Salvador, Brazil. Viral Antigenic Group analysis and description of clinical and epidemiological aspects. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 98: 739-43, 2003.

NACUL, LC. *et al.* Aetiology and clinical presentation of pneumonia in hospitalized and outpatient children in Northeast Brazil and risk factors for severity. **J. Health Pop. Nutr.**, Dhaka, v.23, p.6-15, 2005.

NAFSTAD, P. *et al.* Early respiratory infections, asthma, and allergy: 10-year follow-up of the Oslo Birth Cohort. **Pediatrics**, Evanston, v.116, p.e255–e262, 2005.

NASCIMENTO, JP. *et al.* Longitudinal study of acute Respiratory Disease in Rio de Janeiro: occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, 33: 287- 96, 1991.

NASCIMENTO, MS. *et al.* High rate of viral identification and coinfections in infants with acute bronchiolitis. **Clinics**, Sao Paulo, v.65, p.1133-1137, 2010.

NAVAS, L. *et al.* Improved outcome of respiratory syncytial virus infection in a high-risk hospitalized population of Canadian children. **Pediatric Investigators**

Collaborative Network on Infections in Canada. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.121, p.348-543, 1992.

OLIVEIRA, TF. *et al.* Prevalence and clinical aspects of respiratory syncytial virus A and B groups in children seen at Hospital de Clínicas of Uberlândia, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 103: 417- 22, 2008.

PARK, HW. *et al.* Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in infants born at less than thirty-five weeks of gestational age. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, Amsterdam, v.31, p.e99-104, 2012.

PARROTT, RH. *et al.* Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. II. Infection and disease with respect to age, immunologic status, race and sex. **Am. J. Epidemiol.**, Baltimore, v.98, p.289-300, 1973.

PECCHINI, R. *et al.* **Incidence and clinical characteristics of the infection by the respiratory syncytial virus in children admitted in Santa Casa de São Paulo Hospital.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, 2008.

PEREIRA, EDB. *et al.* Efeitos do fumo ambiental no trato respiratório de crianças com até 5 anos de idade. **Revista de Saúde Pública**, 34(1):39-43, 2000

PICKERING, LK. Respiratory syncytial virus. In: AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS (Ed.). **Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases.** 27. ed. Elk Grove Village, 2006. p. 560.

PINEROS, JG. *et al.* Respiratory syncytial virus infection as a cause of hospitalization in population under 1 year in Colombia. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.89, p.544-548, 2013.

PITREZ, PM. *et al.* Bronquiolite aguda por rinovírus em lactentes jovens. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.81, p. 417-420, 2005.

PROENCA-MODENA, JL. *et al.* High rates of detection of respiratory viruses in tonsillar tissues from children with chronic adenotonsillar disease. **PLoS ONE**, San Francisco, v.7, p.e42136, 2012.

REIS, AD. **Incidência de doença de vias áreas pelo vírus sincicial respiratório humano em coorte de recém nascidos do município de São Paulo: comparação de técnicas diagnósticas e caracterização molecular.** Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

RICCETTO, AGL. *et al.* Respiratory Syncytial Virus in infants hospitalized for acute lower respiratory tract disease: incidence and associated risks. **Braz. J. Infect. Dis.** Salvador, v.10, p.357-361, 2006.

RICCETTO AGL. *et al.* Genotypes and Clinical Data of Respiratory Syncytial Virus and Metapneumovirus in Brazilian Infants: A New Perspective. **Braz J Infec Dis.**,13 (1): 35-39, 2009.

RESCH, B.; KURATH, S.; MANZONI, P. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in preterm infants. **Open Microbiol. J.**, Hilversum, v.5, p.35-143, 2011.

ROBERTSON, SE. *et al.* Respiratory syncytial virus infection: denominator-based studies in Indonesia, Mozambique, Nigeria and South Africa. **Bull. World Health Organ.**, Geneve, v.82, p.891-970, 2004.

SALOMÃO JÚNIOR, JB. *et al.* Human respiratory syncytial virus in children hospitalized for acute lower respiratory infection. **J Pediatr (Rio J)**, 87: 219-24, 2011.

SCOTTA, MC. *et al.* Fatores de risco para necessidade de ventilação mecânica em crianças com Influenza A(H1N1)pdm09. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.89, p.444-449, 2013.

SELWYN, BJ. The epidemiology of acute respiratory tract infection in young children: comparison of findings from several developing countries. Coordinated Data Group of BOSTID Researchers. **Rev. Infect. Dis.**, v.12, Suppl 8, p. S870-888, 1990.

SEMPLE, MG. *et al.* Household tobacco smoke and admission weight predict severe bronchiolitis in infants independent of deprivation: prospective cohort study. **PLoS ONE**, San Francisco, v.6, p.e2242, 2011.

SILVA, RECF. **Sibilância recorrente após bronquiolite viral aguda pelo vírus sincicial respiratório.** Rio de Janeiro: s.n., 2007.

SIMABUCO, FM. **Expressão das proteínas n e p do vírus respiratório sincicial humano: estudos funcionais e de imunização.** Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SIMÕES, EAF.; GROOETHIUS, J.R. Respiratory syncytial virus prophylaxis – the story so far. **Respir. Med.**, London, Suppl B, p.S15-S24, 2002.

SIMÕES, EAF. *et al.* The effect of respiratory syncytial virus on subsequent recurrent wheezing in atopic and nonatopic children. **J Allergy Clin Immunol.**, 126: 256-62, 2010.

SMUTS, H.; HARDIE, D. Human bocavirus in hospitalized children, South Africa. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v.12, p.1457-1578, 2006.

STENSBALLE, L.; DEVASUNDARAM, J.K.; SIMOES, E.A. Respiratory syncytial viurs epidemics:the ups and downs of a season virus. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, Amsterdam, v.22, Suppl., p.S21-S32, 2003.

STENSBALLE, L.G. *et al.* Population based external validation of a European predictive model for respiratory syncytial virus hospitalization of premature infants born 33 to 35 weeks of gestational age. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, Amsterdam, v.29, p.374-376, 2010.

STRALIOTTO, SM; NESTOR SM; SIQUEIRA MM. Respiratory syncytial vírus groups A and B. In Porto Alegre, Brazil, from 1990 to 1995 and 1998. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, p.155-158, 2001.

STRALIOTO, SM. *et al.* Viral etiology of acute respiratory infections among children in Porto Alegre, RS, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Brasilia, v.35, p.283-291, 2002.

SUTMÖLLER, F. *et al.* Viral etiology of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro: first two years of a longitudinal study. **Bull. World Health Org.**, Geneve, v.61, p.845-852, 1983.

SUTMÖLLER, F. *et al.* Etiology of acute respiratory tract Infections among children in a combined community and hospital study in Rio de Janeiro. **Clin Infect Dis.**, 20: 854-60, 2005.

TAVARES, EC.; RIBEIRO, JG.; OLIVEIRA, LA. Imunização ativa e passiva no prematuro extremo. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.81, supl., p. S89-S94, 2005.

THOMAZELLI, LM. *et al.* Surveillance of eight respiratory viruses in clinical samples of pediatric patients in Southeast Brazil. **J. Pediatr.**, Rio de Janeiro, v.83, p. 422-428, 2007.

TSUCHIYA, LR. *et al.* Viral respiratory infection in Curitiba, Southern Brazil. **J Infect** 51: 401- 07, 2005.

VICTORIA, CG. *et al.* Tendências e diferenciais na saúde materno-infantil: delineamento e metodologia das coortes de 1982 e 1993 de mães e crianças de Pelotas, Rio Grande do Sul. **Cad. Saúde Públ.**, Rio de Janeiro, v.12, p.7-14, 1996.

VICTORIA, C. *et al.* A Pesquisa para estimar a prevalência de nascimentos pré-termo no Brasil e explorar Possíveis causas. Disponível em HTTP://www.unicef.org/brazil/pt/br_prematuridade_possiveis_causas.pdf Acesso em 23/01/2015.

VIEIRA, SE. *et al.* Clinical patterns and seasonal trends in respiratory syncytial virus hospitalizations in São Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, 43: 125-31, 2001.

VIEIRA, SE. *et al.* Lower respiratory tract infection caused by respiratory syncytial virus in infants: the role played by specific antibodies. **Clinics**, 62: 709-16, 2007.

VIEIRA, R.A. *et al.* Correlação entre mediadores inflamatórios na secreção nasofaríngea e no soro de crianças com infecção do trato respiratório inferior por vírus sincicial respiratório e a gravidade da doença. **J. Bras. Pneumol.**, São Paulo, v.36, p.59-66, 2010.

XIAO, NG. *et al.* Prevalence of human metapneumovirus in children with acute lower respiratory infection in Changsha, China. **J. Med. Virol.**, New York, v.85, p.546-553, 2013.

ZHAO, B. *et al.* High human bocavirus viral load is associated with disease severity in children under five years of age . **PLoS ONE**, San Francisco, v.8, p.e62318, 2013.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 - SONDAS E *PRIMER* UTILIZADOS PARA REALIZAÇÃO DA PCR PARA IDENTIFICAÇÃO VIRAL

Influenza A (H1N1) pdm2009 ⁵⁰	SW H1 Forward	GTGCTATAAACACCAGCCTYCCA
	SW H1 Reverse	CGGGATATTCCTTAATCCTGTRGC
	Probe	5'FAM/CAGAATATACA"™"CCRGTCACAATTGGARAA/BHQ1
Human rhinovirus ⁵¹	Forward	GCACTTCTGTTTCCCC
	Reverse	GGCAGCCACGCAGGCT
	Probe 1	FAM/AGCCTCATCTGCCAGGTCTA/MGB
	Probe 2	VIC/AGCCTCATCGACCAAATA/MGB
Human metapneumovirus ⁵²	HMPVA for	GCCGTTAGCTTCAGTCAATTCAA
	HMPVA rev	TCCAGCATTGCTGAAAATTGC
	Probe A	FAM/CAACATTAGAAAACCTTCT/MGB
	HMPVB for	GCTGTCAGCTTCAGTCAATTCAA
	HMPVB rev	GTTATCCCTGCATTGTCTGAAAACCT
	Probe B	FAM/CGCACAACATTTAGGAATCTTCT/MGB
Human adenovirus ⁵³	Forward	GCCACGGTGGGGTTTCTAAACTT
	Reverse	GCCCCAGTGGTCTTACATGCACATC
	Probe	FAM/TGCACCAGACCCGGGCTCAGGTACTCCGA/TAMRA

	Probe	5'FAM/CAGAATATACA"TT"CCRGTCACAATTGGARAA/BHQ1
Human rhinovirus ⁵¹	Forward	GCACTTCTGTTTCCCC
	Reverse	GGCAGCCACGCAGGCT
	Probe 1	FAM/AGCCTCATCTGCCAGGTCTA/MGB
	Probe 2	VIC/AGCCTCATCGACCAAATA/MGB
Human metapneumovirus ⁵²	HMPVA for	GCCGTTAGCTTCAGTCAATTCAA
	HMPVA rev	TCCAGCATTGTCTGAAAATTGC
	Probe A	FAM/CAACATTTAGAAAACCTTCT/MGB
	HMPVB for	GCTGTCAGCTTCAGTCAATTCAA
	HMPVB rev	GTTATCCCTGCATTGTCTGAAAAC
	Probe B	FAM/CGCACAAACATTTAGGAATCTTCT/MGB
Human adenovirus ⁵³	Forward	GCCACGGTGGGGTTTCTAAACTT
	Reverse	GCCCCAGTGGTCTTACATGCACATC
	Probe	FAM/TGCACCAGACCCGGGCTCAGGTACTCCGA/TAMRA
Human bocavirus ⁵⁴	Forward	GCACAGCCACGTGACGAA
	Reverse	TGGACTCCCTTTTCTTTTGTAGGA

	Probe	JOE/TGAGCTCAGGGAATATGAAAGACAAGCATCG/TAMRA
Human parainfluenza virus-1 ⁵⁵	Forward	ACAGATGAAATTTTCAAGTGCTACTTTAGT
	Reverse	GCCTCTTTTAATGCCATATTATCATTAGA
	Probe	FAM/ATGGTAATAAATCGACTCGCT/MGB
Human parainfluenza virus-3 ⁵⁶	Forward	CTCGAGGTTGTCAGGATATAG
	Reverse	CTTGGGAGTTGAACACAGTT
	Probe	FAM/AATAACTGTAAACTCAGACTTGGTACCTGACTT/TAMRA
Human coronavirus-229E ⁵⁷	Corona F3	TGGCGGGTGGGATAATATGT
	Corona R3	GAGGGCATAGCTCTATCACACTTAGG
	Corona P2	VIC/ATAGTCCCATCCCATCAA/MGB
Human coronavirus-OC43 ⁵⁷	Corona FOC	CCTTATTAAGATGTTGACAATCCTGTAC
	Corona ROC	AATACGTAGTAGGTTTGGCATAGCAC
	Corona POC	FAM/CACACTTAGGATAGTCCCA/MGB
β -actin ⁵⁸	Forward	CCCAGCCATGTACGTTGCTA
	Reverse	TCACCGGAGTCCATCACGAT
	Probe	VIC/ACGCCTCTGGCCGTACCACTGG/TAMRA

PCR=real-time polymerase chain reaction.

ANEXOS

ANEXO 1 – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS – HOSPITAL DE CLÍNICAS



CEP HCUFPR



K7 Artes

Curitiba, 01 de outubro de 2007.

Ilmo (a) Sr. (a)
Dr. Nelson Augusto Rosário Filho
Nesta

Prezado Pesquisador:

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "A07-006 – INCIDÊNCIA DE INFECÇÕES GRAVES PELO VIRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO EM CRINAÇAS PREMATURAS BRASILEIRAS – BREVI – ESTUDO BRASILEIRO DO VIRUS RESPIRATÓRIO EM LACTENTES PREMATUROS", foi analisado e aprovado com pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 25 de setembro de 2007. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0213.1.208.000-07

Registro CEP: 1532.197/2007-09

Protocolo A07-006 versão nº 1 de 29 de junho de 2007; Termo de Consentimento Livre e Esclarecido versão nº 1 de 29 de junho de 2007; Cartão de Identificação; Apêndices de A à F.

Patrocinador: Abbott Laboratórios do Brasil Ltda.

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 01 de abril de 2008.

Atenciosamente,

Renato Tambara Filho
P/ Renato Tambara Filho

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR

MEMBRO DO COMITÊ DE ÉTICA
EM PESQUISA DO HCUFPR

ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**Versão de 29 de Junho de 2007**

Título do Estudo: "Incidência de infecções graves pelo vírus sincicial respiratório em crianças prematuras brasileiras - BREVI (Estudo Brasileiro do Vírus Respiratório em Lactentes Prematuros)"

Número do Protocolo: A07-006

Patrocinador: Abbott Laboratórios do Brasil Ltda.
Rua Michigan, 735 - São Paulo - SP
CEP 04566-905

Pesquisador Responsável: Dr. Nelson Rosário Filho
Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
Rua General Carneiro 181, PA da Pediatria – salas 6/7
Curitiba - PR
CEP: 80060-900
Tel: (41) 3360-1800 - ramal 6216

Pode ser que este documento denominado termo de consentimento livre e esclarecido contenha palavras que você não entenda. Por favor, peça ao médico ou à equipe do estudo para lhe explicar qualquer palavra ou informação que você não entenda claramente.

INTRODUÇÃO

O(A) seu(sua) filho(a) está sendo convidado(a) a participar de um estudo que contará com a participação de 350 crianças. Antes de consentir a participação de seu(sua) filho(a), solicitamos que você leia ou peça a alguém que leia para você as informações contidas neste termo de consentimento.

Esta pesquisa visa estudar a relação entre o Vírus Sincicial Respiratório (VSR) com a infecção respiratória (pneumonia/bronquite) em crianças prematuras. O trato respiratório inferior é formado pelos pulmões, brônquios, bronquíolos e alvéolos.

Este vírus é considerado a principal causa isolada de infecção respiratória na infância, sendo assim um importante problema de saúde pública. A maior parte das crianças abaixo dos 2 anos infectadas pelo VSR, apresenta doença leve do trato respiratório superior - gripe ou resfriado (nariz, faringe e laringe); entretanto, algumas crianças estão sujeitas ao

risco de infecção respiratória (pneumonia/bronquite) grave, podendo levar à morte. As crianças prematuras, com cardiopatia congênita (anormalidade na estrutura ou função do coração ao nascimento) ou doença crônica dos pulmões, têm risco particularmente elevado de complicações por infecção pelo VSR.

Se, após a leitura deste termo, você decidir que quer a participação do(a) seu(sua) filho(a) neste estudo, será pedido que você assine e date este documento para confirmar que você recebeu todas as informações necessárias e pertinentes sobre o estudo e permitiu voluntariamente a participação do(a) seu(sua) filho(a). Você receberá uma via assinada e datada pela pessoa que explicou este documento.

OBJETIVO DO ESTUDO

O objetivo primário deste estudo é determinar a incidência de infecção respiratória (pneumonia/bronquite) grave por VSR, com necessidade de hospitalização, em crianças nascidas com idade gestacional menor ou igual a 35 semanas, durante um ano de seguimento médico.

Os objetivos secundários são:

- Avaliar o risco e os fatores de proteção contra a infecção respiratória (pneumonia/bronquite) pelo VSR em crianças prematuras brasileiras;
- Descrever a sazonalidade, ou seja, descrever o período em que é verificada a maior incidência de infecções causadas pelo VSR em 3 cidades do Brasil;
- Comparar a incidência de episódios de sibilância (chiado no peito), por 12 meses após a alta da maternidade em crianças com e sem infecção respiratória (pneumonia/bronquite) pelo VSR;
- Avaliar as diferenças na função pulmonar entre crianças com e sem infecção respiratória (pneumonia/bronquite) pelo VSR durante o primeiro ano após a alta da maternidade;
- Descrever o papel da concentração de anticorpos contra o VSR (pequenas proteínas fabricadas por células do sangue que agem contra microorganismos estranhos) na gravidade da doença pelo VSR;
- Reconhecer outros vírus responsáveis por infecção respiratória (pneumonia/bronquite) em crianças prematuras;
- Descrever a relação entre a idade gestacional (idade em semanas do bebê ao nascer) e a gravidade da infecção causada pelo VSR;
- Comparar a utilização de recursos de saúde durante o primeiro ano após alta da maternidade do hospital, entre as crianças hospitalizadas com ou sem infecção respiratória (pneumonia/bronquite) por VSR.

O(A) seu(sua) filho(a) será submetido(a) a uma pequena coleta de sangue antes da alta hospitalar para verificar a presença ou não do VSR, e apenas as crianças com suspeita de ITRI realizarão a coleta de secreção através de lavado nasofaríngeo.

Você receberá um cartão, no momento da inclusão, contendo os detalhes sobre a participação do(da) seu(sua) filho(a) no estudo. Neste cartão, você encontrará também os números de telefone para que você entre em contato com o médico/coordenador do estudo, caso o(a) seu(sua) filho(a) tenha uma doença respiratória aguda, ou seja, um processo inflamatório, infeccioso ou não, que incida no trato respiratório.

Consultas programadas:

As consultas programadas ocorrerão mensalmente, até os 6 meses de acompanhamento médico. No restante do período de estudo, o(a) seu(sua) filho(a) terá consultas programadas a cada 2 meses até que se complete um ano de acompanhamento médico no estudo. Em cada consulta programada serão realizados os seguintes itens abaixo:

- Exame físico;
- Entrevista para coletar dados atuais da história clínica e social;
- Obtenção de dados sobre fatores de risco para VSR desde a última consulta.

O médico responsável pelo(a) seu(sua) filho(a) no estudo fará uma ligação telefônica semanalmente no período de sazonalidade (época de maior frequência) do VSR, ou seja, no período em que é verificada a maior incidência de infecções causadas pelo VSR (Março a Setembro), e quinzenalmente nos outros meses (Outubro a Fevereiro). Esta ligação não será feita nas semanas em que o paciente tiver uma consulta programada.

O motivo deste contato é para atualizar a história clínica desde a última consulta e doenças e/ou episódios de hospitalização não relatados.

Consulta de encerramento:

Esta consulta está programada para ocorrer dentro de um ano de acompanhamento médico no estudo. Nesta consulta serão realizados os seguintes itens:

- Exame físico;
- Entrevista para coletar dados atuais da história clínica e social;
- Dados sobre os fatores de risco para VSR desde a última consulta;
- Coleta de sangue para dosagem de anticorpos anti-VSR.

Consulta não-agendada:

Caso o(a) seu(sua) filho(a) comece a apresentar sinais e/ou sintomas de doença respiratória aguda, ele(ela) deverá ser avaliado(a) pelo médico do estudo dentro de 72 horas após a notificação da doença ao médico. Nesta consulta o seu(sua) filho(a) será submetido(a) aos seguintes exames para confirmar se a infecção é devido ao VSR.

- Lavado nasofaríngeo para o diagnóstico viral;
- Coleta de sangue para dosagem de anticorpos anti-VSR.

Se o(a) seu(sua) filho(a) for diagnosticado(a) com uma doença respiratória aguda devido a infecção respiratória (pneumonia/bronquite) pelo VSR, sem que haja necessidade de hospitalização, ele(a) será acompanhado(a) semanalmente por telefone até a resolução do quadro. Caso ele(a) seja hospitalizado(a), este acompanhamento será diário, durante todo o período de hospitalização. Após a alta hospitalar, o(a) seu(sua) filho(a) será acompanhado(a) semanalmente até a resolução total do quadro.

Se o(a) seu(sua) filho(a) for diagnosticado(a) com uma doença respiratória aguda devido a infecção respiratória (pneumonia/bronquite), ele(a) será acompanhado(a) semanalmente por telefone até a resolução total do quadro.

Além de seu(sua) filho(a) receber o tratamento necessário para a doença, nesta consulta ocorrerão atualizações dos seguintes dados:

- Dados físicos do(da) seu(sua) filho(a) (idade, sexo, peso, altura);
- Dados sobre fatores de risco para o VSR.

RESPONSABILIDADES DO SUJEITO DE PESQUISA

É muito importante que você compareça com o(a) seu(sua) filho(a) em todas as consultas de acompanhamento programadas, visto que o médico do estudo examinará o(a) seu(sua) filho(a) em cada consulta do estudo, verificando assim a presença ou não do VSR. Apenas através da análise das informações de todas as consultas de acompanhamento, o estudo conseguirá ser bem sucedido, gerando assim informações de qualidade sobre a relação entre o VSR com a infecção respiratória (pneumonia/bronquite).

É também de extrema importância que você entre em contato imediatamente com o médico ou equipe do estudo caso ocorra com o(a) seu(sua) filho(a) qualquer intercorrência relacionada com a doença respiratória aguda como tosse, coriza, secreção nasal, febre, dificuldade de respirar ou chiado no peito.

Além disso, o médico do estudo também deverá ser informado caso haja alguma internação do(a) seu(sua) filho(a) tanto no hospital do estudo como em qualquer outro hospital.

POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

Como este estudo não está pesquisando nenhum medicamento, os riscos associados se restringem aos procedimentos de análise do estudo, como a coleta do lavado nasofaríngeo, caso o(a) seu(sua) filho(a) seja submetido a este procedimento, e à coleta

EM CASO DE COMPLICAÇÕES RELACIONADAS AO ESTUDO

Se, durante sua participação neste estudo, ocorrer algum dano em decorrência direto deste, Abbott Laboratórios do Brasil Ltda., concorda em pagar todas as despesas médicas necessárias para o tratamento, desde que você tenha seguido todas as instruções de seu médico em relação à participação do(a) seu(sua) filho(a) no estudo.

Abbott Laboratórios do Brasil Ltda não se compromete a fornecer qualquer outro tipo de compensação além da especificada acima.

ACESSO E USO DOS DADOS OBTIDOS DA PESQUISA E CONFIDENCIALIDADE

Uma lista contendo as informações de contato do(da) seu(sua) filho(a) incluindo o nome completo, endereço e número de telefone será mantida pelo médico do estudo separadamente dos demais dados do estudo. Os dados do estudo serão registrados em uma Ficha Clínica, ou seja, um documento confeccionado exclusivamente para coleta dos dados obtidos pela sua participação no estudo. Abbott Laboratórios do Brasil Ltda terá acesso a uma cópia desta ficha clínica contendo apenas as iniciais do nome e sobrenome e o número designado para o(a) seu(sua) filho(a) no estudo.

Todas as informações que forem coletadas e os registros da participação do(a) seu(sua) filho(a) neste estudo serão mantidos sob sigilo e confidencialidade. Todas as legislações, resoluções e códigos de ética brasileiros serão cumpridos no decorrer deste estudo.

Seu médico do estudo solicita o seu consentimento, através deste documento, para que os registros médicos do(a) seu(sua) filho(a) relacionados ao estudo possam ser revisados pela equipe de seu médico do estudo, pela equipe do Abbott Laboratórios do Brasil Ltda., bem como por membros das autoridades regulatórias do Brasil, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (caso seja necessário) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa responsável. O objetivo é assegurar que o estudo esteja sendo conduzido corretamente.

As informações obtidas do seu(sua) filho(a) serão combinadas com os resultados de outros sujeitos de pesquisa que também participam do estudo. Estas informações serão utilizadas de maneira que não seja possível identificar o(a) seu(sua) filho(a). Os registros capazes de identificá-lo serão mantidos de maneira confidencial por seu médico conforme determinado por nossas leis e não serão colocados à disposição pública.

Os resultados do estudo poderão ser publicados ou utilizados para futuras pesquisas médicas, como também nos relatórios do estudo e apresentações científicas; entretanto a identidade do(a) seu(sua) filho(a) não será revelada em nenhum momento.

Você tem o direito de verificar e fazer uma cópia de registros do(a) seu(sua) filho(a) relacionados à pesquisa após a finalização da mesma. Você pode solicitar esses registros ao seu médico da pesquisa.

USOS POTENCIAIS DOS DADOS DO ESTUDO

Neste estudo, informações sobre a saúde pessoal do(da) seu(sua) filho(a) serão coletadas a partir dos registros médicos e/ou relatórios de pesquisa. Serão utilizadas nos relatórios do estudo ou para apresentações e publicações científicas; tais relatórios e publicações nunca identificarão o(a) seu(sua) filho(a) pelo nome.

DÚVIDAS

Para perguntas relacionadas a esta pesquisa ou para relatar um problema de saúde relativo à pesquisa, você poderá procurar:

Dr. Nelson Rosário Filho
Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
Rua General Carneiro 181, Pronto Atendimento da Pediatria – salas 6/7
Curitiba - PR
CEP: 80060-900
Tel: (41) 3360-1800 - ramal 6216 / Cel: (41) 9101-5181

Se você tiver dúvidas sobre os seus direitos e os direitos de seu(sua) filho(a) como sujeito de pesquisa, você poderá procurar:

Renato Tambara Filho
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da
Universidade Federal do Paraná
Tel: (41) 3360-1896

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Eu li e entendi o conteúdo deste documento. Tive oportunidade de discutir o estudo com meu médico (ou alguém de sua equipe designado para este fim) e me sinto suficientemente familiarizado com o estudo para dar o meu consentimento voluntário para a participação de meu(minha) filho(a) neste estudo. Eu recebi uma cópia deste consentimento e minhas dúvidas foram esclarecidas de maneira satisfatória e em linguagem que posso facilmente entender.

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os exames realizados e possíveis desconfortos, assim também como as garantias de confidencialidade e de esclarecimento permanentes. Ficou claro também que a participação do(a) meu(minha) filho(a) é isenta de despesas e que a qualquer momento eu posso retirar o consentimento da participação do(a) meu (minha) filho(a) no estudo sem prejuízos com relação ao acompanhamento médico a que ele(ela) tem direito durante eventuais necessidades

Concordo voluntariamente na participação do(a) meu(minha) filho(a) no Projeto de Pesquisa: "Incidência de infecções graves pelo vírus sincicial respiratório em crianças prematuras brasileiras - BREVI (Estudo Brasileiro do Vírus Respiratório em Lactentes Prematuros)"

Nome da Criança (Sujeito da Pesquisa) (em letra de forma)

Nome do Representante Legal (em letra de forma)

Grau de Parentesco com a Criança (Sujeito da Pesquisa)

Assinatura do Representante Legal

Data

Nome da Pessoa Responsável pela explicação do documento (em letra de forma)

Assinatura da Pessoa Responsável pela explicação do documento

Data

ANEXO 3 – CARTÃO DE IDENTIFICAÇÃO DOS PACIENTES NOS EPISÓDIOS DE INFECÇÃO RESPIRATÓRIA AGUDA

CARTÃO DE IDENTIFICAÇÃO
O(A) meu(minha) filho(a) está fazendo parte do estudo intitulado: "Incidência de infecções graves pelo vírus sincicial respiratório em crianças prematuras brasileiras - BREVI (Estudo Brasileiro do Vírus Respiratório em Lactentes Prematuros)"
CONTATO TELEFÔNICO
Dr. xxxxxxxxx
Tel: (xx) xxxx-xxxx
Hospital xxxxxxxx
Rua xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

QUANDO ENTRAR EM CONTATO:
* Se seu filho apresentar problemas respiratórios, como tosse, febre, coriza ou dificuldade para respirar;
* Se seu filho for hospitalizado ou levado a um atendimento emergencial;
* Para agendar ou reagendar a data e horário de uma consulta do estudo;
* Quando tiver qualquer dúvida em relação as consultas ou algum procedimento do estudo.

PRODUÇÃO ACADÊMICA

ARTIGO 4 – RESUMO DO PÔSTER APRESENTADO NO 31º ENCONTRO ANUAL DA SOCIEDADE EUROPEIA DE DOENÇAS INFECCIOSAS EM PEDIATRIA, 28 MAIO – 1 JUNHO, 2013; MILÃO, ITÁLIA.

BREVI (ESPID 2013)
SNG12515.2001
Final; January 11, 2013

BURDEN OF VIRAL PATHOGENS ON SEVERE LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS AMONG PREMATURE INFANTS: PROSPECTIVE BIRTH COHORT STUDY IN BRAZIL

Authors: Debora Chong,¹ Eurico Arruda,² Roger Deaton,³ Gabriela Bugarin,³ Gerard Notario,³ Marcus H. Jones,⁴ Alessandra Matsuno,² Taisa Paim,⁴ Nelson Rosario Filho,¹ Rodrigo Sini,³ Pamela Vo,³ Claudia Suzuki,³ Renato T. Stein^{4*}

Affiliations: ¹Federal University of Paraná, Curitiba, PR, Brazil (HC UFPR); ²University of Sao Paulo School of Medicine, Ribeirao Preto, SP, Brazil (HC-FMRP USP); ³AbbVie Inc; ⁴Pontificia Universidade Catolica, Porto Alegre, Brazil

*Denotes submitting/presenting author

Conflicts of Interest/Disclosures for all authors:

D. Chong reports no conflict of interest.

E. Arruda has received grants from FAPESP

R. Deaton is an AbbVie Inc employee and may hold stock or options in AbbVie Inc.

G. Bugarin is an AbbVie Inc employee and may hold stock or options in AbbVie Inc.

G. Notario is an AbbVie Inc employee and may hold stock or options in AbbVie Inc.

M. Jones has received speaker's honoraria from AbbVie Inc.

A. Matsuno reports no conflict of interest.

T. Paim reports no conflict of interest.

BREVI (ESPID 2013)
SNG12515.2001
Final; January 11, 2013

N.R. Filho reports no conflict of interest.

R. Sini is an AbbVie Inc employee and may hold stock or options in AbbVie Inc.

P. Vo is an AbbVie Inc employee and may hold stock or options in AbbVie Inc.

C. Suzuki is an AbbVie Inc employee and may hold stock or options in AbbVie Inc.

R. Stein has received speaker's honoraria from AbbVie Inc.

Abstract to be Presented at: 31st Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, May 28–June 1, 2013; Milan, Italy

Abstract category: Epidemiology and Public Health: Clinical Epidemiology

Miscellaneous Information: A maximum of 3 tables of up to 10 rows × 10 columns can be included per abstract. Each image included in the abstract is worth 10 words. The Scientific Committee will determine whether the abstract will be accepted for an Oral Presentation, a Poster Discussion Session, or a Poster Presentation, with consideration given to the author's preference.

BREVI (ESPID 2013)
SNG12515.2001
Final; January 11, 2013

Abstract

Background and aims: Premature infants are at high risk for developing severe respiratory disease. Prospective studies on the role of viral pathogens on the burden of severe respiratory diseases are scarce, especially in developing countries. This 3-year study in Brazil (2008–2010) determined the incidence of severe respiratory syncytial virus (RSV)-related lower respiratory tract infections (LRTIs) requiring hospitalization in infants ≤ 35 weeks gestational age.

Methods: Infants identified as preterm births in 3 Brazilian referral hospitals were prospectively followed-up from maternity hospital discharge for 1 year. Subjects were seen monthly for the first 6 months and bimonthly thereafter. Subjects with signs/symptoms of a LRTI were tested for respiratory viruses by real-time RT-PCR.

Results: The analysis population consisted of 303 preterm infants, including 246 who completed follow-up. At birth, 299 (98.7%) subjects were hospitalized an average (\pm SD) 36.4 ± 26.9 days; 269 (88.8%) infants were admitted in the NICU (mean stay: 31.8 ± 27 days). During follow-up 432 LRTI episodes occurred in 176 subjects. RSV and human rhinovirus were each detected, alone or in combination, in 33.1% and 29.4% of these episodes, respectively (Table). Thirty subjects, representing 9.9% of the analysis population and 17.0% of subjects with an LRTI episode, experienced a severe RSV LRTI requiring hospitalization.

Conclusions: RSV is a substantial cause for hospitalization among premature infants in Brazil, resulting in hospitalization for approximately 10% of premature infants. RSV and human rhinovirus were the most frequently detected viruses in LRTI episodes.

BREVI (ESPID 2013)
 SNG12515.2001
 Final; January 11, 2013

Table. Viral Pathogens Identified by RT-PCR in Premature Infants With LRTI

Viral pathogen	Number (%) (N=432)
Respiratory syncytial virus (A and B)	143 (33.1)
Human rhinovirus	127 (29.4)
Human bocavirus	83 (19.2)
Metapneumovirus (A and B)	73 (16.9)
Influenza (A and B)	58 (13.4)
Parainfluenza virus (1 and 3)	39 (9.0)
Adenovirus	22 (5.1)
Coronavirus (OC43 and 229E)	21 (4.9)
Influenza (H1N1)	12 (2.8)

BREVI (ESPID 2013)
SNG12515.2001
Final; January 11, 2013

The design, study, conduct, analysis, and financial support of the clinical trial were provided by AbbVie Inc. AbbVie Inc. participated in the interpretation of data, review, and approval of the presentation.

The authors would like to express their gratitude to the trial participants, investigators, and coordinators who made this study possible, and to Daniel McCallus, PhD (Complete Publication Solutions, LLC) for medical writing services.

The Burden of Single Virus and Viral Coinfections on Severe Lower Respiratory Tract Infections Among Preterm Infants

A Prospective Birth Cohort Study in Brazil

Eurico Arruda, MD, PhD,* Marcus H. Jones, MD, PhD,† Flavia Escremin de Paula, PhD,*
Deborah Chong, MD, MSc,‡ Gabriela Bugarin, MD,§ Gerard Notario, MD,¶ Alessandra K. Matsuno, MD,*
Paulo M. Pitrez, MD, PhD,† Pamela Vo, PharmD,¶ Claudia Suzuki, RN, MBA,||
Nelson Rosario Filho, MD, PhD,‡ and Renato T. Stein, MD, PhD†

Background: Respiratory syncytial virus (RSV) is associated with severe lower respiratory tract infection (LRTI), especially in preterm infants. Other viruses, co-detected with RSV, may play a role in the severity of respiratory outcomes.

Methods: This prospective epidemiologic study of severe LRTI incidence among children born ≤ 35 weeks gestational age at 3 sites in Brazil (2008–2010) followed a birth cohort for 1 year post-enrollment. Nasal washes from subjects with LRTI were tested for respiratory viruses using polymerase chain reaction. The primary outcome was the incidence of severe LRTI requiring hospitalization associated with RSV infection. Secondary outcomes included identification of viruses associated with LRTI, alone or coinfections, and risk factors associated with severe LRTI.

Results: Among 303 subjects, 176 (58.1%) experienced LRTI. Among these subjects, 162 had samples tested using polymerase chain reaction; 27.8% (45/162) experienced severe LRTI. More subjects with severe LRTI were infected with RSV (30/45, 66.7%) than with other viruses. RSV was present in 33.1% (143/432) of LRTI events tested, 57.3% (82/143) were coinfections. RSV was the virus most frequently associated with severe LRTIs (34/56 events, 60.7%); 50% (17/34 events) single and 50% coinfections. Significantly longer hospital stays were associated with LRTI events involving RSV coinfections compared with RSV single infections ($P = 0.012$). Infants with severe LRTIs had significantly lower mean RSV-IgG levels at study entry compared with those with nonsevere or no LRTIs ($P < 0.05$).

Conclusions: This study confirms the association of RSV alone or as a coinfection with severe LRTI and reinforces the importance of providing adequate prophylaxis for susceptible infants.

Key Words: Epidemiology, preterm birth, respiratory viruses, RSV

(*Pediatr Infect Dis J* 2014;33:997–1003)

Accepted for publication March 10, 2014.

From the *University of São Paulo, School of Medicine, Cell Biology Department, Ribeirão Preto; †Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, School of Medicine, Infant Center, Biomedical Research Institute, Porto Alegre; ‡Federal University of Paraná, School of Medicine, Department of Pediatrics, Curitiba, Brazil; §AbbVie Inc., Medical Affairs, Virology, Buenos Aires, Argentina; ¶AbbVie Inc., Virology Global Project Team, Global Pharmaceutical Research and Development (GFN) and Global HEOR (PV), North Chicago, IL, and ††Abbott Brazil, Medical Affairs, São Paulo, Brazil. E.A. and M.H.J. contributed equally to this work.

This study was funded by AbbVie, Inc. G.B., G.N. and P.V. are employees of AbbVie and may hold stock or options; M.H.J. and R.T.S. have received speaker's honoraria from AbbVie and C.S. is an employee of Abbott Brazil and may hold stock or options.

The authors have no other funding or conflicts of interest to disclose.

Address for correspondence: Renato T. Stein, MD, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil. E-mail: rstein@pucrs.br
Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's website (www.pidj.com).

Copyright © 2014 by Lippincott Williams & Wilkins

ISSN: 0891-3668/14/3310-0997

DOI: 10.1097/INF.0000000000000349

Infants delivered prematurely are at an increased risk of severe respiratory disease,^{1–3} associated in great part with inadequate lung development at the time of birth² and an immature immune system.⁴ The respiratory problems that often follow birth before 37 weeks gestational age (wGA) can have profound immediate and long-term consequences.^{5–7} Although the survival rate for preterm infants has improved in recent years, this has contributed to a higher prevalence of bronchopulmonary dysplasia,² the severity of which is inversely correlated with GA.^{1,18} Of particular importance, preterm infants frequently experience serious complications associated with severe respiratory syncytial virus (RSV) infection, including a longer duration of hospitalization, an increased rate of admission to the intensive care unit (ICU) and a greater requirement for mechanical ventilation compared with term infants.¹¹ Hospitalization rates for RSV-associated infections are higher in children <24 months of age (including those <6 months of age) who were born <36 wGA compared with children at lower risk for infection (children born full term or without bronchopulmonary dysplasia or congenital heart disease).¹²

Prospective studies of the role of viral pathogens on the burden of severe respiratory disease in infants are scarce, particularly in developing countries. In addition, it is still controversial whether coinfection by multiple respiratory viruses may increase the risk of developing severe lower respiratory tract infection (LRTI) compared with infection by a single virus.^{13–18} Determination of the rate and type of coinfections occurring in patients experiencing LRTIs provides clinicians and public health officials with valuable information that may be used to improve prevention and treatment measures. There is a growing body of evidence supporting the burden of RSV infection on prematurely born infants.

Recent studies in different geographic locations have shown the importance of the role of mixed viral infections on respiratory disease severity.^{13,15,19} In the present study, we evaluated the association of RSV coinfections with disease severity. A number of epidemiologic assessments on the burden of acute viral respiratory disease in preterm infants have been performed,^{20–24} including several in Brazil.^{13,14,25–28} The current study was a 3-year prospective observational study (children were recruited from 2008 to 2010 and followed for 12 months) that was conducted to determine the incidence of severe LRTI associated with viral infections requiring hospitalization in infants born ≤ 35 wGA at 3 referral hospitals in Brazil.

MATERIALS AND METHODS

Study Design

This was a prospective epidemiologic study conducted between January 2008 and December 2010 to determine the incidence of severe LRTI among children born ≤ 35 wGA at 3 sites (public hospitals) in southern Brazil (Curitiba, Porto Alegre and Ribeirão Preto). Following birth, preterm children were identified by the study

nurses and enrolled throughout the hospitalization period up to 72 hours after hospital discharge and were followed for 1 year after enrollment. Subjects were seen monthly for the first 6 months and bimonthly until 1 year of follow up. Parents were instructed to contact the study nurses whenever children presented a series of defined respiratory symptoms. Whenever the presence of cough or fever or any signs of respiratory distress were noted, children were seen by a study pediatrician. LRTIs were diagnosed based on symptoms noted during physical examination and included respiratory rate, retractions, wheezing and/or crackles on auscultation, and, whenever present, radiologic signs were compatible with viral bronchiolitis or pneumonia. Severe LRTI was defined as an event that required hospitalization because of these signs and symptoms. Many of these admissions were associated with oxygen saturation levels <93%.

Nasal washes from subjects with an LRTI were collected by trained personnel (study nurses) and transported to the laboratory at 4°C. Aliquots were then prepared and stored at -70°C. Samples were then tested for respiratory viruses using polymerase chain reaction (PCR) using TaqMan (Life Technologies, Grand Island, NY) assays (see Table, Supplemental Digital Content 1, <http://links.lww.com/INF/B871>).⁴⁶⁻⁵³ There was only 1 specimen collected per event per subject. Subjects with LRTI not requiring hospitalization were followed weekly by telephone until parents informed study nurses that their children were healthy again. Hospitalized children with LRTI were followed daily during their hospitalization stay and weekly by telephone after hospital discharge until illness resolution. Children had blood drawn for determination of serum levels of RSV-specific IgG titers at enrollment. RSV antibody titers were assessed using enzyme-linked immunosorbent assay, according to standard methodology, which was performed at the central laboratory in Ribeirão Preto.

The study protocol was approved by the institutional review boards/independent ethics committees for each site; written informed consent was obtained from legal representatives of each subject.

Participants

Infants born ≤ 35 wGA and who were <6 months of age at screening were included. Subjects were born in or transferred to 1 of the participating hospitals and were eligible to receive follow-up medical care at the participating site. Legal representatives of included subjects had to be able to provide information during the follow-up period. Subjects were excluded if they had experienced RSV infection or if they had received palivizumab or other RSV-specific immunoglobulin products before the start of the study.

Assessments

The primary outcome was occurrence of severe LRTI (an LRTI requiring hospitalization) associated with RSV infection within 1-year of follow up. Secondary outcomes were occurrence of LRTIs associated with detection of other viruses or with personal (clinical history associated with prematurity, including ICU stay and oxygen use) or familial risk factors (including socioeconomic status and history of asthma) for severe LRTI in preterm infants. Additionally, the study enabled the description of the seasonality of RSV infection in the South and Southeast regions of Brazil.

Real-time PCR for Respiratory Viruses

Nasopharyngeal washes were tested using real-time PCR for the presence of RSV A and B; human rhinovirus (HRV); human bocavirus (HBoV); human metapneumovirus (HMPV) A and B; human influenza virus A and B, including A(H1N1)pdm09; human parainfluenza virus (HPIV) 1 and 3; human adenovirus (HAdV) and human coronavirus (HCoV) OC43 and 229E. Total RNA was extracted from 250 μ L nasopharyngeal washes using TRIzol (Life

Technologies), and DNA was extracted from 200 μ L nasopharyngeal washes with Wizard Genomic DNA purification kit (Promega, Madison, WI), both following the manufacturer's protocols. Real-time PCR was done using the TaqMan strategy with specific primers and probes (data available on request) in a Thermocycler 7300 (Life Technologies) and with the internal control (the β -actin housekeeping gene) tested in all samples. Mixtures of 2 sets of primers and probes were used for RSV A and B, HCoV OC43 and 229E and HAdV and HBoV. A single pair of primers was used with 2 different probes to cover 2 non-cross-reactive subsets of HRV types. Reverse transcription, assembly of real-time PCR mixes, and cycling parameters were per a previously published protocol,²⁷ except for reactions directed to DNA viruses, which were performed with 3 μ L extracted DNA in a final volume of 15 μ L. PCR products of all respiratory viruses included in the panel were previously cloned into the plasmid pGEM-T Easy vector system (Promega) and routinely used as positive controls in all PCR assays. Before sample testing, control dilutions were positive for <10 copies of target genes. PCR assays, including negative controls, were performed by the same personnel, and all results were validated using positive β -actin control reactions. Sample handling and PCR mix preparation took place in separate rooms.

RSV Antibody Test

Serum IgG antibodies to RSV were assayed using the RSV Virotech kit (Sekisui Virotech GmbH, Rüsselsheim, Germany) following the manufacturer's instructions.

Statistical Analysis

For numerical variables, such as demographics, hospital admissions and viral pathogens identified, the mean, standard deviation (SD), median, minimum and maximum values are provided. For nominal variables, the number and percentage were calculated for non-missing data. The Kaplan-Meier method was used to estimate the median time to first LRTI event. Univariate analyses were performed for comparing groups (severe vs. nonsevere LRTI and severe vs. no LRTI) according to predefined factors, using the χ^2 test or the Student *t* test.

RESULTS

A total of 310 infants were originally enrolled in the study (Curitiba, 110; Porto Alegre, 116; Ribeirão Preto, 77); 7 were excluded because of protocol violations. No significant differences for the main outcome variables were noted among the 3 study sites. Of 303 subjects initially enrolled, 57 (18.8%) had their participation discontinued; 246 subjects completed the study. The most frequent reason for discontinuation was loss to follow up.

Subject Demographics

The mean \pm SD weights at birth and enrollment were 1.6 \pm 0.5 kg and 2.1 \pm 0.3 kg, respectively (see Table, Supplemental Digital Content 1, <http://links.lww.com/INF/B871>). The mean GA of the enrolled subjects was 31.9 \pm 2.5 weeks and the mean age at enrollment was 32.9 \pm 24.4 days. At enrollment, approximately all (299/303; 98.7%) subjects had been hospitalized in the maternity ward for a mean of 36.4 \pm 26.9 days because of a variety of causes related to prematurity. The distribution of GA among subjects who completed the study was <30 weeks (*n* = 53), 30 to <32 weeks (*n* = 54) and 32–35 weeks (*n* = 139).

During follow up, 3 subjects died, 2 from causes unrelated to RSV. The third death occurred outside a hospital participating in the study. A review of the case indicated that death was because of pneumonia and sepsis and was associated with RSV infection, with RSV antigen detected using immunofluorescence at admission to the hospital at which the death occurred.

Most children were enrolled while still in the birth hospital; 88.8% had been previously admitted to the neonatal ICU, 25.4% had required mechanical ventilation and 65.7% had been on supplemental oxygen for a mean of 14.6 days. Approximately two-thirds of the infants had at least 1 parent or sibling (62%) with a confirmed history of asthma and nearly half (46.2%) had a smoker living in the same household.

Subjects With Severe and Nonsevere LRTIs

Of the 303 subjects included in the study, 176 (58.1%) experienced an LRTI at some point during the follow-up period (Table 1), 36.4% (64/176) of which were severe (requiring hospitalization). Therefore, the overall hospitalization rate was 21.1% (64/303). A total of 37.6% of subjects (114/303) had >1 LRTI during follow up, with a mean (SD) of 2.6 ± 2.2 LRTIs per subject. The mean time to the first LRTI was 6 ± 3.2 months. Among subjects with an LRTI, 162 (of 176) had samples tested using PCR for the identification of infecting viruses, and 27.8% of these subjects (45/162) experienced a severe LRTI. RSV was the most prevalent virus associated with severe LRTI (30/45 subjects, 66.7%) alone or as a coinfection with other viruses. Thus, the prevalence of severe RSV-associated LRTIs in the whole population was 9.9% (30/303). Almost half of these RSV infections had concomitant positive PCRs for other viruses. No statistically significant difference in time to first severe LRTI was observed among subjects with RSV-associated episodes (mean ± SD: 4.3 ± 2.8 months) compared with those not associated with RSV (mean ± SD: 5.5 ± 4.0 months).

Subjects who developed severe LRTI during the study period were noted to have lower birth weight, lower level of maternal education, longer initial hospitalizations following birth and lower IgG levels when compared with patients who did not develop severe LRTI during the study period (see Table, Supplemental Digital Content 2, <http://links.lww.com/INF/B872>). Young age was also a significant risk factor for severe events.

Viral Pathogens Associated With LRTI Events

There were 461 detected LRTI events among the 303 subjects in the analysis population; samples from 93.7% (432/461) of these events were tested for viral identification using PCR (Table 2). Among these collected samples, 21.1% (91/432) were negative for all tested viruses. Of the 341 samples from LRTI events that tested positive for any virus, 48 were from severe events (events that required hospitalization). Coinfections were identified in approximately half of all samples that tested positive for any virus (161/341; 47.2%) and in half of all samples from severe LRTIs that tested positive for any virus (23/48; 47.9%).

The viruses that were identified using PCR are presented in Figure 1 and Table 3 (along with a complete listing of all viruses identified in single and coinfections, data available on request).

TABLE 1. Infection Characteristics According to Number of Subjects (N = 303)

	n (%)
Subjects with an LRTI	176 (58.1)
Subjects with a severe LRTI	64 (21.1)
Subjects with a nonsevere LRTI	112 (37.0)
Subjects with 1 LRTI	62 (20.5)
Subjects with >1 LRTI	114 (37.6)
Subjects with an LRTI tested using PCR	162 (53.5)
Subjects with a severe LRTI among subjects with samples tested using PCR	45 (27.8)
Subjects with a severe LRTI associated with RSV	30 (9.9)

TABLE 2. Infection Characteristics According to LRTI Event (N = 461)

	n (%)
Total LRTI events	461
LRTI events tested using PCR	432 (93.7)
LRTI events positive for any virus	341 (78.9)
Single infections	180 (41.7)
Coinfections	161 (37.3)
Severe LRTI events tested using PCR	56 (13.0)
Positive for any virus	48 (11.1)
Single infections	25 (5.8)
Coinfections	23 (5.3)
Nonsevere LRTI events tested using PCR	301 (69.7)
Positive for any virus	231 (53.5)
Single infections	126 (29.2)
Coinfections	105 (24.3)

RSV was the most prevalent viral agent in the overall analysis (143/432; 33.1%) and among those with positive tests (143/341; 41.9%). Interestingly, 57.3% (82/143) of the RSV infections were coinfections, approximately half of which were with HRV (39/82; 47.6%). Of any coinfection involving RSV + HRV (39/432; 9.0%), nearly half also included infection with yet another virus (19/39; 48.7%). Among 18 LRTI events in which 3 or more viruses were identified, the combination of RSV + HRV was identified in 8. The

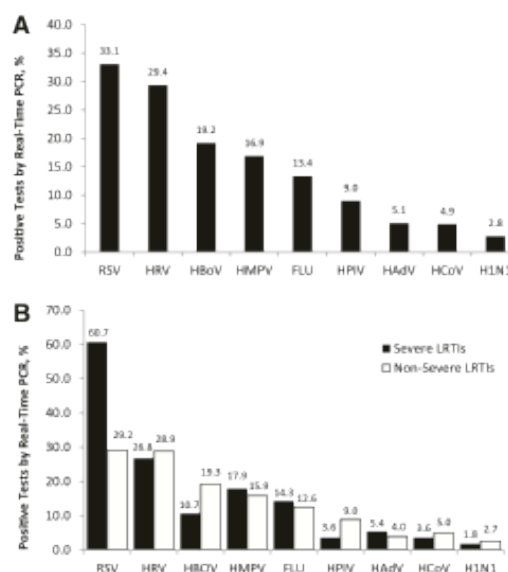


FIGURE 1. Viral pathogens identified using PCR in LRTI events. A) Percentage of positive PCR results from nasal washes from subjects (all LRTI events; n = 432). B) Percentage of positive PCR results from nasal washes from subjects (severe LRTI events, n = 56; nonsevere LRTI events, n = 301). FLU, human influenza virus (subtypes A and B); H1N1, influenza virus; HCoV, human coronavirus (OC43 and 229E); HMPV, human metapneumovirus (subtypes A and B); HPIV, human parainfluenza virus (subtypes 1 and 3); RSV, respiratory syncytial virus (includes subtypes A and B).

TABLE 3. Viral Pathogens Associated With LRTI Events Identified Using PCR

Viral pathogen, n(%)	Frequency Among All LRTI Events* (N = 432)	Frequency Among Severe LRTI Events (n = 56)	Frequency Among Nonsevere LRTI Events (n = 301)
RSV (A and B)	143 (33.1)	34 (60.7)	88 (29.2)
RSV alone	61 (14.1)	17 (30.4)	36 (12.0)
RSV coinfection	82 (19.0)	17 (30.4)	52 (17.3)
HRV	127 (29.4)	15 (26.8)	87 (28.9)
HRV alone	41 (9.5)	1 (1.8)	33 (11.0)
HRV coinfection	86 (19.9)	14 (25.0)	54 (17.9)
HBoV	83 (19.2)	6 (10.7)	58 (19.3)
HBoV alone	20 (4.6)	2 (3.6)	13 (4.3)
HBoV coinfection	63 (14.6)	4 (7.1)	45 (15.0)
HMPV A or B	73 (16.9)	10 (17.9)	48 (15.9)
HMPV alone	20 (4.6)	2 (3.6)	14 (4.7)
HMPV coinfection	53 (12.3)	8 (14.3)	34 (11.3)
Influenza virus A or B (FLU)	58 (13.4)	8 (14.3)	38 (12.6)
FLU alone	10 (2.3)	0 (0.0)	10 (3.3)
FLU coinfection	48 (11.1)	8 (14.3)	28 (9.3)
Influenza virus (H1N1)	12 (2.8)	1 (1.8)	8 (2.7)
H1N1 alone	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
H1N1 coinfection	12 (2.8)	1 (1.8)	8 (2.7)
HPIV 1 or 3	39 (9.0)	2 (3.6)	27 (9.0)
HPIV alone	15 (3.5)	2 (3.6)	11 (3.7)
HPIV coinfection	24 (5.6)	0 (0.0)	16 (5.3)
HAdV	22 (5.1)	3 (5.4)	12 (4.0)
HAdV alone	2 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.3)
HAdV coinfection	20 (4.6)	3 (5.4)	11 (3.7)
HCoV: OC43 or 229E	21 (4.9)	2 (3.6)	15 (5.0)
HCoV alone	11 (2.5)	1 (1.8)	8 (2.7)
HCoV coinfection	10 (2.3)	1 (1.8)	7 (2.3)
RSV + HRV	39 (9.0)	10 (17.9)	20 (6.6)
RSV + HBoV	26 (6.0)	4 (7.1)	17 (5.6)
RSV + HMPV	26 (6.0)	6 (10.7)	16 (5.3)
Total of positive PCRs	341 (78.9)	48 (85.7)	231 (76.7)
Negative PCRs	91 (21.1)	8 (14.3)	70 (23.3)
Total coinfections, n/N (%)	161/341 (47.2)	23/48 (47.9)	105/231 (45.5)

*Not all LRTI events were characterized as severe (requiring hospitalization) or nonsevere.

frequency of HRV detections was similar to that of RSV for all LRTIs (127/432; 29.4%), whereas HBoV, HMPV (subtypes A and B) and influenza appeared in substantial, albeit lower, numbers (Fig. 1 and Table 3).

Severe LRTI events were largely associated with RSV (34/56; 60.7%; Fig. 1B and Table 3), with half of these events being single virus detections (17/34, 50.0%) and half being coinfections. HRV was the most common coinfecting virus with RSV in severe LRTI events (10/17; 58.8%). Significantly longer hospital stays (mean \pm SD) were associated with LRTI events in which RSV and another coinfecting virus were identified in the same sample collection (14.3 \pm 7.7 days) compared with LRTI events in which RSV was the sole virus identified (7.5 \pm 4.3 days; $P = 0.012$ for the difference between these 2 groups). Events associated with any single virus other than RSV necessitated a mean hospital stay of 6.47 \pm 5.64 days, which was not statistically significantly different when compared with RSV-only associated LRTI events necessitating hospitalization.

Seasonality of RSV Infection

The identification of RSV infection in subjects with an LRTI evaluated at the 3 centers indicates that infections occur in all months (see Figure, Supplemental Digital Content 3, <http://links.lww.com/INF/B873>). The monthly rate of RSV infections varied with periods of higher frequency observed throughout the year for 3 consecutive years (2008–2010). The peak incidence generally occurred from April to July, with additional smaller peaks occurring in November 2009 and September 2010.

DISCUSSION

In this study conducted at 3 sites in Brazil, RSV (33.1% of LRTI events) and HRV (29.4% of LRTI events) were the respiratory viruses most frequently identified in preterm subjects born <35 wGA and <1 year of age who experienced an LRTI. More importantly, in LRTI events that were severe (events requiring a hospital admission), RSV was identified at a frequency more than twice that of HRV. The hospitalization rate for severe LRTI associated with RSV infection was 9.9%. Although other respiratory viruses, including HRV, HBoV, HMPV and influenza, were present in >10% of LRTI events, their association with severe LRTIs was well below that of RSV.

The association of RSV with serious respiratory infection has been documented in a number of geographic locations,^{17,20–24} including areas of Brazil.^{13,14,25–28} This study extends and confirms those findings and reinforces the importance of controlling RSV infection, particularly in the children who are most susceptible to the development of serious respiratory disease.

Children in this study were primarily those of a less affluent socioeconomic status, as evidenced by their birth and treatment in the participating public hospitals (known to provide free assistance to poorer children) and by the low level of maternal education. Therefore, it is of interest that the observed overall rates of detection of respiratory viruses in children participating in the current study are similar to what has been described among more affluent populations,¹⁵ thus suggesting that these findings are likely independent of social and environmental factors.

Another key finding of our study is the important burden of coinfections, especially those associated with RSV. Coinfection

of children with >1 virus is not uncommon in cases of LRTI.^{13,18,25} In the current study, the number of coinfections was substantial. Among 341 samples from LRTI events, 161 (47.2%) were coinfections. This study indicates that the association between RSV and other respiratory viruses pose a greater clinical burden when compared with infection by RSV alone, as was evident by the significantly increased length of hospital stays associated with these coinfections. Similar observations regarding the importance of coinfections have been previously reported.^{13,15,29,36} In a recent study conducted in Brazil, among children <3 years of age with an LRTI, RSV + HMPV was the most commonly detected coinfection. Children <6 months with RSV + HRV coinfection were significantly more likely to spend additional time in the hospital compared with children without a coinfection.¹³ Among children <5 years of age in Japan who showed signs of acute respiratory infection, RSV coinfection was significantly associated with moderate to severe nonpneumonic respiratory disease.¹⁵ An analysis of children <14 years of age in Greece with respiratory infections found that coinfection led to an increased probability of hospitalization.¹⁹ A study of lung tissue necropsy samples from children who died in Brazil from 1985 to 2005 after respiratory disease found that RSV was the most commonly identified respiratory virus, both as a single infection and as part of coinfections.³⁶ Not all studies reach the same conclusions, however. No correlation was found between coinfection and severity of clinical features in children <5 years in Brazil.¹⁴ Further, coinfection of RSV with additional viruses was not associated with increased hospital or ICU admission in children <2 years.²³ Children with HMPV-positive LRTI in China were not more likely to experience increased clinical disease if they had a coinfection with additional respiratory viruses.¹³ These seemingly contradictory results from previous studies may be related to study power, specific study design or different study entry criteria.

Although RSV is usually the most frequently identified virus in samples of patients with respiratory infections, a number of other viruses may be present either alone or through coinfecting samples. The identity of these viruses likely depends on geographic and seasonal factors, among others. This study found that RSV was the most frequently identified virus in single infections and in coinfecting samples. Similarly, HRV was the second most identified virus in both single and coinfecting samples, as has been observed in studies involving children with bronchiolitis in southeastern Brazil¹³ and those with acute respiratory infection in Japan.¹⁵ Interestingly, together with RSV, HMPV and HAdV were the most frequently identified coinfecting viruses in other studies conducted in Brazil,^{13,14} whereas influenza was the most common coinfecting virus in a study in Greece.¹⁹

The mechanisms associated with disease virulence in cases of viral coinfections are complex and, as of yet, far from clear. Direct interactions of viral genes or gene products, indirect interactions related to an affected host environment or immunologic interactions are likely to be at play, acting independently, or in conjunction with each other.^{37,38}

A number of risk factors were found to be significantly associated with severe LRTI in this study. Among children who experienced an LRTI that was classified as severe or nonsevere, children with a severe LRTI had lower RSV-specific IgG titers at the time of study enrollment compared with children with a nonsevere LRTI. These data support earlier evidence suggesting that higher levels or avidity of maternal antibodies to RSV correlate with protection against RSV infection during the first few months of life.^{39–43} Levels of maternal education ≤ 8 years also positively correlated with severe LRTI associated with RSV, confirming previous findings of an association of higher maternal education with decreased risk for severity of infection.⁴⁴ Although the rate of severe LRTI

associated with RSV was increased with exposure to household tobacco smoke, as has been noted previously,^{45,46} the difference was not significant in this study. An analysis of the number of RSV infections that occurred during the 3 years of the study indicated that RSV infections occurred throughout the year at these study sites, although months in which higher RSV infection frequencies occurred were identified.

Limitations of the study included the number of enrolled subjects, which was slightly smaller than originally planned, and the lack of PCR analysis on a number of subjects who experienced an LRTI. In addition, the study enrolled subjects at only 3 sites in Brazil; therefore, the results reported here might not be representative of the entire country. Another limitation may be related to the detection of a coinfecting virus in the same patient sample via a concomitant PCR assay. Recent evidence indicates the possibility of a human "virome" detectable by molecular methods,^{18,47} which could be indicative of either currently replicating agents and/or persisting remnants from prior infections. Therefore, the detection of multiple viruses in a single sample may actually be a result of a prior infection rather than a current infection. Are such possible remnants indicative of persistence and consequently of ongoing replication, albeit at lower levels? Furthermore, for how long do such trace molecular remnants remain detectable using PCR in secretions? These are important questions that require further clinical evaluation.

Epidemiologic studies of RSV incidence are instructive exercises that are often valuable tools in the formulation of effective treatment practices. However, results from individual studies are influenced by demographic, economic, geographic, seasonal and study design considerations, which make meaningful comparison between studies challenging. Although data on local populations are usually the best guide for the development of regional health care policies, differences observed between studies may uncover factors that influence those disparate results. Moreover, the demonstration of common findings between studies, despite unavoidable methodologic variations, may indicate the importance of those results.

The data reported in this study confirm the association of RSV infection with severe LRTI in children born ≤ 35 wGA during their first year of life and provide additional data that suggest that antibody specific for RSV may be protective in young children. The finding that coinfection of RSV with other viruses increases the severity of LRTIs, as evidenced by longer mean hospital stays among these preterm infants, is quite important and provides even further relevance to policies that indicate adequate prophylaxis for susceptible infants for whom RSV infection may be accompanied by an increased risk for significant morbidity and mortality.

National guidelines for the prevention of severe RSV-related respiratory disease are in place in Brazil. Our findings reinforce the previously well-known burden of this virus, especially among susceptible populations, and the importance of disease prevention. Data from this study are also indicative of an even more significant impact of RSV on severe LRTIs when detected as part of a coinfection with other common respiratory pathogens.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was sponsored by AbbVie. AbbVie contributed to the study design, research, analysis and interpretation of data and publication writing, reviewing and approval. The authors determined the final content. No payments were made to the authors for writing this manuscript or performing the study. Medical writing support was provided by Daniel E. McCallus, PhD, at Complete Publication Solutions, LLC; this support was funded by AbbVie Inc. The authors thank the BREV Study Group

for their participation in this study; Rodrigo Sini (Abbott) for assistance in the review of study data; study subinvestigators Taisa Paim (PUC-RS), Camila Parreira Schmidt, MD (PUC-RS), Márcia S. Freitas da Motta (HC FMRP USP), Gustavo Xavier Yamaguti (HCFMRP USP) and Juliana Castanheira (HC FMRP USP); study coordinators: Ana Lúcia Campelo Prestes (HCUFPR), Giovana dos Santos (PUC-RS), Andréia Tompsen (PUC-RS) and Mariluza Shizue Iwamoto (HC FMRP USP); study coordinator Marisa Akiko Iwamoto (HC FMRP USP); study CRA Priscila Biegun (Abbott) and study clinical operations manager Karla Salomão (Abbott).

REFERENCES

- Escobar GJ, Clark RH, Greene JD. Short-term outcomes of infants born at 35 and 36 weeks gestation: we need to ask more questions. *Semin Perinatol*. 2006;30:28–33.
- Ali Z, Schmidt P, Dodd J, et al. Bronchopulmonary dysplasia: a review. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;288:325–333.
- Hack M, Fanaroff AA. Outcomes of children of extremely low birthweight and gestational age in the 1990s. *Semin Neonatol*. 2000;5:89–106.
- Melville JM, Moses TJ. The immune consequences of preterm birth. *Front Neurosci*. 2013;7:79.
- Greenough A. Long-term respiratory consequences of premature birth at less than 32 weeks of gestation. *Early Hum Dev*. 2013;89 (suppl 2):S25–S27.
- Houweling LM, Bezemer ID, Penning-van Beest FJ, et al. First year of life medication use and hospital admission rates: premature compared with term infants. *J Pediatr*. 2013;163:61–6 e1.
- Faustad T, Braulid D, Medboe S, et al. Norwegian Extreme Prematurity Study Group. Bronchopulmonary dysplasia—prevalence, severity and predictive factors in a national cohort of extremely premature infants. *Acta Paediatr*. 2011;100:53–58.
- Choukroun ML, Feghali H, Vautrat S, et al. Pulmonary outcome and its correlates in school-aged children born with a gestational age \leq 32 weeks. *Respir Med*. 2013;107:1966–1976.
- Blanken MO, Rovers MM, Molenaar JM, et al. Dutch RSV Neonatal Network. Respiratory syncytial virus and recurrent wheeze in healthy preterm infants. *N Engl J Med*. 2013;368:1791–1799.
- Landry JS, Menzies D. Occurrence and severity of bronchopulmonary dysplasia and respiratory distress syndrome after a preterm birth. *Pediatr Child Health*. 2011;16:399–403.
- Resch B, Kurath S, Manzoni P. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in preterm infants. *Open Microbiol J*. 2011;5:135–143.
- Boyce TG, Mellen BG, Mitchel EF Jr, et al. Rates of hospitalization for respiratory syncytial virus infection among children in Medicaid. *J Pediatr*. 2000;137:865–870.
- da Silva ER, Pitrez MC, Arruda E, et al. Severe lower respiratory tract infection in infants and toddlers from a non-affluent population: viral etiology and co-detection as risk factors. *BMC Infect Dis*. 2013;13:41.
- Gagliardi TB, Paula FE, Iwamoto MA, et al. Concurrent detection of other respiratory viruses in children shedding viable human respiratory syncytial virus. *J Med Virol*. 2013;85:1852–1859.
- Harada Y, Kinoshita F, Yoshida LM, et al. Does respiratory virus coinfection increase the clinical severity of acute respiratory infection among children infected with respiratory syncytial virus? *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32:441–445.
- Xiao NG, Zhang B, Xie ZP, et al. Prevalence of human metapneumovirus in children with acute lower respiratory infection in Changsha, China. *J Med Virol*. 2013;85:546–553.
- Yoshida LM, Suzuki M, Nguyen HA, et al. Respiratory syncytial virus: co-infection and paediatric lower respiratory tract infections. *Eur Respir J*. 2013;42:461–469.
- Zhao B, Yu X, Wang C, et al. High human bocavirus viral load is associated with disease severity in children under five years of age. *PLoS One*. 2013;8:e62318.
- Koumi S, Karakitsos P, Chranioti A, et al. Evaluation of viral co-infections in hospitalized and non-hospitalized children with respiratory infections using microarrays. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:772–777.
- Chi H, Chang IS, Tsai FY, et al. Epidemiological study of hospitalization associated with respiratory syncytial virus infection in Taiwanese children between 2004 and 2007. *J Formos Med Assoc*. 2011;110:388–396.
- Gouyon JB, Rozé JC, Guillemet-Fromentin C, et al. Hospitalizations for respiratory syncytial virus bronchiolitis in preterm infants at <33 weeks gestation without bronchopulmonary dysplasia: the CASTOR study. *Epidemiol Infect*. 2013;141:816–826.
- Lanari M, Adorni F, Silvestri M, et al. Italian Study Group on Risk Factors for RSV-related Hospitalization. The multicenter Italian birth cohort study on incidence and determinants of lower respiratory tract infection hospitalization in infants at 33 weeks GA or more: preliminary results. *Early Hum Dev*. 2011;87(suppl 1):S43–S46.
- Park HW, Lee BS, Kim AR, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in infants born at less than thirty-five weeks of gestational age. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31:e99–104.
- Stensballe LG, Fullerton JR, Carbonell-Estrany X, et al. Population based external validation of a European predictive model for respiratory syncytial virus hospitalization of premature infants born 33 to 35 weeks of gestational age. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29:374–376.
- Alonso WJ, Laranjeira BJ, Pereira SA, et al. Comparative dynamics, morbidity and mortality burden of pediatric viral respiratory infections in an equatorial city. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31:e9–14.
- Cantra OA, Owa MA, Machado AA, et al. Occurrence and severity of infections caused by subgroup A and B respiratory syncytial virus in children in southeast Brazil. *J Med Virol*. 2001;65:408–412.
- Lamarão LM, Ramos FL, Mello WA, et al. Prevalence and clinical features of respiratory syncytial virus in children hospitalized for community-acquired pneumonia in northern Brazil. *BMC Infect Dis*. 2012;12:119.
- Salomão Junior JB, Gardinassi LG, Simas PV, et al. Human respiratory syncytial virus in children hospitalized for acute lower respiratory infection. *J Pediatr (Rio J)*. 2011;87:219–224.
- Proença-Medena JL, Pereira Valera FC, Jacob MG, et al. High rates of detection of respiratory viruses in tonsillar tissues from children with chronic adenotonsillar disease. *PLoS One*. 2012;7:e42136.
- Bourgeois FT, Valim C, McAdam AJ, et al. Relative impact of influenza and respiratory syncytial virus in young children. *Pediatrics*. 2009;124:e1072–e1080.
- Chiu SS, Chan KH, Chen H, et al. Virologically confirmed population-based burden of hospitalization caused by respiratory syncytial virus, adenovirus, and parainfluenza viruses in children in Hong Kong. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29:1088–1092.
- Kwelle TB, Anane YA, Nkrumah B, et al. Respiratory viruses in children hospitalized for acute lower respiratory tract infection in Ghana. *Viral J*. 2012;9:78.
- Moore HC, de Klerk N, Keil AD, et al. Use of data linkage to investigate the aetiology of acute lower respiratory infection hospitalisations in children. *J Pediatr Child Health*. 2012;48:520–528.
- Suryadevara M, Cummings E, Bonville CA, et al. Viral etiology of acute febrile respiratory illnesses in hospitalized children younger than 24 months. *Clin Pediatr (Phila)*. 2011;50:513–517.
- Nascimento MS, Souza AV, Ferreira AV, et al. High rate of viral identification and coinfections in infants with acute bronchiolitis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010;65:1133–1137.
- do Carmo Debur M, Raboni SM, Flizkowski FB, et al. Immunohistochemical assessment of respiratory viruses in necropsy samples from lethal non-pandemic seasonal respiratory infections. *J Clin Pathol*. 2010;63:930–934.
- DaPalma T, Doonan BP, Trager NM, et al. A systematic approach to virus-virus interactions. *Virus Res*. 2010;149:1–9.
- Jariti T, Söderlund-Venermo M, Hedman K, et al. New molecular virus detection methods and their clinical value in lower respiratory tract infections in children. *Pediatr Respir Rev*. 2013;14:38–45.
- Freitas GR, Silva DA, Yokosawa J, et al. Antibody response and avidity of respiratory syncytial virus-specific total IgG, IgG1, and IgG3 in young children. *J Med Virol*. 2011;83:1826–1833.
- Hacimustafaoglu M, Celebi S, Aynaci E, et al. The progression of maternal RSV antibodies in the offspring. *Arch Dis Child*. 2004;89:52–53.
- Lelmers N, Schmitzler P, Geis S, et al. Risk factors and containment of respiratory syncytial virus outbreak in a hematology and transplant unit. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48:1548–1553.
- Ochola R, Sande C, Fegan G, et al. The level and duration of RSV-specific maternal IgG in infants in Kilifi Kenya. *PLoS One*. 2009;4:e8088.
- Roca A, Abacassamo F, Loscertales MP, et al. Prevalence of respiratory syncytial virus IgG antibodies in infants living in a rural area of Mozambique. *J Med Virol*. 2002;67:616–623.
- Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD, et al. Risk factors for respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illnesses in the first year of life. *Am J Epidemiol*. 1991;133:1135–1151.

45. Bradley JP, Bacharier LB, Bonfiglio J, et al. Severity of respiratory syncytial virus bronchiolitis is affected by cigarette smoke exposure and atopy. *Pediatrics*. 2005;115:e7–14.
46. Semple MG, Taylor-Robinson DC, Lane S, et al. Household tobacco smoke and admission weight predict severe bronchiolitis in infants independent of deprivation: prospective cohort study. *PLoS One*. 2011;6:e22425.
47. Lysholm F, Westerborn A, Lindau C, et al. Characterization of the viral microbiome in patients with severe lower respiratory tract infections, using metagenomic sequencing. *PLoS One*. 2012;7:e30875.
48. Hu A, Colella M, Tam JS, et al. Simultaneous detection, subgrouping, and quantitation of respiratory syncytial virus A and B by real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2003;41:149–154.
49. van Eiden LJ, Nijhuis M, Schipper P, et al. Simultaneous detection of influenza viruses A and B using real-time quantitative PCR. *J Clin Microbiol*. 2001;39:196–200.
50. World Health Organization. CDC protocol of realtime RTPCR for influenza A(H1N1). 2009. Available at: <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptpcr/en/>. Accessed February 19, 2014.
51. Deffernez C, Wunderli W, Thomas Y, et al. Amplicon sequencing and improved detection of human rhinovirus in respiratory samples. *J Clin Microbiol*. 2004;42:3212–3218.
52. Kuypers J, Wright N, Corey L, et al. Detection and quantification of human metapneumovirus in pediatric specimens by real-time RT-PCR. *J Clin Virol*. 2005;33:299–305.
53. Heim A, Ebnet C, Harste G, et al. Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR. *J Med Virol*. 2003;70:228–239.
54. Neske F, Blessing K, Tollmann F, et al. Real-time PCR for diagnosis of human bocavirus infections and phylogenetic analysis. *J Clin Microbiol*. 2007;45:2116–2122.
55. Kuypers J, Wright N, Ferrenberg J, et al. Comparison of real-time PCR assays with fluorescent-antibody assays for diagnosis of respiratory virus infections in children. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2382–2388.
56. Garbino J, Gerbase MW, Wunderli W, et al. Lower respiratory viral illnesses: improved diagnosis by molecular methods and clinical impact. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:1197–1203.
57. Kuypers J, Martin ET, Heugel J, et al. Clinical disease in children associated with newly described coronavirus subtypes. *Pediatrics*. 2007;119:e70–e76.
58. Nyström K, Biller M, Grahn A, et al. Real time PCR for monitoring regulation of host gene expression in herpes simplex virus type 1-infected human diploid cells. *J Virol Methods*. 2004;118:83–94.