



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA  
MÉDICA

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DAS  
INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS AGUDAS CAUSADAS  
POR VÍRUS PARAINFLUENZA EM CRIANÇAS  
ATENDIDAS EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA  
DA CIDADE DE FORTALEZA – CE**

**MARIANA MOTA MOURA FÉ**

FORTALEZA/CE  
2007

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA  
MÉDICA

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DAS  
INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS AGUDAS CAUSADAS  
POR VÍRUS PARAINFLUENZA EM CRIANÇAS  
ATENDIDAS EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA  
NA CIDADE DE FORTALEZA – CE**

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, do Departamento de Patologia e Medicina Legal, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Fernanda Edna Araújo Moura

**MARIANA MOTA MOURA FÉ**

FORTALEZA/CE  
2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA MÉDICA

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DAS INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS  
AGUDAS CAUSADAS POR VÍRUS PARAINFLUENZA EM CRIANÇAS  
ATENDIDAS EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA NA CIDADE DE  
FORTALEZA – CE**

**MARIANA MOTA MOURA FÉ**

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, do Departamento de Patologia e Medicina Legal, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Data da Defesa: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. Wyller Alencar de Mello  
Instituto Evandro Chagas - Belém - Pará

---

Dr. Luís Carlos Rey  
Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Ceará

---

Dr. Álvaro Jorge Madeiro Leite  
Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Ceará

---

Dr<sup>a</sup>. Fernanda Edna Araújo Moura (Orientadora)  
Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Ceará

A Deus, por iluminar meu caminho;

Ao meu esposo, pelo companheirismo, afeto, apoio e  
compreensão em todos os momentos;

Aos meus pais, pela educação, confiança, exemplo e apoio desde  
sempre;

Aos meus amigos, irmãos, tios e demais parentes, pela amizade,  
torcida e incentivo.

## AGRADECIMENTOS

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Fernanda Edna Araújo Moura, minha orientadora, por toda a colaboração e atenção dispensadas ao longo deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Júlio Costa Sidrim, atual coordenador do Mestrado em Microbiologia Médica, pelo seu empenho para o funcionamento deste mestrado.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cibele Mano Barreto, ex-coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, por sua dedicação ao curso.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Yaci Mendonça de Almeida, chefe do Departamento de Patologia e Medicina Legal, por, sempre que possível, tentar melhorar as condições de funcionamento do curso.

A todos os professores do mestrado, por repassarem seus conhecimentos.

Ao Prof. André Jalles Monteiro, do Departamento de Estatística da UFC, pelo auxílio imprescindível na análise estatística dos dados.

Aos meus colegas de curso, pela companhia, sugestões e incentivo ao longo desses meses; em especial, aos mestrandos Jacó Ricarte Lima de Mesquita e Joyce Fonteles Ribeiro, colegas do Laboratório de Virologia.

A José Olavo Moraes e Terezinha de Jesus dos Santos Rodrigues, técnicos do Setor de Microbiologia, pelo auxílio na execução desse estudo.

A Marta Maria de Vasconcelos, secretária do curso, por sua enorme paciência e dedicação na resolução das etapas burocráticas.

Aos estagiários e estudantes de Medicina e Biologia do Laboratório de Virologia, pelo auxílio direto ou indireto: Natássia Pinheiro de Lavor, Nádia Gurgel Alves, Neiberg de Alcântara Lima, Luana Albuquerque Dias de Carvalho, Mariana Ribeiro Onofre, Alessia Queiroz de Freitas, Emanuele Martins Oliveira, Natanael Pinheiro Leitão Jr., Manoel Dogival C. da Silva, Paulo Renan Lima Teixeira, e aos que contribuíram com o estudo em anos anteriores.

Aos funcionários da Biblioteca de Ciências da Saúde – UFC, pela colaboração na obtenção de artigos científicos.

Ao Dr. João Cândido de Souza Borges, diretor do Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), por permitir a realização desse trabalho.

A todos os pediatras do HIAS, em especial à Dr<sup>ª</sup>. Elizabeth Barros L. M. Carvalho, por possibilitarem a coleta de amostras e dados durante a consulta ou visita aos pacientes.

Aos internos, residentes, enfermeiras e auxiliares de enfermagem do HIAS, pela disposição em colaborar com esse estudo.

A todas as crianças que participaram desse trabalho e aos seus pais e/ou responsáveis, por permitirem a coleta de amostras e informações, contribuindo para o avanço de pesquisas, mesmo diante de tantas dificuldades.

Ao Laboratório de Vírus Respiratórios da FIOCRUZ – Rio de Janeiro, na pessoa da Dr<sup>a</sup>. Marilda M. Siqueira, pelo fornecimento de reagentes.

À Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB), do Ministério da Saúde do Brasil, pelo envio dos kits utilizados nesse estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

"Só sabemos com exatidão quando sabemos pouco; à medida que vamos adquirindo conhecimentos, instala-se a dúvida."

Goethe

## RESUMO

As infecções respiratórias agudas (IRAs) são um importante problema de saúde pública em todo o mundo, e os vírus parainfluenza estão entre os seus agentes mais frequentes. Este estudo teve como objetivos: determinar a frequência de IRAs pelo vírus parainfluenza entre crianças atendidas no Hospital Infantil Albert Sabin, hospital pediátrico de referência da cidade de Fortaleza – CE, de janeiro de 2001 a dezembro de 2006; descrever o padrão de sazonalidade e as características clínico-epidemiológicas destas infecções; e comparar as características clínico-epidemiológicas das infecções por parainfluenza com as das IRAs causadas por outros vírus. Foram coletados aspirados de nasofaringe de crianças com sintomas de IRAs, e foi utilizada a imunofluorescência indireta para a detecção dos vírus: parainfluenza humano 1, 2 e 3 (VPIH-1, 2 e 3), vírus sincicial respiratório (VSR), influenza A e B e adenovírus. Nos seis anos de estudo, foram colhidas amostras de 3070 crianças, a maioria delas previamente saudáveis, com a detecção de vírus respiratórios em 933 (30,39%), e dos vírus parainfluenza em 117 casos (3,81% do total). Dentre os casos de parainfluenza, o VPIH-3 foi o tipo mais frequente (83,76% dos casos), com menor detecção do VPIH-1 (11,96%) e do VPIH-2 (4,27%). A infecção pelo VPIH-3 apresentou comportamento sazonal, com maior detecção nos meses de setembro a novembro. Embora o total de casos de IRAs tenha apresentado relação direta com os índices pluviométricos, o número de casos de VPIH-3 apresentou relação inversa com a pluviometria, sendo maior nos meses secos. A maioria dos pacientes positivos para parainfluenza foi atendida na emergência ou nos ambulatórios. A média de idades das crianças com infecção pelo VPIH-3 foi de 20 meses, sendo significativamente menor que a das crianças infectadas pelo vírus influenza A (34 meses), e maior que a das infectadas pelo VSR (15 meses). Os pacientes positivos para o VPIH-3 apresentaram significativamente menos dispnéia, tosse, estertores, tiragem intercostal e alterações radiológicas que os positivos para VSR. As infecções de vias aéreas superiores constituíram a síndrome clínica mais frequente entre os casos de VPIH-3. Os pacientes positivos para VPIH-3 necessitaram menos de terapia com antibióticos, corticóides, oxigênio, nebulização e/ou salbutamol que os positivos para VSR. Os resultados demonstraram um comportamento sazonal do VPIH-3, relacionado aos meses secos, o que não tinha sido relatado previamente no Nordeste brasileiro, além de apontarem para uma menor gravidade das infecções causadas pelo VPIH-3, na comparação com o VSR, em crianças previamente saudáveis.

Palavras-chave: infecções respiratórias agudas, vírus parainfluenza, epidemiologia

## **ABSTRACT**

Acute respiratory infections (ARI) are an important public health problem throughout the world and parainfluenza viruses are among the major etiologic agents. The objectives of this study were: a) to determine the frequency of parainfluenza infections among children attending Hospital Infantil Albert Sabin, a major pediatric hospital in Fortaleza - CE, from January 2001 to December 2006; b) to describe the seasonal pattern and the clinical and epidemiological characteristics of these infections; and c) to compare clinical and epidemiological characteristics of parainfluenza infections and infections caused by other respiratory viruses. Nasopharyngeal aspirates from children with acute respiratory symptoms were collected and submitted to indirect immunofluorescence assays to detect human parainfluenza virus 1, 2 and 3 (HPIV-1, 2 and 3), respiratory syncytial virus (RSV), influenza A and B and adenovirus. During the six-year study period, samples were collected from 3,070 generally healthy children and respiratory viruses were demonstrated in 933 cases (30.39%), of which 117 were positive for parainfluenza virus (3.81%). HPIV-3 was the most frequently detected type of parainfluenza virus accounting for 83.76% of cases, followed by HPIV-1 (11.96%) and HPIV-2 (4.27%). HPIV-3 infections were seasonal with most cases observed from September to November. Although the total number of ARIs was directly associated with the time of the rainy season, HPIV-3 infections were inversely related with rainfall indices. Most HPIV-3 infections were seen in outpatients. The mean age of patients infected by HPIV-3 was 20 months, which is significantly younger than for influenza A (mean age: 34 months) and significantly older than for RSV (mean age: 15 months). HPIV-3 patients presented significantly lower indices of dyspnea, cough, crackles, chest retractions and radiologic abnormalities than RSV patients. Upper airway infection was the most frequent clinical syndrome among HPIV-3 patients. HPIV-3 patients needed less oxygen, salbutamol, antibiotics, corticosteroids and nebulization than RSV patients. In contrast with earlier observations for Northeastern Brazil, our results demonstrate a seasonal pattern for the occurrence of HPIV-3 infections with most cases observed during the dry season. The results also suggest that infections caused by HPIV-3 are milder than infections caused by RSV in previously healthy children.

Key words: acute respiratory infections, parainfluenza virus, epidemiology

# ÍNDICE

<b>LISTA DE FIGURAS E TABELAS</b>	12
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b>	15
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	17
1.1. As infecções respiratórias agudas	17
1.2. Epidemiologia das IRAs virais	19
1.3. Os vírus parainfluenza	21
1.3.1. Histórico	21
1.3.2. Aspectos estruturais	22
1.3.3. Epidemiologia	26
1.3.3.1. Prevalência	26
1.3.3.2. Sazonalidade	27
1.3.3.3. Sexo	28
1.3.3.4. Idade	28
1.3.3.5. Mortalidade	29
1.3.3.6. Complicações	29
1.3.4. Transmissão	30
1.3.5. Fisiopatologia	30
1.3.6. Resposta imunológica do hospedeiro	31
1.3.7. Manifestações clínicas	32
1.3.8. Métodos de diagnóstico	34
1.3.9. Profilaxia e tratamento	36
1.4. Justificativa do estudo	38
1.5. Pergunta de partida	38
1.6. Hipóteses	38
<b>2. OBJETIVOS DO ESTUDO</b>	39
2.1. Objetivo geral	39
2.2. Objetivos específicos	39
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	40
3.1. Descrição do estudo	40

3.1.1. Local do estudo	40
3.1.2. Questões éticas	40
3.1.3. Tipo de estudo	40
3.1.4. Pacientes	40
3.2. Coleta de dados e material	41
3.2.1. Coleta do material	41
3.2.2. Entrevista e preenchimento da ficha epidemiológica	42
3.3. Processamento do material	42
3.4. Reação de imunofluorescência indireta (IFI)	43
3.5. Análise estatística dos dados	44
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>45</b>
4.1. Caracterização da população estudada	45
4.2. Frequência das IRAs virais, dos vírus parainfluenza e dos demais vírus pesquisados	49
4.3. As co-infecções virais	50
4.4. Características epidemiológicas das IRAs por vírus parainfluenza	51
4.4.1. Distribuição mensal das IRAs por parainfluenza	51
4.4.2. Relação entre as infecções por parainfluenza e os índices pluviométricos	52
4.4.3. Sexo	54
4.4.4. Idade	55
4.4.5. Setor de atendimento dos pacientes	55
4.4.6. Número de pessoas por cômodo	57
4.4.7. Frequência à creche ou à escola	57
4.4.8. Aleitamento materno	57
4.4.9. Presença de IRA em familiares	57
4.4.10. Presença de fumantes no domicílio	58
4.4.11. Presença de co-morbidades	58
4.4.12. Sintomas apresentados	59
4.4.13. Alterações ao exame físico	63
4.4.14. Alterações ao raio-X de tórax	66
4.4.15. Síndromes clínicas	67
4.4.16. Tratamento instituído	70

<b>5. DISCUSSÃO</b>	75
5.1. O impacto das IRAs em geral e das IRAs virais	75
5.2. Frequência de IRAs de etiologia viral e de IRAs por parainfluenza no estudo	75
5.3. Limitações da amostragem	79
5.4. O método utilizado para o diagnóstico	80
5.5. Características epidemiológicas das infecções pelo VPIH-3	81
5.6. Características clínicas e radiológicas das infecções pelo VPIH-3	85
<b>6. CONCLUSÕES</b>	91
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	93
<b>ANEXOS</b>	105
Anexo I	106
Anexo II	107
Artigos para publicação	109

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

<b>FIGURA 1</b> – Representação esquemática do vírus parainfluenza (na figura, denominado PIV), comparando seus componentes aos do vírus sincicial respiratório (na figura, RSV) (Fonte: N. Engl. J. Med., v. 344, n. 25, p. 1918, 2001).	24
<b>FIGURA 2</b> – VPIH-3 à microscopia eletrônica (Fonte: Clin. Microbiol. Rev., v.16, n. 2, p. 244, 2003).	25
<b>FIGURA 3</b> – Demonstração da técnica de coleta do aspirado nasofaríngeo.	42
<b>FIGURA 4</b> – Visualização de amostra positiva para o vírus parainfluenza 3 ao microscópio de imunofluorescência, evidenciando-se as células positivas, apresentando fluorescência citoplasmática, e células negativas, coradas em vermelho.	44
<b>FIGURA 5</b> – Distribuição da população de estudo de acordo com a idade, por sexo.	47
<b>FIGURA 6</b> - Distribuição mensal das infecções por parainfluenza 1, 2 e 3, no período de estudo.	52
<b>FIGURA 7</b> – Distribuição mensal do total de casos de IRAs estudados e dos índices pluviométricos na cidade de Fortaleza, nos seis anos de estudo (2001 a 2006).	53
<b>FIGURA 8</b> – Distribuição mensal dos percentuais de IRAs e de casos de VPIH-3, correlacionados com a média dos índices pluviométricos para cada mês, nos seis anos de estudo (2001 a 2006)	53
<b>TABELA 1</b> – Distribuição da população de estudo quanto ao sexo, idade, setor de atendimento e diagnóstico clínico.	46
<b>TABELA 2</b> – Distribuição da população de estudo quanto à presença de comorbidades.	48
<b>TABELA 3</b> – Distribuição da população de estudo quanto aos sintomas relatados.	49
<b>TABELA 4</b> – Distribuição anual do total de casos de IRAs, casos de IRAs de etiologia viral e casos de IRAs pelos vírus parainfluenza 1, 2 ou 3, no período de estudo.	50
<b>TABELA 5</b> – Distribuição da população de estudo de acordo com o resultado da imunofluorescência.	51
<b>TABELA 6</b> – Correlação de monotonicidade entre os índices pluviométricos da cidade de Fortaleza – CE e o número total de casos investigados e de casos positivos para VPIH-3, nos seis anos de estudo (2001 a 2006).	54

<b>TABELA 7</b> – Comparação das amostras positivas para VPIH-3 com as negativas e as positivas para os demais vírus em relação à média de idade dos pacientes (em meses), na população do estudo.	55
<b>TABELA 8</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao setor de atendimento dos pacientes, na população do estudo.	56
<b>TABELA 9</b> – Frequência dos sintomas apresentados pelos pacientes positivos para os vírus: VPIH-1, VPIH-2 e VPIH-3 na população do estudo (não considerando as co-infecções).	59
<b>TABELA 10</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença de tosse, na população do estudo.	60
<b>TABELA 11</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença de dispnéia, na população do estudo.	61
<b>TABELA 12</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença de tiragem intercostal, na população do estudo.	64
<b>TABELA 13</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à ausculta pulmonar, na população do estudo.	65
<b>TABELA 14</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao raio-X de tórax, na população do estudo.	66
<b>TABELA 15</b> – Distribuição dos casos positivos para parainfluenza 1, 2 ou 3 (não considerando as co-infecções), de acordo com o diagnóstico clínico, na população do estudo.	67
<b>TABELA 16</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença do diagnóstico de IVAS, na população do estudo.	68
<b>TABELA 17</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença do diagnóstico de pneumonia, na população do estudo.	69
<b>TABELA 18</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença do diagnóstico de bronquiolite viral aguda (BVA), na população do estudo.	70

<b>TABELA 19</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao tratamento utilizando antibiótico, na população do estudo.	71
<b>TABELA 20</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao tratamento utilizando oxigenioterapia, na população do estudo.	72
<b>TABELA 21</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao tratamento utilizando corticóide, na população do estudo.	73
<b>TABELA 22</b> – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao tratamento utilizando aerossol e/ou salbutamol, na população do estudo.	74
<b>QUADRO 1</b> – Comparação entre os índices de IRAs virais e de IRAs por parainfluenza entre diversos estudos, destacando o(s) método(s) de diagnóstico.	77

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C – graus Celsius

μL - microlitro

ARI(s) – *acute respiratory infection(s)*

BVA – bronquiolite viral aguda

DATASUS – Departamento de Informação e Informática do Sistema Único de Saúde

DNA – ácido desoxirribonucléico

ELISA – *enzyme linked immunosorbent assay*

F1 – subunidade 1 da glicoproteína de fusão

F2 – subunidade 2 da glicoproteína de fusão

F<sub>0</sub> – precursor inativo da glicoproteína de fusão

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

FUNCEME – Fundação Cearense de Meteorologia

HIAS – Hospital Infantil Albert Sabin

HN – hemaglutinina-neuraminidase

HPIV – *human parainfluenza virus*

HPIV-1 - *human parainfluenza virus 1*

HPIV-2 - *human parainfluenza virus 2*

HPIV-3 - *human parainfluenza virus 3*

IF – imunofluorescência

IFD – imunofluorescência direta

IFI – imunofluorescência indireta

IgA – imunoglobulina A

IgG – imunoglobulina G

IgM – imunoglobulina M

IH – inibição da hemaglutinação

IRA(s) – infecção(ões) respiratória(s) aguda(s)

IVAI – infecção das vias aéreas inferiores

IVAS – infecção das vias aéreas superiores

km<sup>2</sup> – quilômetros quadrados

LLC-MK2 – linhagem secundária de células de rim de macaco

MEM-E – Meio Essencial Mínimo com sais de Earle

mL - mililitros

nm – nanômetros

NP - nucleoproteína

OPAS – Organização Pan-Americana de Saúde

pb – pares de bases

PBS – tampão salina fosfato

PCR – reação em cadeia de polimerase

pH – concentração hidrogeniônica

PMK – linhagem primária de células de rim de macaco

Proteína P - fosfoproteína

RNA – ácido ribonucléico

RNAm – RNA mensageiro

rpm – rotações por minuto

RSV – *respiratory syncytial virus*

RT-PCR – reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa

SARS-coronavírus – coronavírus causador da síndrome respiratória aguda grave

SM – salário(s) mínimo(s)

UTI – unidade de terapia intensiva

VPIH – vírus parainfluenza humano

VPIH-1 – vírus parainfluenza humano 1

VPIH-2 – vírus parainfluenza humano 2

VPIH-3 – vírus parainfluenza humano 3

VPIH-4 – vírus parainfluenza humano 4

VSR – vírus sincicial respiratório

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. As infecções respiratórias agudas

As infecções respiratórias agudas (IRAs) já foram apontadas como as doenças humanas agudas mais comuns, independentemente de sexo ou idade (TREANOR, 1997; MONTO, 2002). Em todo o mundo, a elevada incidência dessas infecções é responsável por importantes conseqüências sociais, como o aumento da necessidade de atendimento médico e a conseqüente sobrecarga dos serviços de saúde, bem como os elevados índices de absenteísmo escolar e absenteísmo no trabalho (LOBOGUERRERO, 1999; MONTO, 2002; SIAS, 2005). Um levantamento americano de 1992 verificou uma incidência anual de IRAs de 85,6 episódios para cada 100 pessoas, sendo que cerca de 44% destas infecções demandaram consulta médica, resultando em uma média de 182 dias de aula e 94,4 dias de trabalho perdidos, anualmente, para cada 100 pessoas (TREANOR, 1997). Além disso, as IRAs ocasionam, todos os anos, um grande número de complicações graves, internações em enfermarias ou unidades de terapia intensiva e óbitos (DENNY JR., 1995; BENGUIGUI, 1999; STRALIOTTO *et al*, 2004; KLIG *et al*, 2005).

As maiores incidências e complicações das IRAs são observadas nas crianças. Estima-se que as IRAs sejam responsáveis por 30 a 60% das consultas pediátricas, e por 20 a 40% das hospitalizações infantis, em todo o mundo (BENGUIGUI, 1999).

O maior impacto das IRAs é observado na população pediátrica dos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento. Embora as taxas de morbidade por IRAs em crianças sejam semelhantes em países desenvolvidos e em desenvolvimento, observam-se taxas de mortalidade muito mais elevadas nos países mais pobres, especialmente em crianças menores de 24 meses (BENGUIGUI, 1999; WILLIAMS *et al*, 2002; CASHAT-CRUZ *et al*, 2005). Estima-se que, durante o ano 2000, 1,9 milhão de crianças tenham falecido por IRAs no mundo, sendo que 70% desses óbitos teriam ocorrido na África e no sudeste da Ásia (WILLIAMS *et al*, 2002). A Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) estimou, para a década de 90, nas Américas, um número aproximado de 100.000 mortes anuais atribuíveis às infecções respiratórias em crianças menores de um ano, sendo as pneumonias responsáveis por cerca de 85% destas mortes. Devido às desigualdades sócio-econômicas entre os países americanos, estima-se que cerca de 99% destes óbitos tenham ocorrido na América do Sul, América Central e Caribe, ressaltando-se que as taxas de mortalidade por pneumonia em menores de um ano, nos Estados Unidos e no Canadá, são até 20 vezes mais baixas que as de países mais pobres, como o Peru e o México. Foram estimados ainda cerca de 40.000 óbitos anuais adicionais no continente, em crianças entre um e cinco anos de idade, totalizando uma

média de quase 400 mortes por dia, em menores de cinco anos (BENIGUI, 1999; CASHAT-CRUZ *et al*, 2005).

Nos países pobres, os principais fatores de risco para incidências mais elevadas de IRAs e para IRAs de maior gravidade descritos na literatura são: pobreza, famílias numerosas, moradia em condições de aglomeração, baixa escolaridade dos pais, baixo peso ao nascer, desnutrição, deficiência de vitamina A, ausência de aleitamento materno, baixa idade e poluição atmosférica (BERMAN, 1991; VICTORA, 1999; CASHAT-CRUZ *et al*, 2005).

As IRAs são classificadas, conforme o sítio anatômico comprometido, em infecções de vias aéreas superiores (IVAS) e infecções de vias aéreas inferiores (IVAI), divididas anatomicamente, conforme a região comprometida, pela epiglote (DENNY JR., 1995). As IVAS incluem os tipos mais prevalentes de IRAs, e compreendem: rinites, rinofaringites, sinusites, faringoamigdalites, otites, laringites e epiglottites agudas. As infecções de vias aéreas inferiores (IVAI) incluem as bronquites, pneumonias (com ou sem derrame pleural), laringotraqueobronquites, broncopneumonias e bronquiolites agudas, e apresentam um potencial maior de gravidade. Diversos agentes infecciosos, incluindo vírus e bactérias, podem causar infecções de vias aéreas superiores ou inferiores, não sendo possível, geralmente, determinar o agente etiológico apenas com base em dados clínicos (TREATOR, 1997; MIYAO *et al*, 1999; WEISSENBACHER; ÁVILA, 1999; PITREZ; PITREZ, 2003; KLIG *et al*, 2005; SIAS, 2005; BOURGEOIS *et al*, 2006).

Todas as classes de microorganismos são capazes de infectar o trato respiratório, sendo os vírus e as bactérias as causas comuns de infecção respiratória (DENNY JR., 1995). Várias revisões destacam os vírus como os agentes mais frequentes de IRAs em todo o mundo (DENNY JR., 1995; TREATOR, 1997; LOBOGUERRERO, 1999; WEISSENBACHER; ÁVILA, 1999; MONTO, 2002). Embora a maioria dessas infecções seja auto-limitada e se resolva sem complicações importantes, um número considerável delas pode evoluir com gravidade, gerando a necessidade de internação das pessoas infectadas, inclusive em unidades de terapia intensiva. Estudos realizados em diversos países, inclusive o Brasil, demonstraram frequências variáveis de diversos vírus (vírus sincicial respiratório, adenovírus, parainfluenza, influenza e enterovírus) entre crianças previamente saudáveis hospitalizadas por IRAs (NASCIMENTO *et al*, 1991; MIYAO *et al*, 1999; KIM *et al*, 2000; PORTILLO; CRUZ, 2000; CARBALLAL *et al*, 2001; TSAI *et al*, 2001; VIRKKI *et al*, 2002; STRALIOTTO *et al*, 2002; SHETTY *et al*, 2003; TSOLIA *et al*, 2004; SINANIOTIS, 2004; D'ELIA *et al*, 2005). Um estudo realizado em Porto Alegre (RS) mostrou uma incidência de 38,7% de IRAs virais em crianças com bronquiolite ou pneumonia que necessitaram de

internação em unidade de terapia intensiva (STRALIOTTO *et al*, 2004). Já em um estudo francês, foram identificados vírus respiratórios em 29,8% dos pacientes adultos admitidos numa unidade de terapia intensiva por pneumonia (LEGOFF *et al*, 2005).

Algumas populações estão mais propensas a desenvolverem IRAs virais mais graves, com comprometimento das vias aéreas inferiores e maior morbidade e mortalidade. Alguns estudos citam como populações de risco para IRAs virais complicadas, com maior necessidade de atendimento hospitalar e suporte ventilatório, além de maior tendência de evolução para o óbito ou complicações, os pacientes imunossuprimidos (ZAMBON *et al*, 1998; ELIZAGA *et al*, 2001; LUJÁN-ZILBERMANN *et al*, 2001; CORTEZ *et al*, 2001; GARBINO *et al*, 2004; BARTON; BLUMBERG, 2005) e os portadores de doenças crônicas, como cardiopatias ou pneumopatias, destacando-se a doença pulmonar obstrutiva crônica (GLEZEN, 2000; GREENBERG, 2002). Nestes pacientes, infecções mais graves podem ser adquiridas na comunidade, nos períodos de maiores incidências de IRAs virais, ou podem decorrer de transmissão nosocomial (ZAMBON *et al*, 1998; CORTEZ *et al*, 2001; AITKEN; JEFFRIES, 2001). De modo semelhante, os pacientes idosos e os neonatos também são considerados de maior risco para infecções mais graves por IRAs (GREENBERG, 2002; DINIZ *et al*, 2005).

As IRAs virais também têm importante papel nos quadros de hiperreatividade brônquica e broncoespasmo. É bem conhecido o papel destas infecções no desencadeamento de exacerbações de asma e crises de broncoespasmo em crianças predispostas, aumentando a necessidade de atenção médica e de uso de medicamentos, além do número de hospitalizações (CAMARA *et al*, 2004; HEYMAN *et al*, 2004; MARTIN, 2006). Além disso, estudos mais recentes vêm tentando estabelecer o papel dos vírus respiratórios na patogênese da asma, uma vez que crianças que tiveram quadros de bronquiolite nos primeiros meses de vida têm maior risco de desenvolver episódios recorrentes de broncoespasmo ao longo da infância (GERN *et al*, 2005; LEMANSKE, 2004; JARTTI *et al*, 2005; MARTIN, 2006).

Uma outra associação já bastante estudada é a das infecções virais com as infecções bacterianas secundárias, responsável pelo aumento da incidência de complicações bacterianas graves ou potencialmente graves, como pneumonias e sepse, durante os surtos de IRAs virais (BEADLING; SLIFKA, 2004).

## **1.2. Epidemiologia das IRAs virais**

Diversos estudos em todo o mundo têm destacado a importância dos vírus nas IRAs. A incidência de amostras positivas para pelo menos um agente viral em crianças com

sintomas respiratórios agudos varia entre as diversas populações estudadas e de acordo com os agentes pesquisados e métodos de diagnóstico utilizados, desde 25 a 35% (KIM *et al*, 2000; TSAI *et al*, 2001; CARBALLAL *et al*, 2001; STRALIOTTO *et al*, 2002; SHETTY *et al*, 2003; MOURA *et al*, 2003; LIN *et al*, 2004), até cerca de 60 a 80% dos casos (CRUZ *et al*, 1987; MONTO, 2002; TSOLIA *et al*, 2004; LEGG *et al*, 2005; CABELLO *et al*, 2006; KUYPERS *et al*, 2006; KUSEL *et al*, 2006). No Brasil, a frequência de vírus identificados em crianças com sintomas respiratórios, em diversos estudos, tem variado entre 23,8 e 56,4% (ARRUDA *et al*, 1991; NASCIMENTO *et al*, 1991; MIYAO *et al*, 1999; STRALIOTTO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; RODRIGUES *et al*, 2004; TSUCHIYA *et al*, 2005; COSTA *et al*, 2006). Os vírus respiratórios mais freqüentemente encontrados são semelhantes nas diversas regiões do mundo onde investigações já foram realizadas para sua detecção (DENNY JR., 1995). Nas IRAs adquiridas na comunidade, em crianças, os agentes virais que vêm sendo mais freqüentemente identificados, em estudos em países desenvolvidos e em desenvolvimento, inclusive no Brasil, são: rinovírus, vírus sincicial respiratório (VSR), influenza, parainfluenza, adenovírus, enterovírus, metapneumovírus e coronavírus (CRUZ *et al*, 1987; HAZLETT *et al*, 1988; ; RUUTU *et al*, 1990; ARRUDA *et al*, 1991; IRMEN *et al*, 2000; KIM *et al*, 2000; CARBALLAL *et al*, 2001; TSAI *et al*, 2001; MONTO *et al*, 2002; STRALIOTTO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; SHETTY *et al*, 2003; RODRIGUES *et al*, 2004; WILLIAMS *et al*, 2006; ORDÁS *et al*, 2006; KUSEL *et al*, 2006).

Dentre as populações estudadas, as incidências dos diferentes vírus variam nas diversas faixas etárias, entre pacientes com diferentes quadros clínicos e níveis de gravidade, bem como entre populações de várias regiões. Com relação à apresentação clínica das IRAs virais, os diversos agentes já citados podem causar sintomas variados, podendo comprometer tanto as vias aéreas superiores quanto as inferiores, com superposição das síndromes clínicas causadas por diferentes vírus (TREANOR, 1997).

Vários estudos têm demonstrado diferenças na sazonalidade dos vírus identificados, entre as regiões de clima tropical e as de clima temperado. Nas regiões de clima temperado, a incidência global de IRAs virais aumenta nos meses mais frios, ou seja, no inverno (KIM *et al*, 2000; PORTILLO; CRUZ, 2000; CARBALLAL *et al*, 2001; MACEDO *et al*, 2002; LEGG *et al*, 2005; TSUCHIYA *et al*, 2005; KUSEL *et al*, 2006). Já nas regiões de climas tropicais, a relação com a temperatura se torna menos evidente, havendo maiores incidências de IRAs virais nos meses mais chuvosos (ARRUDA *et al*, 1991; CHEW *et al*, 1998; MOURA *et al*, 2003; SIAS, 2005; MOURA *et al*, 2006).

A escassez de informações sobre as IRAs virais nos países em desenvolvimento tem colaborado para as elevadas taxas de morbidade e mortalidade infantis a elas atribuídas,

bem como tem dificultado a adoção de programas objetivando o controle e a redução destas infecções. Além disso, a disponibilidade restrita de métodos para o diagnóstico da etiologia viral de IRAs favorece o uso inadequado de drogas antibacterianas nessas patologias e impede o uso adequado das drogas antivirais disponíveis, que são eficazes contra agentes específicos, destacando-se as medicações usadas na terapêutica contra os vírus influenza (WEISSENBACHER; ÁVILA, 1999; SIAS, 2005).

Apesar dos avanços, dificuldades financeiras e técnicas para o desenvolvimento de pesquisas sobre o assunto, bem como a interpretação errônea de que os vírus seriam agentes de menor importância na etiologia de IRAs graves, dificultam a obtenção de números que mostrem o verdadeiro impacto das IRAs virais sobre a população brasileira. No Brasil, as informações sobre o papel dos vírus nas IRAs têm sido obtidas principalmente através de pesquisas realizadas em alguns centros das regiões Sudeste, Sul, Norte e Nordeste (ARRUDA *et al*, 1991; NASCIMENTO *et al*, 1991; SUTMÖLLER *et al*, 1995; MIYAO *et al*, 1999; STRALIOTTO *et al*, 2002; MACEDO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; TSUCHIYA *et al*, 2005; COSTA *et al*, 2006). Com relação ao Nordeste brasileiro, é crescente o número de estudos publicados sobre IRAs virais. Alagoas, Bahia e Ceará são estados nordestinos onde estes estudos já foram realizados (ARRUDA *et al*, 1991; CRUZ *et al*, 1999; MOURA *et al*, 2003; OLIVEIRA *et al*, 2004; MARTINS, 2005; MOURA *et al*, 2006). Os dados disponíveis sobre infecções virais em Fortaleza são relativos a um estudo realizado na década de 80, em crianças de uma comunidade acompanhadas em domicílio durante 29 meses (ARRUDA *et al*, 1991), e, mais recentemente, a estudos referindo-se a infecções pelo VSR (MOURA *et al*, 2006) e pelos vírus influenza (MARTINS, 2005; FAÇANHA, 2005).

### **1.3. Os vírus parainfluenza**

#### **1.3.1. Histórico**

Os vírus parainfluenza foram descritos no século XX, na década de 50, em amostras obtidas de crianças com IVAI, quando se demonstrou que, embora apresentassem características semelhantes, tinham diferenças antigênicas em relação aos vírus influenza. Foram inicialmente classificados como dois novos grupos de *Myxovirus* (ANDREWES *et al*, 1955). Suas características sorológicas, propriedades e principais diferenças antigênicas em relação aos vírus influenza A, B, C, VSR e adenovírus foram descritas em 1958, por Chanock e colaboradores, a partir de amostras isoladas em 1957, obtidas de crianças com IRAs (CHANOCK *et al*, 1958). Nessa época, os vírus foram divididos em dois grupos antigenicamente distintos, que apresentavam crescimento pobre em ovos embrionados

(CHANOCK *et al*, 1958). Em 1959, foi isolado um novo vírus que se assemelhava aos já descritos, e o grupo foi classificado então como “parainfluenza” (HENRICKSON, 2003).

Atualmente, os vírus parainfluenza humanos (VPIH) são divididos genética e antigenicamente em tipos: 1, 2, 3 e 4 (VPIH-1, VPIH-2, VPIH-3 e VPIH-4). O tipo 4 foi posteriormente dividido em 2 subtipos (4A e 4B), a partir de diferenças antigênicas evidenciadas através da inibição da hemadsorção com soro de cobaias imunizadas com cepas padrão do VPIH-4 (CANCHOLA *et al*, 1964).

Foram identificadas também outras espécies antigenicamente relacionadas aos vírus parainfluenza humanos, mas que são adaptadas para infectar outros animais, como: os vírus parainfluenza canino e bovino; os vírus símios 5 e 41, que infectam primatas, e se assemelham antigenicamente ao VPIH-2; o vírus Sendai, com semelhanças antigênicas e genéticas com o VPIH-1, e que afeta ratos, hamsters e porcos; além do vírus da doença de Newcastle, que infecta galinhas, pingüins e outras aves (HENRICKSON, 2003).

### **1.3.2. Aspectos estruturais.**

Taxonomicamente, os vírus parainfluenza pertencem à família *Paramyxoviridae* e ao gênero *Paramyxovirus*. Os vírions são pleomórficos, com diâmetro variando entre 150 e 300 nanômetros (nm), com formato variando de aproximadamente esférico a filamentoso. Apresentam envelope composto por bi-camada lipídica e glicoproteínas de superfície, e nucleocapsídeo helicoidal, com diâmetro de cerca de 18 nm. O nucleocapsídeo é formado pelo genoma, composto por uma fita simples de ácido ribonucléico (RNA) com polaridade negativa, com  $15,4 \times 10^3$  nucleotídeos; pela nucleoproteína (NP), ligada firmemente à molécula de RNA; e por duas outras proteínas: a fosfoproteína (proteína P), e a proteína “Large” (L), que se apresenta de forma descontínua no vírus. A nucleoproteína (NP) é a proteína mais abundante do vírion, e, juntamente com as proteínas P e L, é tida como responsável pela atividade de RNA-polimerase RNA-dependente (VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994; PIEDRA *et al*, 1997).

O envelope viral contém duas glicoproteínas específicas do vírus: a glicoproteína de fusão (F) e a hemaglutinina-neuraminidase (HN). A proteína F é sintetizada na forma de um precursor inativo ( $F_0$ ), que é clivado por proteases celulares para gerar sua forma ativa, com duas subunidades ( $F_1$  e  $F_2$ ). A presença de uma protease na célula, capaz de clivar a proteína  $F_0$ , é importante na determinação do tropismo celular e da virulência do agente. A proteína F está envolvida na hemólise, fusão celular e penetração do vírus na célula. Esta proteína é antigênica e induz a síntese de anticorpos neutralizantes (HENRICKSON, 2003). A glicoproteína HN é a molécula que se liga aos receptores das células suscetíveis (moléculas

contendo ácido siálico), mediando a adsorção do vírus. Esta glicoproteína apresenta atividade de hemaglutinina e de neuraminidase (WRIGHT, 2005). A proteína da matriz (M), altamente hidrofóbica, liga o envelope ao nucleocapsídeo. A dupla camada lipídica que compõe o envelope apresenta estrutura idêntica à membrana celular do hospedeiro. Os vírions apresentam ainda actina celular como componente estrutural, mas sua função na biologia viral ainda não foi bem definida (VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994).

O genoma viral é formado por uma fita de RNA linear, não segmentada, com polaridade negativa, com  $15,4 \times 10^3$  nucleotídeos formando seis ou sete genes, que codificam oito ou nove proteínas, sendo seis proteínas estruturais e duas ou mais proteínas não estruturais. Algumas das proteínas codificadas não são detectadas no vírion, mas participam de sua replicação na célula. A organização do genoma viral segue a ordem: 3'-NP-P/C/V-M-F-(SH)-HN-L-5', e a presença ou ausência do gene SH entre os genes das glicoproteínas F e HN determina a divisão dos vírus parainfluenza em dois grupos. O primeiro grupo, que não apresenta o gene SH, inclui o vírus parainfluenza humano 3 (VPIH-3), o vírus Sendai e o vírus da doença de Newcastle; e o segundo grupo, que apresenta o gene SH, inclui os vírus parainfluenza de animais, o vírus parainfluenza símio 5 e o vírus do sarampo, que também pertence à família *Paramyxoviridae*. O gene SH codifica uma pequena proteína de membrana, altamente hidrofóbica, que só é encontrada nas células infectadas, e cuja função não está bem definida (VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994). A nucleoproteína (NP) é importante para a estabilidade do material genético viral, já que está intimamente ligada ao RNA viral. As proteínas P e L, por sua vez, são componentes essenciais para a atividade RNA-polimerase RNA-dependente na replicação viral (VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994; PIEDRA *et al*, 1997).

A subdivisão entre os vírus parainfluenza humanos é determinada pela estratégia de leitura dos vírus para o gene P. Este gene é uma região multicistrônica que apresenta cistrons contínuos, descontínuos e sobrepostos. Os VPIH-1 e 3 codificam proteínas P com 500 a 600 aminoácidos, a partir de cistrons P contínuos, com a síntese de uma proteína não estrutural, a proteína C, de cerca de 204 aminoácidos, a partir do segundo códon de iniciação do gene P. Desta forma, a proteína P do VPIH-1 e do VPIH-3 tem peso molecular entre 83.000 e 90.000 daltons. Já os VPIH-2, 4A e 4B produzem mais de um RNA mensageiro (RNAm) a partir do gene P, através da inserção de dois resíduos em um sítio específico da molécula de RNAm. Desta forma, é sintetizada a proteína V (não estrutural), e a proteína P do VPIH-2 e do VPIH-4 apresenta peso molecular menor, entre 49.000 e 53.000 daltons. Estas diferenças levaram à classificação dos vírus parainfluenza em dois gêneros: *Respirovirus* (VPIH-1 e VPIH-3) e *Rubulavirus* (VPIH-2, VPIH-4A e 4B) (VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994; HENRICKSON, 2003).

A estrutura dos vírus parainfluenza está representada esquematicamente na Figura 1. A Figura 2 mostra a imagem do VPIH-3 à microscopia eletrônica.

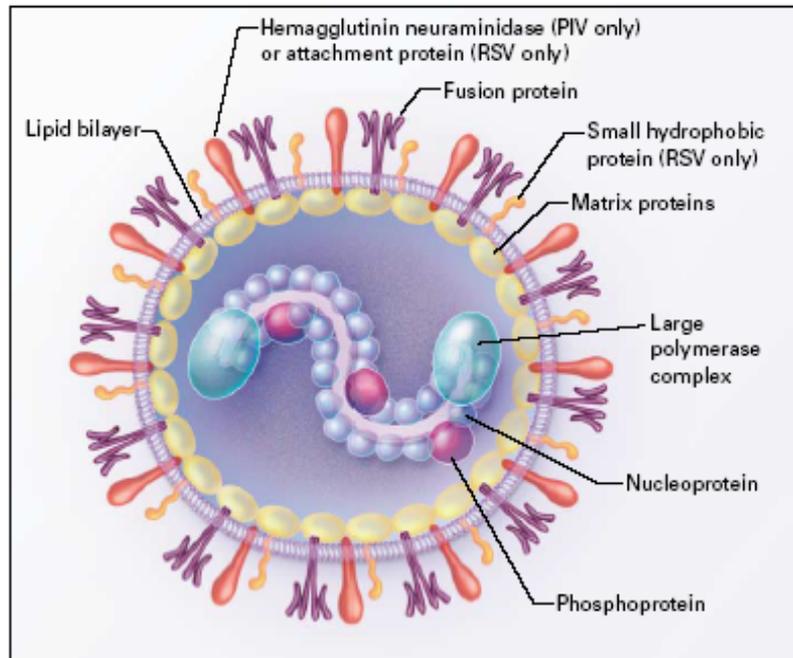


FIGURA 1 – Representação esquemática do vírus parainfluenza (na figura, denominado PIV), comparando seus componentes aos do vírus sincicial respiratório (na figura, RSV) (Fonte: N. Engl. J. Med., v. 344, n. 25, p. 1918, 2001).

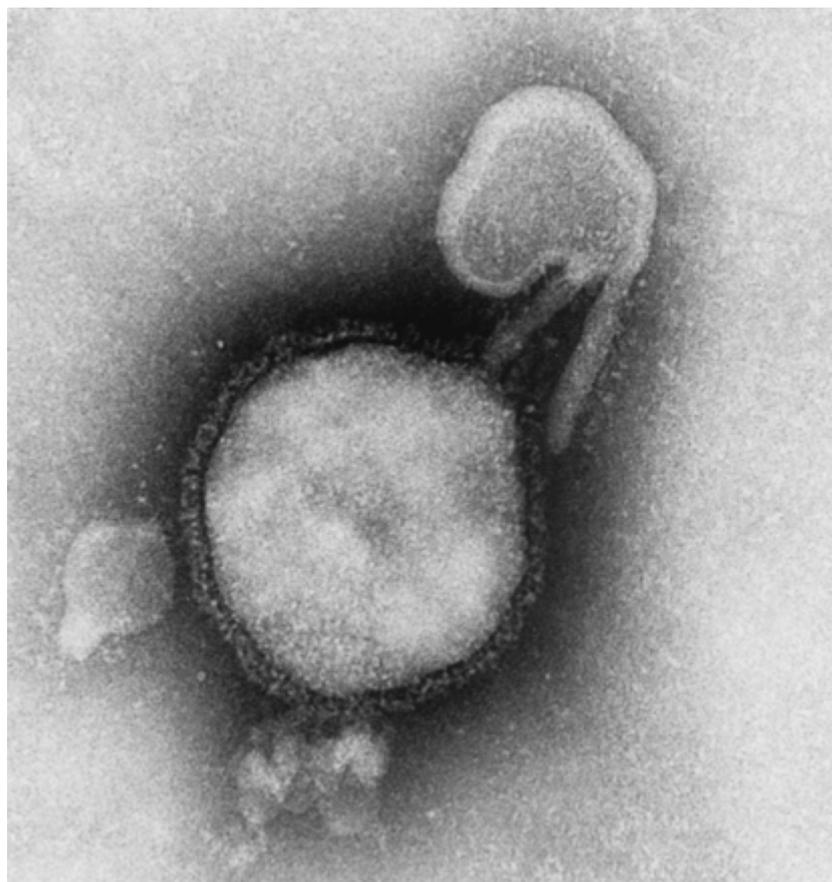


FIGURA 2 – VPIH-3 à microscopia eletrônica (Fonte: Clin. Microbiol. Rev., v. 16, n. 2, p. 244, 2003)

A replicação do vírus parainfluenza ocorre no citoplasma. Como o RNA viral tem polaridade negativa, é necessário que haja a síntese de uma fita positiva, que terá função de RNAm, para a síntese das proteínas virais. Novas fitas negativas são, então, sintetizadas a partir do RNAm, para a formação dos novos vírions. Os vírions são liberados por exocitose (VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994; PIEDRA *et al*, 1997).

Os vírus parainfluenza são pouco resistentes ao calor, com a viabilidade viral bastante reduzida em temperaturas acima de 37°C, e com a inativação da quase totalidade dos vírus após 15 minutos a 50°C. Os vírus permanecem relativamente estáveis a 4°C, ou quando mantidos a -70°C; embora haja destruição de até 90% dos vírus, os restantes geralmente permitem a recuperação viral em amostras congeladas estocadas (HENRICKSON, 2003). Os vírus também são inativados por pHs ácidos (3,0 a 3,4) e pelo ressecamento. Por serem envelopados, são inativados pelo éter (HENRICKSON, 2003).

### 1.3.3. Epidemiologia.

#### 1.3.3.1. Prevalência.

Os vírus parainfluenza são uma causa bastante comum de IRAs em todo o mundo, atingindo pessoas de ambos os sexos, pertencentes a todas as idades e regiões, e de diversas classes sociais (HENRICKSON, 2003). Embora o rinovírus e o VSR sejam os vírus mais freqüentemente identificados em pacientes com IRAs na grande maioria dos levantamentos realizados, os vírus parainfluenza humanos 1, 2 e 3 (VPIH-1, 2 e 3) ocupam, em estudos em outros países subdesenvolvidos e desenvolvidos, posição de destaque como agentes de IRAs, com freqüências variando entre 0,7 e 13% das amostras (IRMEN; KELLEHER, 2000; KIM *et al*, 2000; PORTILLO; CRUZ, 2000; CARBALLAL *et al*, 2001; TSAI *et al*, 2001; LEGG *et al*, 2005; KUSEL *et al*, 2006). No Brasil, vários estudos revelam freqüências de identificação de parainfluenza entre 0,0 e 6,3% de todos os casos de IRA, e entre 0,0 e 16,2% das amostras positivas para algum vírus (ARRUDA *et al*, 1991; NASCIMENTO *et al*, 1991; MIYAO *et al*, 1999; STRALIOTTO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; RODRIGUES *et al*, 2004; TSUCHIYA *et al*, 2005; COSTA *et al*, 2006).

Dentre os três tipos mais comuns de parainfluenza humanos, VPIH-1, 2 e 3, o VPIH-3 é o mais freqüentemente identificado na maioria dos levantamentos, especialmente em crianças mais novas (MONTA, 1973; CARBALLAL *et al*, 2001; TSAI *et al*, 2001; STRALIOTTO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; FRY *et al*, 2006), embora o VPIH-2 tenha predominado em um estudo em Fortaleza (ARRUDA *et al*, 1991). O VPIH-3 também é o mais freqüentemente relacionado a infecções nosocomiais, especialmente em imunossuprimidos, destacando-se os surtos em unidades de pacientes transplantados (ZAMBON *et al*, 1998; CORTEZ *et al*, 2001; ELIZAGA *et al*, 2001; LUJÁN-ZILBERMANN *et al*, 2001; GARBINO *et al*, 2004; TSUCHIYA *et al*, 2005; BARTON; BLUMBERG, 2005).

Os vírus parainfluenza 4 (VPIH-4), por sua vez, são menos freqüentemente identificados e menos estudados. Já foram detectados em estudos isolados, em crianças e adultos (LAU *et al*, 2005; CHIU *et al*, 2006; VACHON *et al*, 2006). Estudos de soroprevalência demonstraram que a maioria das crianças entre seis e dez anos apresenta anticorpos contra o VPIH-4, embora o mesmo seja raramente isolado em crianças, o que sugeria infecções oligossintomáticas ou assintomáticas (HENRICKSON, 2003). Estudos mais recentes, utilizando a reação em cadeia de polimerase (PCR) como método de diagnóstico, têm identificado o VPIH-4 em proporções mais elevadas de pacientes com IRAs, indicando que provavelmente a incidência do VPIH-4 venha sendo subestimada na maioria dos levantamentos, pela falta de métodos mais sensíveis de diagnóstico (AGUILAR *et al*, 2000;

GARCÍA *et al*, 2002; TEMPLETON *et al*, 2004). Além disso, têm sido descritos casos de infecções graves pelo VPIH-4, com comprometimento das vias aéreas inferiores, levando à necessidade de internação e, em alguns casos, de ventilação mecânica (LINDQUIST *et al*, 1997; GARCÍA *et al*, 2002; LAU *et al*, 2005; VACHON *et al*, 2006; CHIU *et al*, 2006).

### 1.3.3.2. Sazonalidade

Os tipos do vírus parainfluenza apresentam comportamento sazonal variável entre as diversas regiões e ao longo das décadas em que foram estudados. Em algumas regiões, as infecções por VPIH-1, 2 e 3 não apresentaram comportamento sazonal definido, observando-se baixas taxas de infecção ao longo do ano, como em Taiwan e no Quênia (TSAI *et al*, 2001; SHEK; LEE, 2003). Já em um estudo na Argentina, as taxas de infecção por VPIH (sem separação entre os tipos) foram maiores nos meses mais frios, mas esta relação não foi estatisticamente significativa (CARBALLAL *et al*, 2001).

Os estudos realizados nos anos subsequentes às primeiras descrições dos vírus parainfluenza, no final da década de 50 e início da década de 60, mostravam comportamento endêmico do VPIH-1, 2 e 3. Em 1962, foi descrita, nos Estados Unidos, uma epidemia provocada pelo VPIH-1; entre 1962 e 1970, foram descritas, naquele país, epidemias causadas pelo VPIH-1 e pelo VPIH-2, no outono dos anos pares. Posteriormente, a partir de 1973, foram descritas epidemias bianuais de infecções pelo VPIH-1 (e, em menor número, pelo VPIH-2) nos Estados Unidos, no outono dos anos ímpares (GLEZEN *et al*, 1984; KNOTT *et al*, 1994). Em estudos americanos mais recentes, continua sendo demonstrado este comportamento sazonal característico para o VPIH-1, com epidemias no outono dos anos ímpares (MARX *et al*, 1997; IRMEN; KELLEHER, 2000; MONTO, 2004; FRY *et al*, 2006). Uma investigação em Cingapura, região de clima tropical, mostrou maiores freqüências de VPIH-1 no quarto trimestre dos anos ímpares (1991 e 1993), com associação entre o número de infecções por VPIH-1, baixas temperaturas e alta umidade (CHEW *et al*, 1998).

Já o VPIH-2, com freqüência menor que o VPIH-1 ou o VPIH-3, vem sendo detectado principalmente nos anos pares (IRMEN; KELLEHER, 2000; MONTO, 2004; FRY *et al*, 2006), ou de forma esporádica (KNOTT *et al*, 1994). Em um estudo previamente realizado em Fortaleza (CE), o VPIH-2 teve seu pico de incidência relacionado à estação chuvosa, entre fevereiro e junho de um dos dois anos avaliados (ARRUDA *et al*, 1991).

O VPIH-3, tipo mais freqüente, embora possa ser identificado ao longo de todo o ano, tem apresentado suas maiores incidências, nos estudos americanos, em alguns períodos: na primavera, podendo estender-se até o outono (KNOTT *et al*, 1994; REED *et al*, 1997; MONTO, 2004; FRY *et al*, 2006; WEINBERG, 2006), ou no final do inverno e início da

primavera (GLEZEN, 1984; IRMEN; KELLEHER, 2000). Em Sidney, Austrália, também se observaram maiores taxas de infecção no final do inverno e na primavera (DE SILVA; CLOONAN, 1991). Num estudo em Porto Alegre (RS), cidade de clima subtropical, o VPIH-3 apresentou padrão semelhante, com maior incidência no final de inverno e início da primavera, principalmente no mês de outubro (STRALIOTTO *et al*, 2002). No Rio de Janeiro (RJ), cidade de clima tropical, também houve picos de casos de VPIH-3 no mesmo período do ano (NASCIMENTO *et al*, 1991). Já um estudo em Cingapura, também de clima tropical, mostrou maiores frequências do VPIH-3 entre os meses de fevereiro e maio, porém sem sazonalidade significativa e sem relação com variação de temperatura, umidade ou pluviometria (CHEW *et al*, 1998). Em outra pesquisa desenvolvida na cidade de Salvador (BA), o VPIH-3 foi detectado em oito dos doze meses do estudo, sem sazonalidade marcante (MOURA *et al*, 2003). Na cidade de Uberlândia (MG), demonstrou-se um discreto aumento dos casos de VPIH-3 nos meses mais frios, mas também não houve comportamento sazonal significativo (COSTA *et al*, 2006).

Devido ao reduzido número de amostras de VPIH-4 identificadas nos diversos estudos, não foi possível estabelecer um padrão de sazonalidade para este vírus (WRIGHT, 2005; FRY *et al*, 2006).

#### **1.3.3.3. Sexo**

Na maioria dos estudos, não foram observadas diferenças significativas na infecção por parainfluenza em relação ao sexo, exceto por uma predominância de pacientes do sexo masculino nos quadros de laringotraqueobronquite aguda (crupe) (DENNY JR., 1995; PELTOLA *et al*, 2002; BASANTA, 2003; HENRICKSON, 2003).

#### **1.3.3.4. Idade**

Os tipos de parainfluenza apresentam comportamentos distintos quanto à idade em que ocorre o maior número de infecções. A maioria das infecções pelo VPIH-1 ocorre entre os 7 e os 36 meses de vida, com picos de incidência entre o primeiro e o terceiro anos de idade. O VPIH-2 tem pico de incidência entre um e dois anos de idade, e cerca de 60% das infecções por este agente ocorrem até os cinco anos de idade (HENRICKSON, 2003).

Já o VPIH-3 afeta principalmente crianças mais novas, com 40% das infecções por este tipo ocorrendo no primeiro ano de vida (REED *et al*, 1997; HENRICKSON, 2003); entre os 13 e 16 meses de idade, cerca de 50% das crianças foram soropositivas para o vírus em um estudo prospectivo (LEE *et al*, 2001). Em um estudo de coorte realizado em Houston, 92,2% das crianças com dois anos de idade já tinham sido infectadas pelo VPIH-3 pelo

menos uma vez, com percentuais menores de crianças que já tinham apresentado infecções repetidas (até quatro episódios) pelo mesmo agente (GLEZEN *et al*, 1984). Em lactentes, as taxas de infecção respiratória baixa pelo VPIH-3 são superadas apenas pelas causadas pelo VSR (LEE *et al*, 2001; HENRICKSON, 2003).

O VPIH-4, menos estudado, parece afetar igualmente lactentes, pré-escolares, escolares e adultos. Estudos de soroprevalência demonstraram que a positividade para anticorpos contra o VPIH-4 se eleva até os três a cinco anos de idade, quando atinge até 50% das crianças (HENRICKSON, 2003).

Reinfecções são freqüentes, ao longo da vida, pelos quatro subtipos (GLEZEN *et al*, 1984; PIEDRA *et al*, 1997).

#### **1.3.3.5. Mortalidade**

A mortalidade atribuída ao parainfluenza é muito baixa em países desenvolvidos, ocorrendo principalmente em neonatos, imunocomprometidos ou idosos (HENRICKSON, 2003). Nestes países, surtos de maior gravidade foram relatados em instituições para idosos (FAULKS *et al*, 2000) ou em enfermarias com pacientes imunocomprometidos, com mortalidade elevada, podendo alcançar 33% em pacientes que receberam transplante de medula óssea, e até 50% em pacientes transplantados com IVAI (ELIZAGA *et al*, 2001; BARTON; BLUMBERG, 2005). Nos países em desenvolvimento, porém, as crianças estão sob maior risco de morte após infecções por parainfluenza, seja pela infecção viral ou por superinfecções bacterianas; nestes países, as infecções de vias aéreas inferiores (IVAI) causam 25 a 30% das mortes entre pré-escolares, e os vírus parainfluenza causam até 10% das IVAI (BERMAN, 1991).

#### **1.3.3.6. Complicações**

A complicação mais associada à infecção por parainfluenza é a otite média aguda, que pode ser viral ou decorrente de infecção bacteriana secundária, e que ocorre após infecções respiratórias altas, em até 30 a 50% dos casos (PIEDRA *et al*, 1997; REED *et al*, 1997; HALL, 2001; HENRICKSON, 2003). Sinusites agudas também podem ocorrer, devido ao acúmulo de secreções por edema e à obstrução dos óstios de drenagem (PIEDRA *et al*, 1997). Superinfecções bacterianas também podem levar a pneumonias, destacando-se as infecções por *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* (PIEDRA *et al*, 1997).

### 1.3.4. Transmissão

A transmissão dos vírus parainfluenza ocorre principalmente através do contato direto com secreções respiratórias contaminadas, que podem estar presentes em objetos contaminados ou nas mãos de pessoas infectadas, inclusive profissionais de saúde; ou pela via respiratória, através da inalação de gotículas de secreções eliminadas durante a fala, tosse ou espirros. O vírus é eliminado nas secreções respiratórias de pacientes infectados durante aproximadamente uma semana, embora este período possa variar de acordo com a idade, número de infecções prévias e gravidade da infecção (AITKENS; JEFFRIES, 2001; PIEDRA *et al*, 1997). Em um estudo, o VPIH-3 pôde ser recuperado das secreções respiratórias até 38 dias após o início dos sintomas (FRANK *et al*, 1981). O vírus pode infectar o hospedeiro ao entrar em contato com as mucosas nasal ou ocular (AITKENS; JEFFRIES, 2001; PIEDRA *et al*, 1997). O vírus pode permanecer infectante por até 10 horas em superfícies não porosas, como o aço inoxidável, mas tem sobrevida menor, de até 4 horas, em superfícies absorptivas, como tecidos (BRADY, 1990). Após a contaminação experimental dos dedos com o VPIH-3, demonstrou-se que o vírus perdeu mais de 90% de sua infectividade após 10 minutos, o que sugere uma importância menor das mãos na transmissão do que previamente se supunha (ANSARI *et al*, 1991). O ressecamento de superfícies em que o vírus foi experimentalmente aplicado, apesar de reduzir os índices de recuperação do agente, não eliminou os vírus viáveis; já o uso de antissépticos e desinfetantes nas superfícies rapidamente eliminou os vírus presentes (BRADY, 1990).

### 1.3.5. Fisiopatologia

Nos hospedeiros imunocompetentes, a replicação do vírus parainfluenza é geralmente restrita às células epiteliais do trato respiratório (PIEDRA *et al*, 1997; HENRICKSON, 2003; WRIGHT, 2005). Após a infecção das células epiteliais do trato respiratório superior, o vírus se replica e é transmitido de célula a célula, podendo atingir as vias aéreas inferiores e os alvéolos (VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994; PIEDRA *et al*, 1997). As células infectadas podem apresentar aumento de volume do citoplasma e do núcleo, vacúolos citoplasmáticos, inclusões eosinofílicas e a formação de células gigantes multinucleadas (HENRICKSON, 2003), além da perda dos cílios das células (PIEDRA *et al*, 1997). A destruição tecidual focal provocada pelo vírus é usualmente leve e de recuperação rápida, à exceção da infecção em imunossuprimidos, onde pode ocorrer pneumonia por células gigantes, com destruição mais extensa (HENRICKSON, 2003).

Quando a infecção atinge as vias aéreas inferiores, ocorre infiltrado peribronquiolar contendo linfócitos, plasmócitos e monócitos, associado a edema e exsudato

(VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994). Na pneumonia por parainfluenza, os tecidos subepiteliais e inter-alveolares são infiltrados por células mononucleares, tornando-se espessados (PIEDRA *et al*, 1997). Subseqüentemente, pode haver necrose epitelial, infiltrado inflamatório estendendo-se até os alvéolos e edema interalveolar, além de hiperplasia do epitélio alveolar e acúmulo de exsudato intra-alveolar (PIEDRA *et al*, 1997; VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994). Os mecanismos de lesão celular incluem a destruição causada pelo vírus e a lesão provocada pela resposta imunológica, cujos mecanismos ainda não são bem conhecidos (VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994; HENRICKSON, 2003). A destruição das células infectadas parece dever-se mais à resposta imunológica do hospedeiro que à replicação viral, uma vez que os títulos virais geralmente já estão diminuindo no período em que os sintomas são mais evidentes, e que os títulos virais não se correlacionam à gravidade das infecções respiratórias baixas (LOUGHLIN; MOSCONA, 2006). Na laringotraqueobronquite (crupe), ocorre infiltração por células mononucleares e edema na região subglótica, com estreitamento dessa região, dificultando a passagem do ar (SUBBARAO, 2003). Nos quadros de bronquiolite por parainfluenza, as alterações histopatológicas são menos estudadas que na infecção pelo VSR, embora pareçam ser semelhantes para ambos os vírus, com necrose do epitélio bronquiolar, infiltração peribronquiolar por linfócitos, edema submucoso e aumento da secreção de muco, podendo haver a formação de rolhas compostas por muco, restos celulares e fibrina, com obstrução das vias aéreas distais e conseqüente aprisionamento do ar nos alvéolos (PIEDRA *et al*, 1997).

### **1.3.6. Resposta imunológica do hospedeiro**

A defesa do hospedeiro contra o vírus parainfluenza é em grande parte mediada pela imunidade humoral direcionada às duas glicoproteínas de superfície, HN e F. A maioria das crianças nasce com anticorpos neutralizantes, de origem materna, contra os quatro tipos de parainfluenza, porém os títulos destes anticorpos caem rapidamente nos primeiros meses de vida (LEE *et al*, 2001; HENRICKSON, 2003). Após a infecção inicial, que ocorre mais freqüentemente no primeiro ano de vida para o VPIH-3 e até os cinco anos de idade para o VPIH-1 e o VPIH-2, as crianças adquirem anticorpos específicos, porém não em títulos suficientes para a proteção contra reinfecções. Infecções repetidas, porém, levam a quadros subseqüentes mais brandos, com menor envolvimento das vias aéreas inferiores, com exceção das reinfecções em imunocomprometidos, que apresentam maior potencial de gravidade (GLEZEN *et al*, 1984; HALL, 2001; HENRICKSON, 2003; WRIGHT, 2005).

A imunidade de mucosas parece ter papel importante, embora não completamente definido, na infecção pelos vírus parainfluenza. Anticorpos específicos da

classe IgA (imunoglobulina A) surgem cerca de sete a dez dias após o início dos sintomas, apresentando picos em duas semanas, e não parecem ter relação com a gravidade da doença (YANAGIHARA; McINTOSH, 1980). No entanto, em adultos, os títulos de anticorpos secretórios contra VPIH-1 e VPIH-2 tiveram correlação com a resistência à reinfeção (SUBBARAO, 2003).

Com relação à imunidade celular, seu papel na infecção por parainfluenza é incerto. Linfócitos T citotóxicos direcionados a proteínas virais podem ser encontrados em indivíduos saudáveis (SUBBARAO, 2003). Como as infecções são mais graves e apresentam períodos mais longos de replicação viral nos hospedeiros com deficiências na imunidade celular, como os submetidos a transplante de medula óssea, pressupõe-se que o papel dos linfócitos T seja importante na resolução da infecção (SUBBARAO, 2003; LOUGHLIN; MOSCONA, 2006). No entanto, indivíduos imunocompetentes com comprometimentos mais extensos das vias aéreas inferiores, como crúpe ou bronquiolite, apresentam resposta imune celular mais intensa que aqueles com infecção restrita às vias aéreas superiores, sugerindo que a hiper-responsividade dos linfócitos tenha importância na patogênese da doença (SUBBARAO, 2003).

### **1.3.7. Manifestações clínicas**

Os vírus parainfluenza já foram associados a um amplo espectro de doenças respiratórias, com comprometimento de vias aéreas superiores ou inferiores, porém alguns dos seus subtipos têm relação mais frequente com síndromes específicas. Além disso, as reinfeções costumam ser menos graves que as infecções primárias, que geralmente ocorrem em idades precoces (GLEZEN *et al*, 1984; HALL, 2001; HENRICKSON, 2003; MEISSNER, 2005).

As IVAS são a manifestação mais frequente da infecção por parainfluenza, principalmente em hospedeiros imunocompetentes (crianças ou adultos). Após um período de incubação que varia entre dois e quatro dias, começam os sintomas, semelhantes aos de um resfriado comum: coriza, obstrução nasal, tosse, faringite, febre, que duram cerca de quatro dias. As IVAS têm geralmente resolução espontânea, embora possam evoluir para a otite média (viral ou por superinfecção bacteriana), sua complicação mais frequente. Os quatro tipos virais vêm sendo identificados em pacientes com IVAS (REED *et al*, 1997; SUBBARAO, 2003; WRIGHT, 2005).

A laringotraqueobronquite aguda (crúpe) é a apresentação clínica mais característica dos vírus parainfluenza. É uma síndrome associada com a inflamação e obstrução da laringe e da traquéia, e se caracteriza clinicamente pela presença de estridor

inspiratório, tosse “canina”, dispnéia e rouquidão, atingindo crianças entre os seis meses e os seis anos de idade, com incidência máxima no segundo ano de vida (MARX *et al*, 1997; BASANTA, 2003; KNUTSON; ARING, 2004). A faixa etária de maior incidência relaciona-se às idades em que o diâmetro das vias aéreas é menor, particularmente na região subglótica, que se torna mais estreita, devido à inflamação e ao edema, levando ao desconforto respiratório e à rouquidão ou afonia (BASANTA, 2003). Os vírus parainfluenza são responsáveis por 56 a 75% dos casos de crupe em que algum agente etiológico foi identificado (REED *et al*, 1997; BASANTA, 2003; HENRICKSON, 2003; SUBBARAO, 2003; WEINBERG, 2006). O crupe é associado principalmente a infecções pelo VPIH-1 (PIEDRA *et al*, 1997; MARX *et al*, 1997; BASANTA, 2003; KNUTSON; ARING, 2004). O VPIH-2 também é causa importante de crupe, embora menos freqüente que o VPIH-1. Já o VPIH-3 é causa esporádica de crupe (PIEDRA *et al*, 1997). Outros agentes, como o VSR, os vírus influenza A e B, adenovírus, rinovírus ou *Mycoplasma pneumoniae*, também já foram identificados em crianças com crupe (PELTOLA *et al*, 2002; BASANTA, 2003; HENRICKSON, 2003; KNUTSON; ARING, 2004).

A bronquiolite, síndrome clínica exclusiva da infância, devido ao pequeno diâmetro das vias aéreas, caracteriza-se por febre, rinorréia, sibilos expiratórios, taquipnéia e tiragem intercostal, podendo evoluir com hipoxemia importante e cianose. Sua maior incidência está em crianças no primeiro ano de vida, com cerca de 81% dos casos ocorrendo nesta faixa etária (HENRICKSON, 2003). Estima-se que 1 a 2% das crianças apresentem bronquiolite aguda entre os dois e os dez meses de idade (GARCÍA-RODRÍGUEZ; MARTÍNEZ, 2002). O principal agente relacionado à bronquiolite é o VSR, mas a infecção pelos vírus parainfluenza também pode ter esta apresentação. Em lactentes internados por bronquiolite, o VPIH-3 é a segunda causa mais freqüente, seguindo-se ao VSR. O VPIH-1 também foi identificado em grande número de casos; já os demais subtipos são agentes menos freqüentes, embora o VPIH-4 tenha sido identificado em crianças com esta apresentação, em estudos mais recentes (GARCÍA *et al*, 2002; HENRICKSON, 2003; SUBBARAO, 2003; VACHON *et al*, 2006). Outros vírus associados à bronquiolite são: influenza, adenovírus, rinovírus e metapneumovírus (COFFIN, 2005).

A pneumonia, caracterizada por febre e evidências clínicas e radiológicas de consolidação pulmonar, pode ser causada principalmente pelo VPIH-3 ou pelo VPIH-1. Levantamentos mostraram o isolamento de um destes dois tipos virais em 3 a 10% dos casos de pneumonia em crianças tratadas a nível ambulatorial ou em enfermarias (NASCIMENTO-CARVALHO, 2001; VIRKKI *et al*, 2002; SINANIOTIS, 2004). Nos pacientes imunocomprometidos, especialmente em transplantados ou portadores de imunodeficiências

congênitas, pode haver quadros graves, com elevada mortalidade (ELIZAGA *et al*, 2001; SUBBARAO, 2003; BARTON; BLUMBERG, 2005).

A traqueobronquite é uma IVAI que se caracteriza por tosse e roncospulmonar, podendo haver febre e sinais concomitantes de IVAS, mas sem consolidação pulmonar. Sua incidência aumenta na idade escolar e na adolescência. Seus principais agentes são os vírus, e os parainfluenza foram identificados em mais de 25% dos casos, em alguns levantamentos, sendo mais freqüente o VPIH-3 (HENRICKSON, 2003).

Apresentações menos comuns incluem o comprometimento do sistema nervoso central, na forma de meningite ou encefalite ou em associação com convulsões febris em crianças infectadas (HENRICKSON, 2003). Em neonatos, especialmente em prematuros, a infecção pelo parainfluenza foi relacionada a apnéia, bradicardia e morte súbita (SUBBARAO, 2003; HENRICKSON, 2003).

### **1.3.8. Métodos de diagnóstico**

Os vírus parainfluenza replicam-se inicialmente na orofaringe e nasofaringe, e podem ser recuperados a partir de células epiteliais das vias respiratórias superiores, a partir de três a quatro dias antes do início dos sintomas, e até cerca de dez dias após as primeiras manifestações clínicas (FRANK *et al*, 1981). A identificação do vírus é muito mais difícil em adultos que em crianças, provavelmente devido à menor quantidade de vírus eliminada pelos adultos (HENRICKSON, 2003). Os principais espécimes clínicos utilizados para o diagnóstico são os aspirados ou lavados nasofaríngeos e swabs de orofaringe e/ou nasofaringe. A coleta por swab parece ser menos desconfortável para os pacientes (HEIKKINEN *et al*, 2002), além de não requerer sucção, obtida, na maioria dos trabalhos, com o auxílio de um aspirador (FRAYHA *et al*, 1989; HEIKKINEN *et al*, 2002). Porém, embora ambos os métodos de coleta tenham mostrado taxas razoáveis de identificação viral, o aspirado de nasofaringe mostrou-se, em geral, mais sensível (CRUZ *et al*, 1987; FRAYHA *et al*, 1989; HEIKKINEN *et al*, 2002). Outros espécimes clínicos utilizados para a identificação viral incluem o lavado broncoalveolar, aspirado traqueal, tecido obtido por biópsia pulmonar (PIEDRA *et al*, 1997) e, mais raramente, na suspeita de comprometimento do sistema nervoso central, o líquido céfalo-raquidiano (HENRICKSON, 2003).

Quanto ao método de identificação viral, o isolamento em cultura de células sensíveis ao crescimento do vírus tem sido tradicionalmente considerado o “padrão-ouro” para os vírus respiratórios em geral (HENRICKSON, 2003), embora seja uma técnica trabalhosa, que requer pessoal qualificado e tem resultados mais demorados, necessitando de dois a catorze dias para sua obtenção (WEISSENBACHER; ÁVILA, 1999; SHETTY *et al*,

2003; HENRICKSON, 2003). As linhagens celulares mais utilizadas para o isolamento de parainfluenza são as células primárias de rim de macaco (células PMK) e as células LLC-MK2 (de linhagem secundária, derivadas de rim de macaco, mais baratas e mais fáceis de cultivar) (PIEDRA *et al*, 1997; HENRICKSON, 2003). Embora o VPIH-3 possa determinar efeito citopático em células LLC-MK2, em geral, raramente é demonstrado este efeito no isolamento de vírus parainfluenza (PIEDRA *et al*, 1997). Por conseguinte, o método mais útil para a detecção de culturas positivas é o de hemadsorção com o uso de eritrócitos de cobaias (PIEDRA *et al*, 1997; HENRICKSON, 2003). A identificação do subtipo viral pode ser realizada através de imunofluorescência, inibição da hemadsorção ou inibição da hemaglutinação (PIEDRA *et al*, 1997; HENRICKSON, 2003).

A detecção de antígenos virais em espécimes clínicos através do método de imunofluorescência indireta (IFI) é mais rápida e de fácil execução, embora apresente níveis menores de sensibilidade para os vírus parainfluenza quando comparada ao isolamento em cultura e aos métodos de biologia molecular (FULTON; MIDDLETON, 1974; AGUILAR *et al*, 2000; KUYPERS *et al*, 2006). A sensibilidade da imunofluorescência para os vírus parainfluenza, quando comparada à do isolamento em cultura, tem variado, nos diversos estudos, entre 31 e 100% (GARDNER *et al*, 1971; WONG *et al*, 1982; RAY; MINNICH, 1987; IRMEN; KELLEHER, 2000; KUYPERS *et al*, 2006). Os resultados parecem ser melhores para o VPIH-3 (IRMEN; KELLEHER, 2000; KUYPERS *et al*, 2006), e piores para o VPIH-4, que também é mais dificilmente isolado em cultivo celular (AGUILAR *et al*, 2000; LAU *et al*, 2005). A especificidade da imunofluorescência, no entanto, tem-se mostrado uniformemente elevada, entre 93 e 100% (GARDNER *et al*, 1971; WONG *et al*, 1982; RAY; MINNICH, 1987; IRMEN; KELLEHER, 2000; HENRICKSON, 2003; KUYPERS *et al*, 2006).

O diagnóstico através da pesquisa de antígenos por ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), apesar de fornecer resultados rápidos e de ter apresentado boa especificidade, tem sensibilidade inferior à da imunofluorescência e à do isolamento em cultura (GRANDIEN *et al*, 1985).

Nos últimos anos, tem-se dado grande destaque aos métodos moleculares de diagnóstico, por apresentarem boa sensibilidade, especificidade e rapidez, embora tenham um custo mais elevado. Para os vírus parainfluenza, é realizada a conversão do RNA viral em DNA (transcrição reversa), seguida da amplificação do DNA, permitindo a identificação viral com pequenas quantidades de material clínico (KARRON *et al*, 1994; ECHEVARRÍA *et al*, 1998; OSIOWY, 1998; AGUILAR *et al*, 2000; HENRICKSON, 2003; TEMPLETON *et al*, 2004; KUYPERS *et al*, 2006). A reação em cadeia de polimerase com transcrição reversa

(RT-PCR) tem sido especialmente enfatizada, nos últimos anos, para o diagnóstico do VPIH-4, que é dificilmente identificado através dos métodos convencionais (AGUILAR *et al*, 2000; GARCÍA *et al*, 2002; TEMPLETON *et al*, 2004; LAU *et al*, 2005).

O diagnóstico através de sorologia requer a comparação dos títulos de anticorpos séricos específicos entre a fase aguda da doença e a fase de convalescença, sendo necessário um intervalo de pelo menos duas semanas entre as duas coletas. O resultado é considerado positivo se houver um aumento de quatro vezes no título de anticorpos totais, ou se for demonstrado o surgimento de anticorpos específicos da classe IgM (imunoglobulina M). Desta forma, o diagnóstico sorológico é útil para a realização de inquéritos epidemiológicos, em testes de vacinas, na detecção de infecções subclínicas e na comparação entre métodos, mas não no acompanhamento clínico de pacientes, uma vez que, devido ao tempo necessário para a produção de anticorpos, o diagnóstico geralmente só é confirmado quando o paciente já evoluiu para a cura, o óbito ou complicações (WEISSENBACHER; ÁVILA, 1999; PIEDRA *et al*, 1997; HENRICKSON, 2003; SIAS, 2005; WRIGHT, 2005).

### **1.3.9. Profilaxia e tratamento**

Apesar de haver, desde a década de 60, estudos tentando desenvolver vacinas contra os vírus parainfluenza, até agora não há vacina licenciada disponível para uso. Uma das dificuldades para a obtenção de uma vacina eficaz é a época ideal de vacinação, que, no caso do VPIH-3, corresponde aos primeiros meses de vida, quando a infecção é mais freqüente; nesta época, porém, o sistema imunológico ainda é imaturo, e a presença de anticorpos maternos pode interferir na resposta imune (LOUGHLIN; MOSCONA, 2006). As primeiras tentativas de vacinação, no final da década de 60, utilizando VPIH-1, 2 e 3 inativados por formalina, falharam em induzir imunidade protetora. Atualmente, vários estudos vêm sendo realizados, utilizando vacinas obtidas a partir de subunidades virais, ou a partir de vírus atenuados, sendo que as do segundo grupo parecem ser mais promissoras (MEISSNER, 2005). As vacinas de vírus vivos apresentam a vantagem de induzirem imunidade de mucosas mais efetiva e duradoura, embora as vacinas de subunidades possam apresentar menos efeitos colaterais (VAINIONPÄÄ; HYYPIÄ, 1994). Em um estudo, uma vacina obtida a partir do vírus parainfluenza bovino tipo 3, antigenicamente relacionado ao VPIH-3, administrada pela via intranasal, mostrou-se imunogênica, porém apresentou, como efeito colateral, um índice significativo de febre após a administração (GREENBERG *et al*, 2005). Já uma vacina intranasal obtida a partir do VPIH-3, atenuado após passagens sucessivas em células PMK a temperaturas seqüencialmente mais baixas, desfavoráveis à replicação viral, não apresentou efeitos colaterais significativos, e induziu a produção de

anticorpos neutralizantes em 84% das crianças vacinadas (BELSHE *et al*, 2004). Em outro trabalho, uma vacina obtida a partir do vírus influenza A, modificado por engenharia genética para expressar a glicoproteína de superfície HN dos vírus parainfluenza, mostrou-se imunogênica em ratos (MAEDA *et al*, 2005). Também estão em estudos vacinas obtidas a partir de vírus atenuados recombinantes, expressando antígenos de mais de um subtipo de parainfluenza (VPIH-1 + VPIH-3, ou VPIH-3 + VPIH-2); vírus parainfluenza bovino recombinante, contendo genes HN e F do VPIH-3; e vacinas de vírus parainfluenza bovino ou VPIH-3 recombinantes, expressando antígenos do vírus sincicial respiratório, do metapneumovírus humano ou do vírus do sarampo, que permitiriam a vacinação simultânea contra mais de um agente (DURBIN; KARRON, 2003; LOUGHLIN; MOSCONA, 2006).

A prevenção da transmissão hospitalar da infecção por parainfluenza requer o diagnóstico precoce dos pacientes infectados e a instituição de medidas de biossegurança, que incluem a adoção de precauções respiratórias e de contato no manejo destes pacientes, estando indicados o uso de luvas e máscara cirúrgica e a lavagem rigorosa das mãos pelos profissionais em contato próximo com os pacientes, além do uso de equipamentos privativos para cada pessoa infectada e o isolamento do indivíduo ou grupo de indivíduos infectados na mesma enfermaria. Além disso, profissionais de saúde e visitantes não devem ter contato com pacientes se estiverem apresentando sintomas de infecção respiratória (AITKEN; JEFFRIES, 2001).

Com relação ao tratamento específico, até o momento não há terapia antiviral comprovadamente eficaz. O uso de ribavirina, por via oral ou aerossolizada, vem sendo descrito em estudos isolados com pacientes imunocomprometidos apresentando pneumonia, com resultados variáveis, porém sem comprovação de eficácia (ELIZAGA *et al*, 2001; LUJÁN-ZILBERMANN *et al*, 2001; KIMBERLIN, 2005). Outras abordagens estão em estudos, como o uso de drogas imuno-estimuladoras, citocinas, fator estimulante de colônias, mas também sem eficácia comprovada (HENRICKSON, 2003). Entre os possíveis alvos para terapia específica que vêm sendo propostos, destacam-se as glicoproteínas de superfície e a atividade da neuraminidase, embora os inibidores de neuraminidase atualmente disponíveis para o tratamento de influenza não tenham mostrado eficácia contra os VPIH (LOUGHLIN; MOSCONA, 2006). Não há imunoglobulina específica disponível (HENRICKSON, 2003).

O tratamento de suporte do crupe inclui o uso de corticosteróides, preferencialmente por via parenteral, com maior eficácia quando instituído nas primeiras horas de sintomatologia (PIEDRA *et al*, 1997; JOHNSON *et al*, 1998; BASANTA, 2003; HENRICKSON, 2003; KNUTSON; ARING, 2004; WRIGHT, 2005). Também é utilizada a adrenalina aerossolizada, porém seu efeito no alívio do desconforto respiratório é de curta

duração. A umidificação do ar, tradicionalmente utilizada, parece ser benéfica. Crianças com insuficiência respiratória necessitam de suporte ventilatório mecânico em unidade de terapia intensiva (PIEDRA *et al*, 1997; BASANTA, 2003; KNUTSON; ARING, 2004; WRIGHT, 2005). O tratamento dos casos de bronquiolite é semelhante ao dos quadros causados pelo VSR, baseando-se em medidas de suporte, incluindo oxigênio suplementar, hidratação e manejo das complicações, como a insuficiência respiratória aguda, sendo o uso de broncodilatadores e glicocorticóides ainda de benefício incerto (COFFIN, 2005). Já o tratamento das IVAS por parainfluenza é apenas sintomático (PIEDRA *et al*, 1997).

#### **1.4. Justificativa do estudo**

O estudo busca trazer mais informações epidemiológicas e clínicas sobre as infecções respiratórias pelo vírus parainfluenza em nossa região, uma vez que não há estudos analisando especificamente as características deste vírus em nosso estado, nem em nosso país. Como este trabalho faz parte de uma linha de pesquisa do Laboratório e da orientadora, foi possível contar com dados acumulados durante seis anos, possibilitando um maior número de informações para a análise.

#### **1.5. Pergunta de partida**

- Quais são as características clínico-epidemiológicas das IRAs pelos vírus parainfluenza nas crianças atendidas no Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS)?

#### **1.6. Hipóteses**

- As IRAs pelos vírus parainfluenza em um hospital de Fortaleza têm características epidemiológicas semelhantes às de outras regiões tropicais;

- As manifestações clínicas das infecções pelos vírus parainfluenza em crianças atendidas no HIAS se assemelham às encontradas em outros estudos, em regiões tropicais ou temperadas.

## **2. OBJETIVOS DO ESTUDO**

### **2.1. Objetivo geral**

- Descrever o perfil clínico-epidemiológico das infecções respiratórias agudas causadas pelos vírus parainfluenza 1, 2 e 3 em crianças atendidas no Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), na cidade de Fortaleza – CE, no período de janeiro de 2001 a dezembro de 2006.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar a frequência de infecções pelos vírus parainfluenza 1, 2 e 3 em crianças atendidas por infecções respiratórias agudas (IRAs) na emergência, observação, ambulatórios e enfermarias do HIAS;

- Descrever a distribuição mensal das infecções por parainfluenza no período de estudo;

- Pesquisar a possível correlação entre a distribuição mensal das infecções pelos vírus parainfluenza e a distribuição mensal de chuvas durante o período de estudo;

- Descrever as características epidemiológicas dos pacientes infectados pelos vírus parainfluenza;

- Descrever as características clínicas e radiológicas das IRAs causadas pelos vírus parainfluenza;

- Comparar as características epidemiológicas, clínicas e radiológicas observadas nos pacientes com infecção pelos vírus parainfluenza com os pacientes negativos para os vírus pesquisados e com os positivos para outros vírus.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Descrição do estudo**

##### **3.1.1. Local do estudo**

O estudo foi realizado na cidade de Fortaleza – Ceará, localizada no litoral do estado, e tendo como limites: ao norte, o oceano Atlântico; ao sul, as cidades de Pacatuba, Eusébio, Maracanaú e Itaitinga; a leste, a cidade de Aquiraz e o oceano Atlântico; e a oeste, a cidade de Caucaia. Fortaleza apresenta clima tropical, com temperatura média anual de 27°C e umidade relativa média do ar de 82% (Fonte: Fundação Cearense de Meteorologia – FUNCEME). Fortaleza apresenta uma área territorial de 313,14 km<sup>2</sup>, e abriga uma população de 2.141.402 habitantes, de acordo com os dados do censo populacional de 2000 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). A população de crianças entre 0 e 4 anos, de acordo com o mesmo censo, corresponde a 204.485 pessoas, ou a 9,55% da população total; até os nove anos de idade, são 410.563 pessoas, ou 19,17% da população.

Os pacientes do estudo foram selecionados no Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), em Fortaleza. O HIAS é um hospital público, de nível terciário, com atividades de ensino e assistência, sendo o principal hospital pediátrico do estado do Ceará. Foram selecionados pacientes que recebiam atendimento na Emergência do hospital (pacientes atendidos no serviço de Pronto-Atendimento e pacientes que se encontravam no setor de Observação), que eram atendidos nos ambulatórios ou que estavam internados nas enfermarias ou unidades de terapia intensiva do hospital.

##### **3.1.2. Questões éticas**

Este estudo recebeu parecer favorável do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do HIAS em 27 de março de 2006 (Ofício nº 42/06), e é complementar a estudo anterior, que recebeu parecer favorável do CEP em 12 de junho de 2000 (Ofício nº 08/00).

##### **3.1.3. Tipo de estudo**

Este foi um estudo do tipo observacional, descritivo, transversal, realizado por um período de 72 meses, entre janeiro de 2001 e dezembro de 2006.

A amostragem colhida foi de conveniência, entre as crianças atendidas nos diferentes setores de um hospital terciário.

##### **3.1.4. Pacientes**

A seleção dos pacientes baseou-se nos seguintes critérios de inclusão:

- Crianças atendidas no serviço de emergência, ambulatório, enfermarias ou unidades de terapia intensiva do HIAS;
- Quadro clínico compatível com doença das vias aéreas superiores e/ou inferiores;
- Tempo de doença geralmente igual ou inferior a sete dias (excepcionalmente, quando havia solicitação dos médicos do serviço, foram incluídas crianças com até 15 dias de sintomas);
- Presença de secreção nasofaríngea;
- Obtenção de consentimento escrito do responsável pela criança (Anexo I).

### **3.2. Coleta de dados e material**

A coleta dos dados e dos espécimes clínicos para análise ficou sob responsabilidade da mestrandia, da orientadora e de outros mestrandos e estudantes de Medicina que participam do projeto. Esta coleta ocorreu durante os dias úteis, em turnos de quatro horas, pela manhã e/ou à tarde, com uma variação de três a cinco dias de coleta por semana, durante o período de estudo. A coleta e a entrevista eram realizadas, em geral, logo após a consulta médica.

A média mensal dos índices pluviométricos foi obtida através da Fundação Cearense de Meteorologia (FUNCEME).

#### **3.2.1. Coleta do material**

O espécime clínico utilizado foi a secreção de nasofaringe, obtida através de aspiração, utilizando-se uma sonda uretral ou traqueal número 4, 6 ou 8, acoplada a uma seringa de 20 mL, segundo a técnica de Gardner & McQuillin, 1980. A sonda era introduzida em uma das narinas, até a altura da nasofaringe (aproximadamente metade da distância compreendida entre a narina e o ouvido da criança), como é demonstrado na Figura 3. Caso não fosse obtido material suficiente, este procedimento era repetido na outra narina. Após a coleta, a sonda e a seringa eram guardadas na embalagem plástica da seringa, identificadas e acondicionadas em isopor contendo gelo reciclável, e, num prazo de até 4 horas, o material era transportado até o Laboratório de Virologia da Universidade Federal do Ceará, onde permanecia refrigerado a 4°C até o seu processamento.



FIGURA 3 – Demonstração da técnica de coleta do aspirado nasofaríngeo.

### 3.2.2. Entrevista e preenchimento da ficha epidemiológica

O responsável pela criança, após ser informado sobre os objetivos do trabalho e os procedimentos necessários para a coleta, e após consentir com a participação da criança no estudo, assinava o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo I) e era entrevistado para o preenchimento da ficha epidemiológica (Anexo II). Os dados referentes ao exame físico, exames complementares, diagnóstico clínico e tratamento instituído à criança eram obtidos junto ao médico responsável pelo atendimento, ou através dos prontuários e fichas de atendimento.

### 3.3. Processamento do material

Em geral, nas primeiras 4 horas após a coleta (e, no máximo, em 24 horas), o aspirado de nasofaringe era colocado em um tubo de centrífuga de poliestireno, contendo 2 mL de Meio Essencial Mínimo com sais de Earle (MEM-E), adicionado de penicilina-estreptomicina, glutamina e bicarbonato de sódio. As amostras e o meio eram, então, homogeneizados através de movimentos de aspiração e ejeção da solução, com uma pipeta Pasteur conectada a uma pêra de aspiração, com o objetivo de facilitar a liberação das células presentes no aspirado. Uma alíquota de aproximadamente 1 mL do material diluído era, então, colocada em criotubos para ser armazenada a  $-20^{\circ}\text{C}$  (até maio de 2005), e, a partir de maio de 2005, a  $-70^{\circ}\text{C}$ , para estudos posteriores. Depois, o restante da solução era

centrifugado a 1500 rpm, por 10 minutos, à temperatura ambiente. O sobrenadante da solução era armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  (até maio de 2005), e, a partir de maio de 2005, a  $-70^{\circ}\text{C}$ , para estudos posteriores. O sedimento era diluído em pequena quantidade de tampão salina fosfato (PBS), em volume variável de acordo com o volume do sedimento. A solução obtida, homogeneizada conforme descrito anteriormente, era, então, dispensada em lâminas para imunofluorescência indireta (IFI). O número de lâminas preparadas podia variar de acordo com o volume de sedimento obtido: em geral, eram preparadas três lâminas para cada amostra, sendo uma com dois orifícios centrais preenchidos com o sedimento diluído (lâmina utilizada na triagem de casos positivos ou negativos), e duas com oito orifícios laterais preenchidos (lâminas específicas, utilizadas na identificação do vírus). A secagem das lâminas ocorria na estufa, e a fixação era feita com acetona a  $4^{\circ}\text{C}$ , por 10 minutos. Após a evaporação da acetona, as lâminas eram submetidas à reação de IFI.

### **3.4. Reação de imunofluorescência indireta (IFI)**

Para a reação de IFI, foi empregado o “Respiratory Panel 1 Viral Screening & Identification Kit”, da Chemicon International Inc, que utiliza anticorpos monoclonais para a identificação qualitativa dos vírus: parainfluenza 1, 2 e 3; influenza A, influenza B, adenovírus e vírus sincicial respiratório.

Na lâmina de triagem, eram adicionados  $13\ \mu\text{L}$  de um “pool” de anticorpos monoclonais contra todos os vírus identificados pelo kit, em um dos poços. As lâminas eram incubadas em câmara úmida, a  $37^{\circ}\text{C}$ , por 30 minutos. Em seguida, elas eram lavadas com PBS-Tween, por 4 minutos, e submetidas a secagem na estufa. O segundo anticorpo (anticorpo de cabra anti-IgG de camundongo conjugado à fluoresceína) era, então, adicionado ao orifício. As lâminas eram novamente incubadas, nas mesmas condições e pelo mesmo tempo da etapa anterior. Após a secagem das lâminas, elas eram cobertas com o óleo de montagem do próprio kit, montadas com lamínulas e observadas em um microscópio de imunofluorescência da marca Olympus, modelo BX-40. Considerava-se como resultado positivo a presença de fluorescência no citoplasma ou núcleo das células do epitélio respiratório.

As amostras positivas na etapa de triagem eram submetidas a uma nova IFI, para a identificação específica do vírus respiratório. Nesta etapa, utilizava-se uma das lâminas específicas, adicionando-se, em cada um dos poços,  $13\ \mu\text{L}$  de anticorpos monoclonais específicos contra cada um dos sete vírus pesquisados. No oitavo poço da lâmina, era realizado o controle negativo da reação, com soro de camundongo normal. A metodologia

utilizada seguia as mesmas fases descritas na etapa de triagem. As lâminas eram, então, consideradas positivas para os vírus parainfluenza 1, 2 ou 3 quando as células epiteliais apresentavam fluorescência citoplasmática característica no orifício onde foram adicionados os anticorpos monoclonais correspondentes. A Figura 4 mostra uma amostra positiva para o vírus parainfluenza 3.

O processamento periódico de lâminas positivas e negativas fornecidas pelo kit servia como controle de qualidade da IFI.

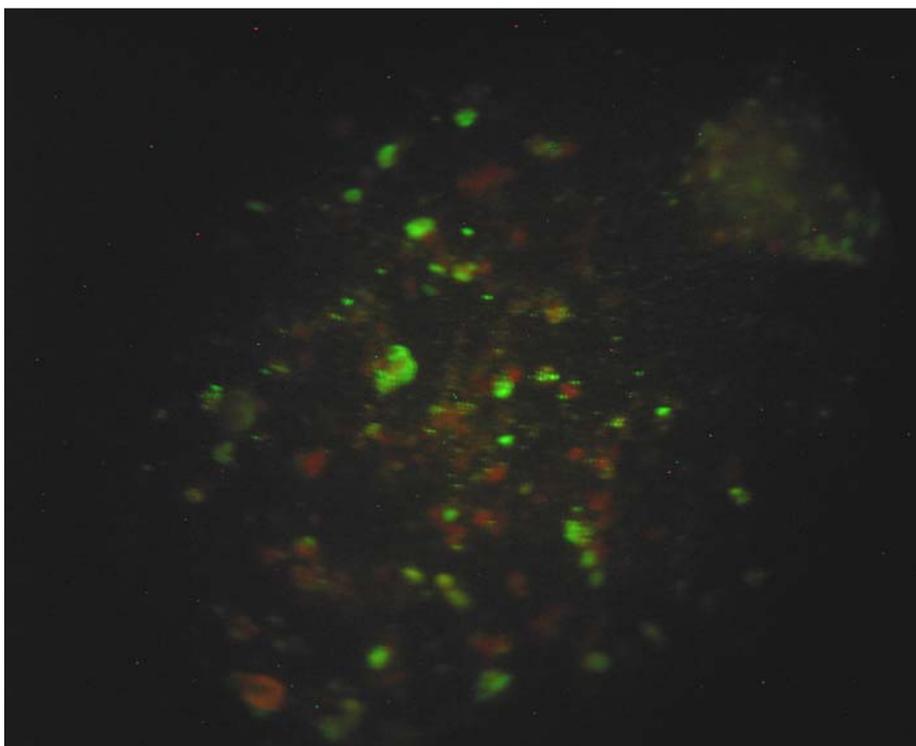


FIGURA 4 – Visualização de amostra positiva para o vírus parainfluenza 3 ao microscópio de imunofluorescência, evidenciando-se as células positivas, apresentando fluorescência citoplasmática, e células negativas, coradas em vermelho.

### 3.5. Análise estatística dos dados

Foram aplicados estudos comparativos entre o grupo de pacientes positivos para os vírus parainfluenza, os grupos de pacientes positivos para outros vírus em que o número de casos foi suficiente para a comparação estatística e o grupo de pacientes negativos para os vírus pesquisados. Na comparação entre as variáveis categóricas, foram utilizados o Teste Exato de Fisher e o Teste Qui-Quadrado de Pearson. Na comparação de médias, foi utilizado o Teste t-Student. Para a verificação de correlação entre variáveis quantitativas, foram utilizados os coeficientes de correlação de Spearman e de Pearson. Para cada teste, é apresentado o p-valor correspondente. Em geral, foram considerados significativos os valores de p menores que 0,05.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Caracterização da população estudada**

Um total de 3070 crianças com sintomas de IRAs foram incluídas neste estudo, durante os seus 72 meses de duração (janeiro de 2001 a dezembro de 2006). A distribuição dessa população por ano de estudo foi a seguinte: 559 (18,21%) no ano de 2001, 467 (15,21%) no ano de 2002, 530 (17,26%) em 2003, 396 (12,90%) em 2004, 484 (15,77%) em 2005, e 634 (20,65%) em 2006. Como o instrumento de coleta de dados foi modificado ao longo dos anos de estudo, algumas informações só estão disponíveis para os casos incluídos a partir de 2004, quando a ficha epidemiológica passou a conter informações mais detalhadas.

Com relação ao setor de atendimento dos pacientes, 1699 (55,49%) foram atendidos na emergência (pronto-atendimento), 893 (29,16%) nos ambulatórios, 369 (12,02%) nas enfermarias ou unidade de terapia intensiva, e 102 (3,33%) na sala de observação da emergência (Tabela 1). Devido ao pequeno número de amostras colhidas na UTI, estas foram analisadas em conjunto com as amostras provenientes das enfermarias. Em oito fichas, não havia a informação do setor de atendimento. O atendimento ambulatorial em Pediatria Geral foi suspenso no HIAS em outubro de 2003, passando este tipo de assistência a ser realizado pelas unidades básicas de saúde, e permanecendo no hospital apenas os ambulatórios de especialidades; por isso, desde então, a coleta passou a ser realizada apenas esporadicamente nos ambulatórios, predominando as coletas na emergência.

A distribuição da população de estudo quanto ao sexo, idade, setor de atendimento e diagnóstico clínico são apresentadas na Tabela 1. Os percentuais obtidos para cada variável foram considerados em relação ao total de casos para os quais a informação em questão estava disponível nas fichas.

Em relação ao sexo, observou-se uma predominância de pacientes do sexo masculino (54,92%). Utilizando-se o Teste Exato de Fisher, comparando-se com o percentual de 50%, o percentual de pacientes do sexo masculino é significativamente superior ao do sexo feminino ( $p = 0,0000$ ). A informação não estava disponível em quatro fichas.

Quanto à idade, foram coletadas amostras de crianças e adolescentes, entre zero e 192 meses (16 anos), mas com predominância de crianças com até 24 meses de idade, que corresponderam a 75,29% dos pacientes (Tabela 1 e Figura 5). A média de idades para as crianças do sexo masculino foi de 21 meses, e para as do sexo feminino, de 24 meses. A informação não estava disponível em dois casos. A Figura 5 mostra a distribuição da população de estudo de acordo com a idade, por sexo.

TABELA 1 – Distribuição da população de estudo quanto ao sexo, idade, setor de atendimento e diagnóstico clínico.

<b>Característica</b>	<b>Número</b>	<b>Percentual</b>
<u>Sexo</u>		
Masculino	1684	54,92%
Feminino	1382	45,08%
Total	3066 (*)	100,00%
<u>Idade (meses)</u>		
0 - 6	692	22,55%
7 – 12	777	25,33%
13 – 18	415	13,53%
19 – 24	426	13,88%
25 – 60	570	18,58%
> 60	188	6,13%
Total	3068 (*)	100,00%
<u>Setor de atendimento</u>		
Emergência	1699	55,49%
Ambulatório	893	29,16%
Enfermaria	368	12,02%
Observação	102	3,33%
Total	3062 (*)	100,00%
<u>Diagnóstico clínico</u>		
IVAS	1438	46,84%
IVAS + sintomas de asma	308	10,03%
Sintomas de asma	177	5,77%
Pneumonia	637	20,75%
Bronquiolite	326	10,62%
Pneumonia + Bronquiolite	85	2,77%
Bronquite	61	1,99%
Outros	21	0,68%
Sem diagnóstico	17	0,55%
<u>Total</u>	3070	100,00%

(\*) Obs.: O número e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

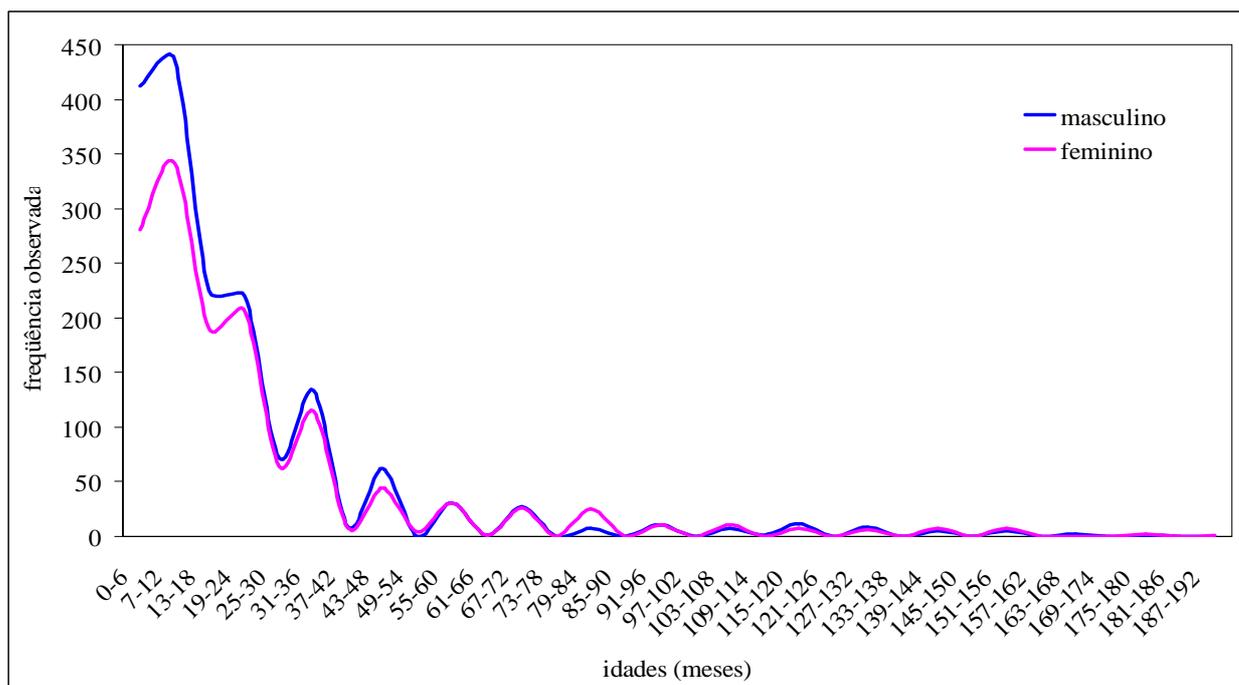


FIGURA 5 – Distribuição da população de estudo de acordo com a idade, por sexo.

Com relação à procedência dos pacientes, esta informação estava disponível para 1448 crianças, das quais 1317 (90,95%) moravam em Fortaleza, e 131 (9,05%) vinham de outras cidades.

Quanto à renda familiar da população de estudo, esta informação estava disponível em 2923 casos, sendo que, em 55,90% destes casos, a renda mensal era menor ou igual a um salário mínimo (SM). Cerca de 29,22% (854) dos responsáveis pelas crianças incluídas tinham renda familiar entre um e dois SM. O percentual de pacientes cuja renda familiar situava-se entre dois e três SM foi de 7,15%. Os responsáveis por 113 crianças que participaram do estudo não tinham renda fixa (3,87%). Apenas 3,87% das famílias tinham renda superior a três SM.

Quanto à escolaridade dos pais da criança, esta informação estava disponível para ambos os pais em 1340 casos. Dentre estes, observou-se que, em 356 casos (26,56%), ambos os pais tinham o ensino fundamental incompleto, com percentuais menores de casos em que ambos os pais tinham o ensino fundamental completo (5,07%), o ensino médio (17,98%) ou o nível superior (em apenas 0,82%).

A informação sobre se a criança freqüentava creche ou escola estava disponível em 2993 casos; em 81,32% destes, a criança não freqüentava creche nem escola, o que pode relacionar-se à baixa idade da população incluída.

Quanto ao aleitamento materno, 43,70% das crianças em que esta informação estava disponível receberam aleitamento por seis meses ou mais, e 32,91% foram

amamentadas por menos de seis meses. A categoria “ainda mama” foi utilizada apenas para crianças com menos de seis meses de idade na época da inclusão no estudo, correspondendo a 11,22% dos casos. 370 crianças (12,18%) não foram amamentadas.

Quanto à situação vacinal, em 92,04% dos casos, excetuando-se os 40 casos em que esta informação não estava disponível, as crianças estavam com a vacinação em dia.

Com relação à presença de co-morbidades e fatores de risco para IRAs com maior gravidade, a grande maioria da população do estudo (84,40%) é formada por crianças previamente saudáveis, sem co-morbidades. Dentre as que apresentavam fatores de risco, o mais freqüente foi a prematuridade, presente em 225 casos (7,37%) (Tabela 2).

TABELA 2 – Distribuição da população de estudo quanto à presença de co-morbidades.

<b>Co-morbidades</b>	<b>Número</b>	<b>Percentual</b>
Nenhuma	2576	84,40%
Prematuridade	225	7,37%
Asma	104	3,41%
Cardiopatía	41	1,34%
Doença neurológica crônica	24	0,79%
Pneumopatia crônica	17	0,56%
Refluxo gastro-esofágico	11	0,36%
Imunossupressão	3	0,10%
Outros	26	0,85%
Associações de fatores	25	0,82%
Total (*)	3052 (*)	100,00%

(\*) Obs.: O número e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Com relação ao tempo entre o início dos sintomas e o momento da coleta, dentre os 1587 casos em que esta informação estava disponível, 97,73% das crianças apresentavam até sete dias de sintomas. Nos pacientes com mais de sete dias de sintomas, as amostras foram colhidas apenas quando houve solicitação do médico do serviço, para a elucidação de casos mais graves.

Os sintomas mais freqüentemente relatados foram: tosse (presente em 91,98% dos casos), coriza (em 87,62%), febre (em 83,3%) e dispnéia (em 58,7%). A maioria das crianças apresentava vários sintomas associados (Tabela 3).

TABELA 3 – Distribuição da população de estudo quanto aos sintomas relatados.

<b>Sintoma</b>	<b>Número</b>	<b>Percentual (*)</b>
Tosse seca ou cheia	2824	91,99%
Coriza	2690	87,62%
Febre	2553	83,16%
Dispnéia	1792	58,37%
Obstrução nasal	1558	50,75%
Vômitos e/ou diarreia	1449	47,20%
Espirros	1345	43,81%
Anorexia	1189	38,73%
Otite	131	4,27%
Conjuntivite	110	3,58%
Cianose	106	3,44%
Convulsões	72	2,35%
Exantema	32	1,04%
<b>Total</b>	<b>3070</b>	<b>100,00%</b>

(\*) Obs.: A maioria das crianças apresentava vários sintomas associados.

#### **4.2. Frequência das IRAs virais, dos vírus parainfluenza e dos demais vírus pesquisados**

Das 3070 amostras coletadas no período, 933 (30,39%) foram positivas para pelo menos um dos sete vírus pesquisados (VPIH-1, 2 e 3, VSR, vírus influenza A e B, adenovírus). Do total, 98 (3,19%) foram positivas para o VPIH-3; 14 (0,46%) para o VPIH-1, e 5 (0,16%) para o VPIH-2. O total de infecções por parainfluenza, somados os três tipos, corresponde a 3,81% do total de amostras. Quando considerados somente os casos positivos para vírus, as frequências observadas foram de 10,50% para o VPIH-3, 1,50% para o VPIH-1 e 0,54% para o VPIH-2 (12,54% para a soma dos três tipos). A Tabela 4 mostra a distribuição do número total de amostras colhidas, das amostras positivas para algum dos vírus pesquisados e do número de amostras positivas para cada tipo de parainfluenza, para cada ano de estudo.

TABELA 4 – Distribuição anual do total de casos de IRAs, casos de IRAs de etiologia viral e casos de IRAs pelos vírus parainfluenza 1, 2 ou 3, no período de estudo.

<b>Ano</b>	<b>Total de IRAs</b>	<b>IRAs virais</b>	<b>VPIH-1</b>	<b>VPIH-2</b>	<b>VPIH-3</b>
2001	559	210 (37,57%)	4	1	18
2002	467	152 (32,55%)	4	2	11
2003	530	130 (24,53%)	2	2	20
2004	396	151 (38,13%)	3	0	9
2005	484	172 (35,54%)	0	0	29
2006	634	122 (19,24%)	1	0	11
<b>Total</b>	<b>3070</b>	<b>933 (30,39%)</b>	<b>14</b>	<b>5</b>	<b>98</b>

### 4.3. As co-infecções virais

Dos 933 casos de IRAs virais, 34 (3,64% dos casos positivos, ou 1,10% do total de amostras) foram positivos para mais de um vírus. A associação entre o VSR e o vírus influenza A foi a mais encontrada, com 17 casos (0,55%). Os vírus parainfluenza estiveram presentes em associação com outros vírus em quatro casos (dois casos positivos para o VPIH-1 e para o VSR; um caso positivo para o VPIH-1, para o VSR e para o vírus influenza A; e um caso positivo para o VPIH-3, o vírus influenza A e o adenovírus), e em associações entre tipos virais em dois casos (VPIH-1 + VPIH-3 e VPIH-2 + VPIH-3). Na análise estatística dos casos de infecção por parainfluenza, as co-infecções aparecem somadas aos casos de mono-infecção, para cada um dos subtipos de parainfluenza. A Tabela 5 mostra a distribuição do total de amostras estudadas, de acordo com o resultado da imunofluorescência.

TABELA 5- Distribuição da população de estudo de acordo com o resultado da imunofluorescência.

<b>Imunofluorescência</b>	<b>Número</b>	<b>Percentual</b>
Negativa	2137	69,61%
VSR	548	17,85%
Influenza A	172	5,60%
<b>VPIH-3</b>	<b>98</b>	<b>3,19%</b>
Adenovírus	46	1,50%
VSR + influenza A	17	0,55%
Influenza B	16	0,52%
<b>VPIH-1</b>	<b>14</b>	<b>0,46%</b>
<b>VPIH-2</b>	<b>5</b>	<b>0,16%</b>
Adenovírus + influenza A	5	0,16%
VSR + adenovírus	3	0,10%
VSR + adenovírus + influenza A	2	0,07%
<b>VPIH-1 + VSR</b>	<b>2</b>	<b>0,07%</b>
Influenza A + influenza B	1	0,03%
<b>VPIH-1 + VPIH-3</b>	<b>1</b>	<b>0,03%</b>
<b>VPIH-2 + VPIH-3</b>	<b>1</b>	<b>0,03%</b>
<b>VPIH-1 + VSR + influenza A</b>	<b>1</b>	<b>0,03%</b>
<b>VPIH-3 + adenovírus + influenza A</b>	<b>1</b>	<b>0,03%</b>
Total	3070	100,00%

#### **4.4. Características epidemiológicas das IRAs por parainfluenza**

##### **4.4.1. Distribuição mensal das IRAs por parainfluenza**

Casos de infecção pelo vírus parainfluenza 3 (VPIH-3) foram observados em vários meses (com exceção do mês de maio), em ambos os semestres de cada ano do período de estudo. Para testar-se a existência de sazonalidade, foi utilizado o teste Qui-quadrado de Pearson para independência em tabelas de contingência, observando-se que existe uma relação de sazonalidade quanto ao percentual de positivos para o VPIH-3, havendo uma maior incidência nos meses de setembro, outubro e novembro, período em que foram detectados 57,00% dos casos ( $p = 0,0000$ ). Quanto ao VPIH-1 e ao VPIH-2, o pequeno número de amostras positivas impossibilita a análise estatística em relação à sazonalidade. A

distribuição das infecções por vírus parainfluenza no período de estudo é apresentada na Figura 6.

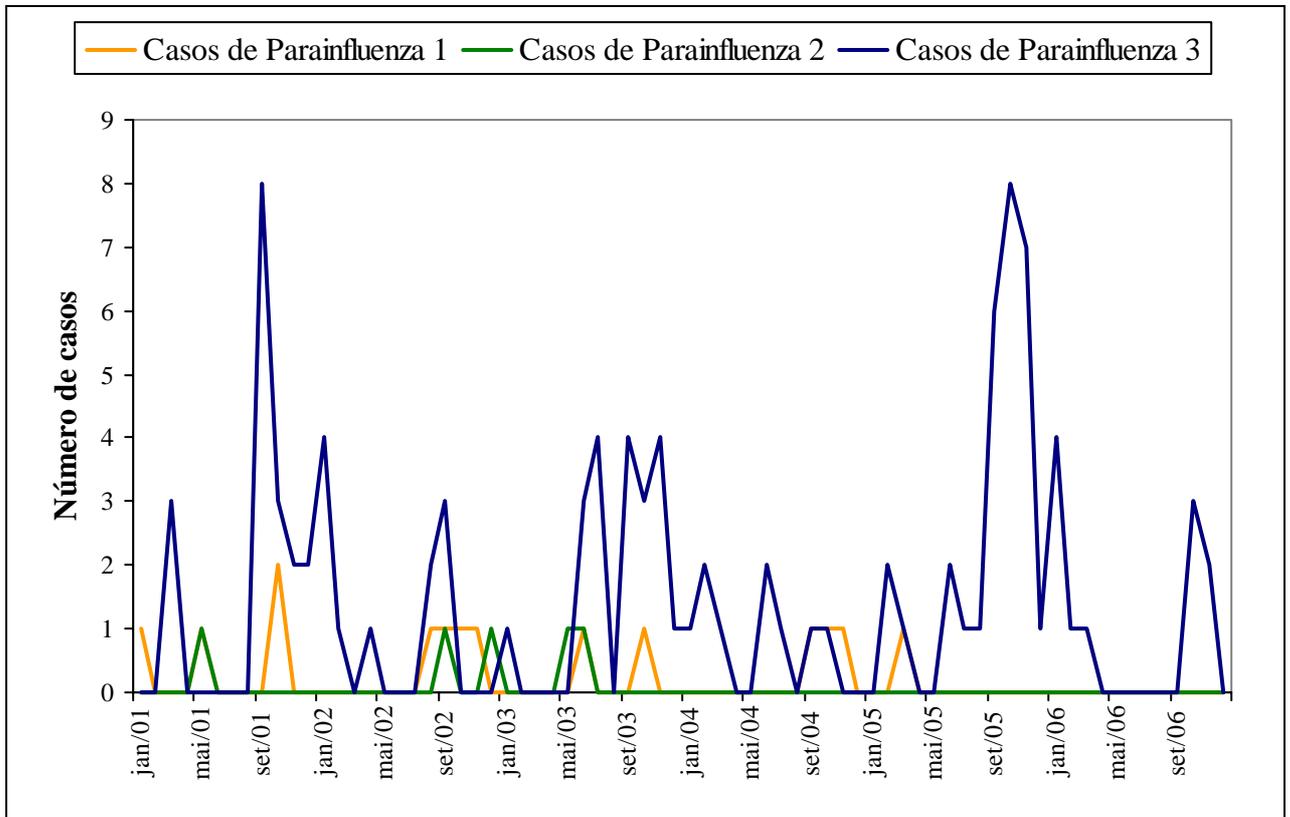


FIGURA 6 – Distribuição mensal das infecções por parainfluenza 1, 2 e 3 no período de estudo.

#### 4.4.2. Relação entre as infecções por parainfluenza e os índices pluviométricos

Para testar a relação dos índices pluviométricos, tanto com o número total de casos como com o número de casos positivos para o VPIH-3, foi utilizado o Coeficiente de Correlação de Spearman, tendo sido verificada uma correlação positiva estatisticamente significativa com o número total de casos ( $p = 0,0000$ ), e uma correlação negativa estatisticamente significativa com o número de casos positivos para o VPIH-3 ( $p = 0,0067$ ) (Tabela 6). Isto significa que a existência de chuvas se correlacionou com o aumento no número total de casos de IRAs, porém esteve relacionada à redução no número de casos de VPIH-3. A Figura 7 mostra a distribuição do total de casos de IRAs estudados e dos índices pluviométricos em Fortaleza. A Figura 8 mostra os percentuais mensais do total de IRAs e dos casos de VPIH-3, correlacionados com a média do índice pluviométrico de cada mês, durante os seis anos de estudo.

Quanto ao VPIH-1 e ao VPIH-2, novamente o pequeno número de amostras não permite a análise estatística quanto à relação com a pluviometria.

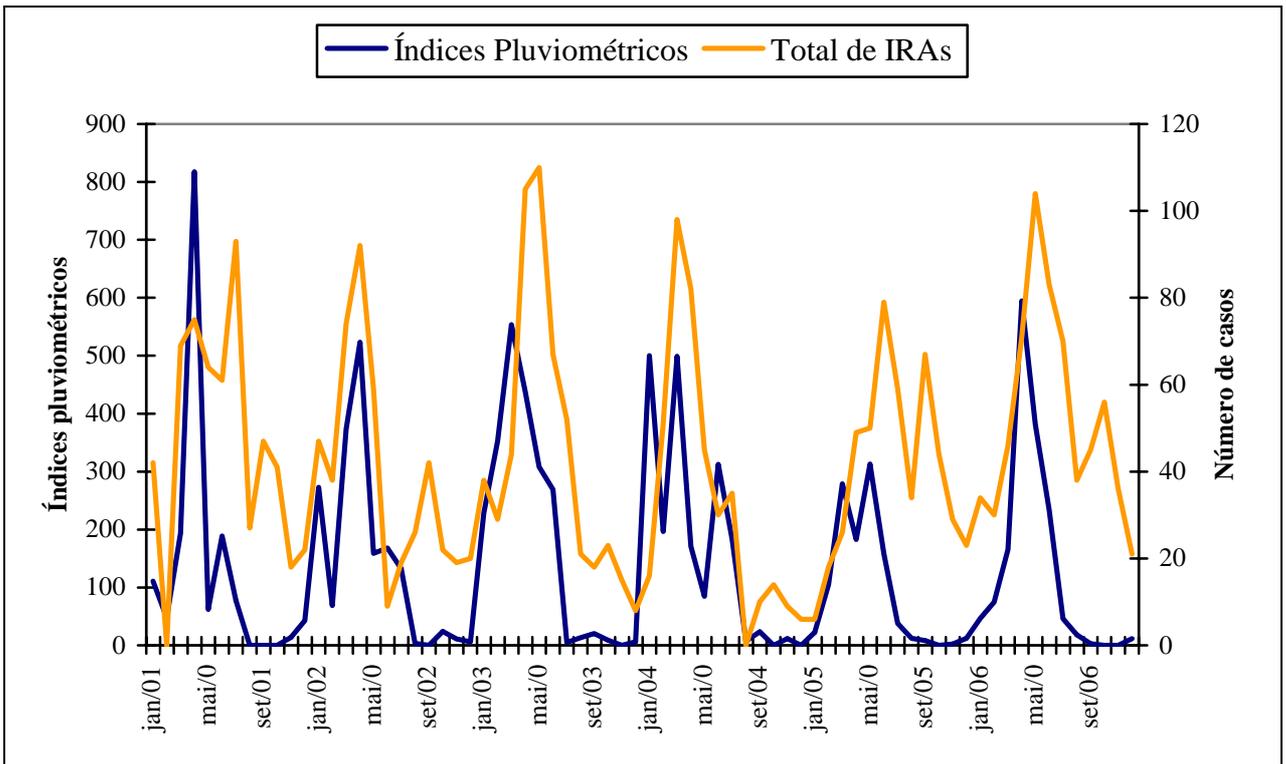


FIGURA 7 – Distribuição mensal do total de casos de IRAs estudados e dos índices pluviométricos na cidade de Fortaleza, nos seis anos de estudo (2001 a 2006).

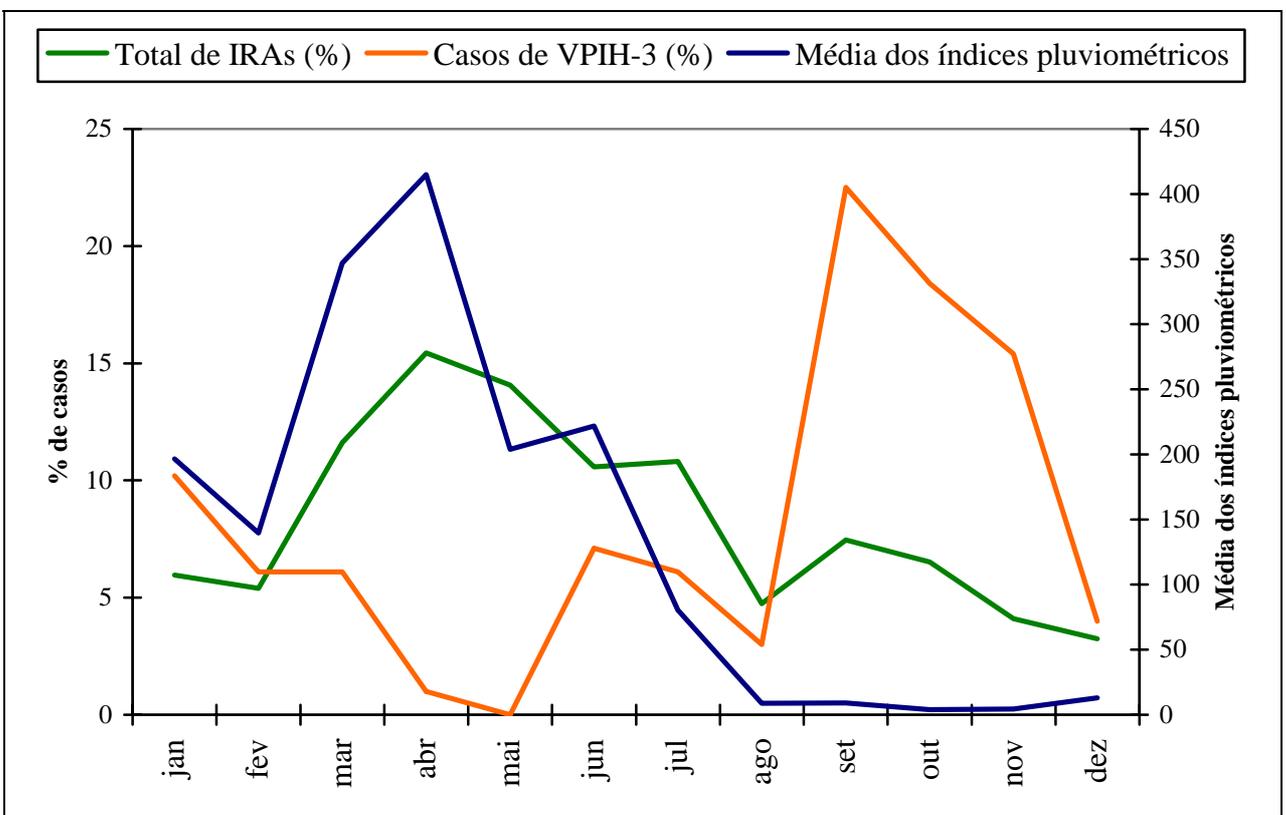


FIGURA 8 – Distribuição mensal dos percentuais de IRAs e de casos de VPIH-3, correlacionados com a média dos índices pluviométricos para cada mês, nos seis anos de estudo (2001 a 2006).

TABELA 6 – Correlação de monotonicidade entre os índices pluviométricos da cidade de Fortaleza – CE e o número total de casos investigados e de casos positivos para VPIH-3, nos seis anos de estudo (2001 a 2006).

<b>Especificação</b>	<b>Casos positivos para VPIH-3</b>	<b>Total de casos</b>
Correlação de Spearman	-0,321	0,471
Nível de significância	0,0067	0,0000
Número de casos	70	70

Na análise estatística das variáveis seguintes (sexo, idade, setor de atendimento, número de pessoas por cômodo, frequência a creche ou escola, aleitamento materno, presença de IRA em familiares, presença de fumantes no domicílio, presença de co-morbididades, sintomas apresentados, alterações ao exame físico, alterações ao raio-X de tórax, síndromes clínicas e tratamento instituído), foi realizada a comparação dos casos positivos para o VPIH-3 com os casos negativos para os vírus pesquisados, bem como com os grupos: casos positivos para VSR, para o vírus influenza A, para o adenovírus, para a infecção simultânea por VSR e influenza A, e casos positivos para outros vírus. Estes grupos foram utilizados por apresentarem números de casos suficientes para a análise estatística. O VPIH-1 e o VPIH-2, por apresentarem pequeno número de casos, foram analisados em conjunto com o vírus influenza B, no grupo de “outros vírus”.

#### **4.4.3. Sexo**

Houve mais infecções pelos vírus parainfluenza em crianças do sexo masculino: para o VPIH-3, houve 58 casos (59,18%) em meninos (+ 2 casos de co-infecção, em meninos), e 40 em meninas; para o VPIH-1, houve 10 casos (71,4%) em meninos, e 4 em meninas; e para o VPIH-2, houve 5 casos, todos em meninos. Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre a variável sexo e o tipo de vírus ( $p = 0,121$ ). No entanto, utilizando o Teste Exato de Fisher, podemos dizer que os percentuais de meninos e meninas com resultados positivos para o VPIH-3 não possuem diferença estatisticamente significativa na comparação com os casos negativos ( $p = 0,2598$ ). Foram encontradas mais meninas com resultados positivos para a presença simultânea de VSR e influenza A (72,22%) ( $p = 0,0188$ ), não havendo diferença significativa entre os percentuais de sexo na comparação com os demais grupos.

#### 4.4.4. Idade

Os vírus parainfluenza 3 foram detectados em pacientes de todos os grupos etários estudados. Utilizando-se o Teste t-Student para amostras independentes, podemos dizer que os pacientes positivos para o VPIH-3 são significativamente mais velhos que os positivos para o VSR ( $p = 0,0215$ ); e os positivos para o VPIH-3 são mais novos que os positivos para o vírus influenza A ( $p = 0,0000$ ) (Tabela 7). Não há diferença significativa entre as idades dos casos positivos para VPIH-3 e os casos negativos para os vírus investigados ( $p = 0,2577$ ). Nas demais comparações, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas.

TABELA 7 – Comparação das amostras positivas para VPIH-3 com as negativas e as positivas para os demais vírus estudados em relação à média de idades dos pacientes (em meses), na população do estudo.

<b>Imunofluorescência</b>	<b>n</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>100</b>	<b>20</b>	<b>21,26</b>	--
Negativa	2135	23	26,25	0,2577
<b>VSR</b>	<b>550</b>	<b>15</b>	<b>15,79</b>	<b>0,0215</b>
Adenovírus	57	23	23,16	0,4091
<b>Influenza A</b>	<b>173</b>	<b>34</b>	<b>34,71</b>	<b>0,0000</b>
VSR + influenza A	18	28	19,42	0,1515
Outros	35	27	29,75	0,2298

#### 4.4.5. Setor de atendimento dos pacientes

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre as variáveis setor de atendimento e tipo de vírus ( $p = 0,0000$ ). Para testar a diferença de percentual de acometidos em relação ao local de atendimento, foi utilizado o Teste Qui-quadrado de Pearson. Em comparação com os casos de VPIH-3, foram observados mais pacientes na enfermaria ou UTI entre os casos positivos para o VSR ( $p = 0,0223$ ) e para a co-infecção por VSR e influenza A ( $p = 0,0001$ ); e mais pacientes atendidos no ambulatório para os casos positivos para adenovírus ( $p = 0,0288$ ). Não foi observada diferença estatisticamente significativa com relação ao local de atendimento na comparação entre os pacientes positivos para VPIH-3 e os negativos para os vírus investigados ( $p = 0,945$ ) (Tabela 8).

Tabela 8 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao setor de atendimento dos pacientes, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Ambulatório (n / %)</b>	<b>Emergência (n / %)</b>	<b>Observação (n / %)</b>	<b>Enfermaria/UTI (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>28 (28,00)</b>	<b>60 (60,00)</b>	<b>3 (3,00)</b>	<b>9 (9,00)</b>	<b>100</b>	--
Negativo	642 (30,14)	1214 (57,00)	63 (2,96)	211 (9,91)	2130	0,9450
<b>VSR</b>	<b>114 (20,77)</b>	<b>294 (53,55)</b>	<b>25 (4,55)</b>	<b>116 (21,13)</b>	<b>549</b>	<b>0,0223</b>
<b>Adenovírus</b>	<b>29 (50,88)</b>	<b>21 (36,84)</b>	<b>2 (3,51)</b>	<b>5 (8,77)</b>	<b>57</b>	<b>0,0288</b>
Influenza A	56 (32,37)	95 (54,91)	9 (5,20)	13 (7,51)	173	0,6697
<b>VSR +</b>						
<b>influenza A</b>	<b>11 (61,11)</b>	<b>1 (5,56)</b>	--	<b>6 (33,33)</b>	<b>18</b>	<b>0,0001</b>
Outros	13 (37,14)	14 (40,00)	--	8 (22,86)	35	0,0548
<b>Total<sup>(*)</sup></b>	<b>893 (29,16)</b>	<b>1699 (55,49)</b>	<b>102 (3,33)</b>	<b>368 (12,02)</b>	<b>3062<sup>(*)</sup></b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

#### **4.4.6. Número de pessoas por cômodo**

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre as variáveis: número de pessoas por cômodo e tipo de vírus identificado ( $p = 0,0126$ ). Para testar a diferença de percentual de acometidos em relação ao número de pessoas por cômodo, foi utilizado o Teste Qui-quadrado de Pearson. O número de pessoas por cômodo é maior entre os positivos para o VPIH-3 em relação aos seguintes grupos: casos negativos para os vírus pesquisados ( $p = 0,0117$ ), casos positivos para VSR ( $p = 0,0178$ ), e positivos para adenovírus ( $p = 0,0233$ ); e é levemente superior ao número dos casos positivos para influenza A ( $p = 0,0794$ ) e para outros vírus ( $p = 0,0785$ ), não havendo diferença na comparação com a infecção simultânea por VSR e influenza A.

#### **4.4.7. Freqüência à creche ou à escola**

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre as variáveis: freqüentar creche ou escola e tipo de vírus identificado ( $p = 0,0000$ ). Utilizando o Teste Exato de Fisher, podemos dizer que o percentual de casos de crianças que freqüentam creche ou escola, entre as positivas para o VPIH-3 (15,31%), foi inferior ao percentual entre os casos positivos para influenza A (31,33%) ( $p = 0,0052$ ), e levemente superior ao percentual entre os positivos para VSR (9,09%) ( $p = 0,0679$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao percentual nos casos negativos, nem em relação aos demais grupos analisados.

#### **4.4.8. Aleitamento materno**

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre as variáveis: tempo de aleitamento materno e tipo de vírus identificado ( $p = 0,0022$ ). Para testar a diferença de percentual de acometidos em relação ao aleitamento materno, também foi utilizado o Teste Qui-quadrado de Pearson, porém não foram identificadas diferenças significativas entre os percentuais de VPIH-3 e nenhum dos outros grupos, sendo essa relação significativa apresentada na comparação entre outros vírus, e não na comparação com o VPIH-3.

#### **4.4.9. Presença de IRA em familiares**

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre as variáveis: presença de IRA na família e tipo de vírus identificado ( $p = 0,0610$ ). Utilizando o Teste Exato de Fisher, podemos dizer que os percentuais de crianças que possuem casos de IRA na família com resultados positivos para o VPIH-3 (42,86%) são

inferiores na comparação com os casos negativos (54,40%) ( $p = 0,0291$ ), com os casos positivos para VSR (58,17%) ( $p = 0,0057$ ) e com os casos positivos para influenza A (61,99%) ( $p = 0,0033$ ), sendo levemente inferiores aos dos casos positivos para adenovírus ( $p = 0,0963$ ). Não foi observada diferença na comparação com os percentuais dos demais grupos.

#### **4.4.10. Presença de fumantes no domicílio**

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre as variáveis: presença de fumantes no domicílio e tipo de vírus identificado ( $p = 0,0108$ ). Utilizando o Teste Exato de Fisher, podemos dizer que os percentuais dos pacientes em que há fumantes no domicílio com resultados positivos para o VPIH-3 (39,80%) apresentam-se inferiores aos dos casos positivos para VSR (50,80%) ( $p = 0,0476$ ), e levemente inferiores aos dos casos positivos simultaneamente para VSR e influenza A (72,73%) ( $p = 0,0531$ ). Não foi observada diferença estatisticamente significativa na comparação com os casos negativos ( $p = 0,4061$ ) nem na comparação com os percentuais dos demais grupos.

#### **4.4.11. Presença de co-morbidades**

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre a presença de cardiopatia e o tipo de vírus identificado ( $p = 0,0015$ ); e entre a presença de asma e o tipo de vírus ( $p = 0,0015$ ); e que existe uma discreta relação entre a presença de prematuridade e tipo de vírus identificado ( $p = 0,1073$ ). Utilizou-se novamente o Teste Qui-quadrado de Pearson para analisar as diferenças de percentuais para cada uma destas co-morbidades entre os casos positivos para o VPIH-3, na comparação com os outros grupos.

Verificou-se que o percentual de cardiopatia entre os casos positivos para o VPIH-3 (2,00%) foi superior ao observado entre os casos de influenza A (0,59%) ( $p = 0,0251$ ), também sem diferença com relação ao percentual nos casos negativos (1,08%) ( $p = 0,2970$ ) ou na comparação com os demais grupos. Com relação à presença de asma, observou-se uma frequência superior entre os casos de VPIH-3 (7,00%) em relação aos casos positivos para o VSR (1,82%) ( $p = 0,0065$ ), porém também sem diferença significativa na comparação com o percentual nos casos negativos (3,82%) ( $p = 0,1970$ ) nem com os outros grupos.

Observou-se que o percentual de pacientes prematuros entre os pacientes positivos para o VPIH-3 (13%) foi superior ao dos pacientes positivos para o vírus influenza A (2,96%) ( $p = 0,0045$ ), sem diferença significativa na comparação com os casos negativos

para os vírus pesquisados, onde foram observados 8,34% de prematuros ( $p = 0,2352$ ). Também não houve diferença significativa na comparação com os outros grupos estudados.

#### 4.4.12. Sintomas apresentados

Com relação aos principais sintomas apresentados pelos pacientes, para cada um deles (coriza, obstrução nasal, espirros, tosse cheia ou seca, dispnéia, febre, vômitos e/ou diarreia, anorexia, conjuntivite, otite, cianose, convulsões e exantema), o grupo de pacientes positivos para o VPIH-3 foi analisado em comparação com cada um dos grupos: casos negativos para os vírus pesquisados, casos positivos para VSR, positivos para influenza A, para adenovírus, para VSR e influenza A simultaneamente e para outros vírus.

A frequência dos sintomas apresentados pelos pacientes positivos para VPIH-1, VPIH-2 e VPIH-3 é apresentada na Tabela 9. Nesta tabela, não estão incluídos os casos de co-infecções.

TABELA 9 – Frequência dos sintomas apresentados pelos pacientes positivos para os vírus: VPIH-1, VPIH-2 e VPIH-3 na população do estudo (não considerando as co-infecções).

Sintomas apresentados	Casos de VPIH-1	Casos de VPIH-2	Casos de VPIH-3
	(n / %)	(n / %)	(n / %)
Coriza	9 (64,29)	5 (100,00)	89 (90,82)
Tosse cheia ou seca	13 (92,86)	5 (100,00)	84 (85,71)
Febre	10 (71,43)	5 (100,00)	87 (88,78)
Dispnéia	5 (35,71)	3 (60,00)	50 (51,02)
Obstrução nasal	5 (35,71)	4 (80,00)	43 (43,88)
Vômitos/diarreia	6 (42,87)	2 (40,00)	57 (58,16)
Espirros	4 (28,57)	2 (40,00)	43 (43,88)
Anorexia	6 (42,87)	3 (60,00)	42 (42,86)
Conjuntivite	1 (7,14)	1 (20,00)	7 (7,14)
Otite	1 (7,14)	1 (20,00)	3 (3,06)
Cianose	--	1 (20,00)	3 (3,06)
Convulsões	1 (7,14)	--	1 (1,02)
Exantema	--	--	1 (1,02)
Total	14 (100,00)	5 (100,00)	98 (100,00)

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre as variáveis: presença de tosse e tipo de vírus identificado ( $p = 0,0000$ ). Utilizando novamente o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que o percentual dos pacientes que apresentam tosse com resultados positivos para o VPIH-3 é inferior ao percentual verificado nos casos negativos ( $p = 0,0353$ ), assim como na comparação com os casos positivos para o VSR ( $p = 0,0001$ ), não havendo diferença estatisticamente significativa nos percentuais para os demais grupos (Tabela 10).

TABELA 10 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença de tosse, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Ausência de tosse (n / %)</b>	<b>Tosse seca (n / %)</b>	<b>Tosse cheia (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>14 (14,00)</b>	<b>38 (38,00)</b>	<b>48 (48,00)</b>	<b>100</b>	--
<b>Negativo</b>	<b>165 (7,76)</b>	<b>728 (34,23)</b>	<b>1234 (58,02)</b>	<b>2127</b>	<b>0,0353</b>
<b>VSR</b>	<b>26 (4,74)</b>	<b>305 (55,56)</b>	<b>218 (39,71)</b>	<b>549</b>	<b>0,0001</b>
Adenovírus	8 (14,04)	13 (22,81)	36 (63,16)	57	0,1263
Influenza A	22 (12,72)	55 (31,79)	96 (55,49)	173	0,4794
VSR + influenza A	2 (11,11)	10 (55,56)	6 (33,33)	18	0,3741
Outros	2 (5,71)	10 (28,57)	23 (65,71)	35	0,1575
<b>Total (*)</b>	<b>239 (7,81)</b>	<b>1159 (37,89)</b>	<b>1661 (54,30)</b>	<b>3059 (*)</b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Para a análise dos sintomas: obstrução nasal, dispnéia, febre, anorexia, conjuntivite, otite, cianose, convulsões e exantema, foi utilizado o Teste Qui-quadrado de Pearson, podendo-se dizer que existe relação entre a presença de cada um destes sintomas e o tipo de vírus identificado. Em seguida, foi utilizado o Teste Exato de Fisher, para a comparação entre os percentuais de cada sintoma entre os casos positivos para o VPIH-3 e os demais grupos.

Observou-se que o percentual de pacientes que apresentam obstrução nasal com resultados positivos para o VPIH-3 (43,00%) é inferior ao percentual verificado nos casos

negativos (54,47%) ( $p = 0,0305$ ), porém não apresenta diferenças estatisticamente significativas em relação aos outros grupos.

Podemos dizer que o percentual de pacientes que apresentam dispnéia com resultados positivos para o VPIH-3 é significativamente inferior ao percentual de pacientes com dispnéia positivos para o VSR ( $p = 0,0000$ ) e levemente inferior ao percentual verificado nos casos negativos ( $p = 0,1197$ ), não havendo diferença estatisticamente significativa com relação aos percentuais dos demais grupos (Tabela 11).

TABELA 11 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença de dispnéia, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Ausência de dispnéia (n / %)</b>	<b>Presença de dispnéia (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>50 (50,00)</b>	<b>50 (50,00)</b>	<b>100</b>	<b>--</b>
Negativo	868 (41,77)	1210 (58,23)	2078	0,1197
<b>VSR</b>	<b>140 (25,45)</b>	<b>410 (74,55)</b>	<b>550</b>	<b>0,0000</b>
Adenovírus	31 (55,36)	25 (44,64)	56	0,6166
Influenza A	104 (60,12)	69 (39,88)	173	0,1284
VSR + influenza A	8 (44,44)	10 (55,56)	18	0,7992
Outros	19 (54,29)	16 (45,71)	35	0,6982
<b>Total</b>	<b>1220 (40,53)</b>	<b>1790 (59,47)</b>	<b>3010 (*)</b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Verificou-se que o percentual de pacientes que apresentam febre com resultados positivos para o VPIH-3 (89,00%) é levemente superior ao percentual verificado nos casos negativos (82,55%) ( $p = 0,1036$ ), e levemente inferior ao percentual de pacientes que apresentam febre com resultados positivos para o vírus influenza A (94,80%) ( $p = 0,0927$ ), não havendo diferença estatisticamente significativa nos percentuais dos demais grupos.

Observou-se que o percentual de pacientes com anorexia que tem resultados positivos para o VPIH-3 não apresenta diferença estatisticamente significativa em relação ao percentual verificado nos casos negativos para os vírus investigados ( $p = 0,4650$ ), assim como na comparação com os demais grupos, sendo a diferença de percentual verificada entre outros vírus, e não na comparação com o VPIH-3.

Foi observado que o percentual de crianças que apresentam conjuntivite com resultados positivos para o VPIH-3 (7,00%) é significativamente superior na comparação com os positivos para os vírus VSR (1,84%) ( $p = 0,0091$ ) e com os positivos para influenza A (1,76%) ( $p = 0,0420$ ), sendo este percentual levemente superior ao observado nos casos negativos para os vírus pesquisados (3,62%) ( $p = 0,0991$ ), e levemente inferior ao percentual de pacientes que apresentam conjuntivite com resultados positivos para o adenovírus (16,36%) ( $p = 0,0960$ ). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na comparação com os demais grupos.

Verificou-se que o percentual de crianças que apresentam otite com resultados positivos para o VPIH-3 (3,00%) não possui diferença estatisticamente significativa na comparação com os casos negativos (4,49% de otite) ( $p = 0,4815$ ), nem na comparação com os demais vírus, embora seja levemente inferior ao percentual dos pacientes com otite no grupo de “outros vírus” ( $p = 0,0740$ ). De modo semelhante, observamos que o percentual de pacientes que apresentam cianose com resultados positivos para o VPIH-3 não possui diferença estatisticamente significativa quando comparado com o percentual verificado nos casos negativos para os vírus pesquisados ( $p = 1,0000$ ), nem quando comparado com os demais vírus, sendo a diferença percentual verificada entre outros vírus, e não na comparação com o VPIH-3. O mesmo ocorre em relação à presença de exantema, onde o percentual de pacientes com resultados positivos para o VPIH-3 não possui diferença estatisticamente significativa na comparação com os casos negativos ( $p = 1,0000$ ), assim como na comparação com os outros grupos.

Verificou-se que o percentual de pacientes que apresentam convulsões com resultados positivos para o VPIH-3 (1,00%) é levemente inferior ao percentual dos casos positivos para o vírus influenza A (5,29%) ( $p = 0,0970$ ), e não possui diferença estatisticamente significativa quando comparado com os casos negativos (2,07%) ( $p = 0,7203$ ).

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que não existe relação entre as variáveis presença de coriza e tipo de vírus identificado ( $p = 0,3089$ ). Pelo mesmo método, observamos que não houve relação estatisticamente significativa entre a presença de espirros e o tipo de vírus identificado ( $p = 0,1443$ ), bem como entre a presença de vômitos e/ou diarreia e o tipo de vírus ( $p = 0,8439$ ).

Em resumo, na análise dos sintomas, os pacientes com resultados positivos para o VPIH-3 apresentaram significativamente menos dispnéia que os casos positivos para o VSR; menos tosse que os casos de VSR e que os casos negativos; menos obstrução nasal que os casos negativos; e mais conjuntivite que os casos de VSR ou de influenza A. Não houve

diferenças significativas na comparação com os demais grupos com relação aos sintomas: coriza, espirros, vômitos/diarréia, anorexia, otite, cianose, exantema; e houve diferenças discretas com relação à manifestação de febre e convulsões.

#### **4.4.13. Alterações ao exame físico**

Na análise da ausculta pulmonar, utilizando-se o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre esta variável e o tipo de vírus identificado ( $p = 0,0000$ ). Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, observou-se uma maior presença de sibilos, roncos e estertores nos casos positivos para o VSR do que nos positivos para o VPIH-3 ( $p = 0,0010$ ); e houve uma maior presença de sibilos e roncos nos casos positivos para o VPIH-3 do que nos casos de: adenovírus ( $p = 0,0087$ ), influenza A ( $p = 0,0174$ ), e do que na co-infecção VSR-influenza A ( $p = 0,0174$ ). Os percentuais de pacientes que apresentam diferentes tipos de ausculta pulmonar com resultados positivos para o VPIH-3 não possuem diferença estatisticamente significativa em relação aos percentuais verificados nos casos negativos para os vírus pesquisados ( $p = 0,1469$ ), nem na comparação com outros vírus (Tabela 13).

Quanto à presença de tiragem intercostal, utilizando-se o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre esta variável e o tipo de vírus identificado ( $p = 0,0003$ ). Utilizando o Teste Exato de Fisher, podemos dizer que o percentual de pacientes que apresentam tiragem intercostal entre os que são positivos para o VPIH-3 é inferior ao percentual apresentado pelos casos positivos para VSR ( $p = 0,0166$ ), e para a co-infecção VSR – influenza A ( $p = 0,0091$ ), e não possui diferença estatisticamente significativa na comparação com o percentual entre os negativos para os vírus investigados ( $p = 0,1767$ ), nem na comparação com os demais grupos investigados (Tabela 12).

TABELA 12 – Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença de tiragem intercostal, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Ausência de tiragem (n / %)</b>	<b>Presença de tiragem (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>76 (76,77)</b>	<b>23 (23,23)</b>	<b>99</b>	<b>--</b>
Negativo	1492 (70,01)	639 (29,99)	2131	0,1767
<b>VSR</b>	<b>235 (64,03)</b>	<b>132 (35,97)</b>	<b>367</b>	<b>0,0166</b>
Adenovírus	46 (80,70)	11 (19,30)	57	0,6880
Influenza A	138 (79,77)	35 (20,23)	173	0,6447
<b>VSR + influenza A</b>	<b>8 (44,44)</b>	<b>10 (55,56)</b>	<b>18</b>	<b>0,0091</b>
Outros	22 (66,67)	11 (33,33)	33	0,2588
<b>Total (*)</b>	<b>2017 (70,08)</b>	<b>861 (29,92)</b>	<b>2878 (*)</b>	<b>0,0003</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Em resumo, com relação ao exame físico, os pacientes positivos para o VPIH-3 apresentaram significativamente menos tiragem intercostal que os positivos para o VSR; e na ausculta pulmonar, significativamente menos estertores que os positivos para o VSR, e mais roncosp e sibilos que os positivos para o vírus influenza A. Não houve diferenças nestes parâmetros na comparação com os casos negativos para os vírus pesquisados.

TABELA 13 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à ausculta pulmonar, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Ausculta normal (n / %)</b>	<b>Sibilos ou roncos (n / %)</b>	<b>Estertores (n / %)</b>	<b>Sibilos + roncos + estertores (n / %)</b>	<b>Outras alterações (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>34 (35,05)</b>	<b>48 (49,48)</b>	<b>11 (11,34)</b>	<b>4 (4,12)</b>	--	<b>97</b>	--
Negativos	829 (39,33)	820 (38,90)	244 (11,57)	185 (8,78)	30 (1,42%)	2108	0,1469
<b>VSR</b>	<b>130 (23,99)</b>	<b>213 (39,30)</b>	<b>102 (18,82)</b>	<b>93 (17,16)</b>	<b>4 (0,74%)</b>	<b>542</b>	<b>0,0010</b>
<b>Adenovírus</b>	<b>33 (60,00)</b>	<b>13 (23,64)</b>	<b>8 (14,55)</b>	<b>1 (1,82)</b>	--	<b>55</b>	<b>0,0087</b>
<b>Influenza A</b>	<b>97 (56,73)</b>	<b>48 (28,07)</b>	<b>14 (8,19)</b>	<b>10 (5,85)</b>	<b>2 (1,17%)</b>	<b>171</b>	<b>0,0030</b>
<b>VSR + influenza A</b>	<b>7 (38,89)</b>	<b>3 (16,67)</b>	<b>6 (33,33)</b>	<b>2 (11,11)</b>	--	<b>18</b>	<b>0,0174</b>
Outros	16 (48,48)	9 (27,27)	7 (21,21)	1 (3,03)	--	33	0,1252
<b>Total (*)</b>	<b>1146 (37,90)</b>	<b>1154 (38,16)</b>	<b>392 (12,96)</b>	<b>296 (9,79)</b>	<b>36 (1,19%)</b>	<b>3024 (*)</b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

#### 4.4.14. Alterações ao raio-X de tórax

Na análise dos padrões apresentados pelos pacientes ao raio-X de tórax, a presença das alterações mais observadas (condensação, infiltrado intersticial e hiperinsuflação) foi comparada entre os pacientes positivos para o VPIH-3, os casos negativos para os vírus pesquisados, os positivos para o VSR, influenza A, adenovírus, para VSR e influenza A simultaneamente, e para outros vírus. Foi utilizado o Teste Qui-quadrado de Pearson para constatar a existência de relação entre as variáveis raio-X de tórax e tipo de vírus identificado ( $p = 0,0003$ ). Em seguida, foi utilizado o Teste Exato de Fisher, verificando-se que o percentual de pacientes que apresentam raio-X de tórax normal com resultados positivos para o VPIH-3 é superior ao percentual verificado nos casos negativos para os vírus investigados ( $p = 0,0171$ ), superior aos percentuais dos casos positivos para o VSR ( $p = 0,0002$ ), e levemente superior ao dos positivos para VSR e influenza A simultaneamente ( $p = 0,0674$ ) (Tabela 14). Na análise da presença de cada uma das alterações analisadas (condensação, hiperinsuflação, infiltrado intersticial), não foram observadas diferenças na comparação dos positivos para o VPIH-3 com os demais grupos.

TABELA 14 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao raio-X de tórax, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Raio-X normal (n / %)</b>	<b>Presença de alterações radiológicas (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>18 (45,00)</b>	<b>22 (55,00)</b>	<b>40</b>	<b>--</b>
<b>Negativo</b>	<b>234 (26,62)</b>	<b>645 (73,38)</b>	<b>879</b>	<b>0,0171</b>
<b>VSR</b>	<b>48 (16,78)</b>	<b>238 (83,22)</b>	<b>286</b>	<b>0,0002</b>
Adenovírus	8 (40,00)	12 (60,00)	20	0,7867
Influenza A	17 (34,00)	33 (66,00)	50	0,3844
VSR + influenza A	1 (10,00)	9 (90,00)	10	0,0674
Outros	3 (21,43)	11 (78,57)	14	0,2023
<b>Total (*)</b>	<b>329 (25,33)</b>	<b>970 (74,67)</b>	<b>1299 (*)</b>	<b>0,0003</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

#### 4.4.15. Síndromes clínicas

As IVAS constituíram a síndrome clínica mais freqüente na população de estudo, acometendo, isoladamente ou em associação com sintomas de asma, 1745 (56,84%) das 3070 crianças incluídas na pesquisa. Dentre as crianças com diagnóstico clínico de IVAS, o VPIH-3 foi identificado em 65 casos; o VPIH-1, em 11; e o VPIH-2, em 2 casos. Os vírus parainfluenza também foram identificados em crianças com diagnóstico clínico de bronquiolite viral, pneumonia, bronquite e sintomas de asma (Tabela 15).

TABELA 15 – Distribuição dos casos positivos para parainfluenza 1, 2 ou 3 (não considerando as co-infecções), de acordo com o diagnóstico clínico, na população do estudo.

<b>Diagnóstico clínico</b>	<b>VPIH -1</b>	<b>VPIH -2</b>	<b>VPIH -3</b>
IVAS	6 (42,86%)	2 (40,00%)	48 (48,98%)
IVAS + sintomas de asma	2 (14,29%)	--	14 (14,29%)
Bronquiolite viral aguda	2 (14,29%)	--	15 (15,31%)
Pneumonia	2 (14,29%)	1 (20,00%)	14 (14,29%)
Sintomas de asma	1 (7,14%)	--	4 (4,08%)
Bronquite			
/laringotraqueobronquite	--	1 (20,00%)	1 (1,02%)
Pneumonia + bronquiolite	1 (7,14%)	1 (20,00%)	1 (1,02%)
Sem diagnóstico	--	--	1 (1,02%)
<b>Total</b>	<b>14 (100,00%)</b>	<b>5 (100,00%)</b>	<b>98 (100,00%)</b>

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre as variáveis: diagnóstico clínico de IVAS e tipo de vírus identificado ( $p = 0,0000$ ); diagnóstico de pneumonia e tipo de vírus ( $p = 0,0000$ ); e diagnóstico de bronquiolite viral aguda e tipo de vírus ( $p = 0,0000$ ). Em seguida, foi utilizado o Teste Exato de Fisher para avaliar as diferenças entre os percentuais de cada um destes diagnósticos entre os grupos de vírus.

Verificou-se que o percentual de crianças com diagnóstico de IVAS entre os casos positivos para o VPIH-3 é superior ao encontrado nos casos positivos para VSR ( $p = 0,0000$ ), e inferior ao apresentado nos resultados positivos para o vírus influenza A ( $p = 0,0285$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa na comparação com o percentual nos casos negativos para os vírus pesquisados ( $p = 0,6020$ ), nem na comparação com os demais grupos investigados (Tabela 16).

TABELA 16 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença do diagnóstico de IVAS, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Diagnóstico de IVAS (n / %)</b>	<b>Outros diagnósticos (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>61 (61,62)</b>	<b>38 (38,38)</b>	<b>99</b>	<b>--</b>
Negativo	1242 (58,42)	884 (41,58)	2126	0,6020
<b>VSR</b>	<b>199 (36,51)</b>	<b>346 (63,49)</b>	<b>545</b>	<b>0,0000</b>
Adenovírus	40 (70,18)	17 (29,82)	57	0,3018
<b>Influenza A</b>	<b>129 (74,57)</b>	<b>44 (25,43)</b>	<b>173</b>	<b>0,0285</b>
VSR + influenza A	8 (44,44)	10 (55,56)	18	0,1993
Outros	20 (57,14)	15 (42,86)	35	0,6900
<b>Total (*)</b>	<b>1699 (55,65)</b>	<b>1354 (44,35)</b>	<b>3053 (*)</b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Observou-se também que o percentual de pacientes com pneumonia entre os positivos para o VPIH-3 é significativamente inferior ao percentual observado nos casos positivos para o VSR ( $p = 0,0007$ ) e na co-infecção VSR + influenza A ( $p = 0,0022$ ), e levemente inferior ao percentual verificado nos casos negativos ( $p = 0,0842$ ). Na comparação com os demais grupos, não foram observadas diferenças significativas (Tabela 17).

TABELA 17 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença do diagnóstico de pneumonia, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Diagnóstico de pneumonia (n / %)</b>	<b>Outros diagnósticos (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>15 (15,15)</b>	<b>84 (84,85)</b>	<b>99</b>	<b>--</b>
Negativo	484 (22,77)	1642 (77,23)	2126	0,0842
<b>VSR</b>	<b>173 (31,74)</b>	<b>372 (68,26)</b>	<b>545</b>	<b>0,0007</b>
Adenovírus	10 (17,54)	47 (82,46)	57	0,8211
Influenza A	23 (13,29)	150 (86,71)	173	0,7175
<b>VSR + influenza A</b>	<b>9 (50,00)</b>	<b>9 (50,00)</b>	<b>18</b>	<b>0,0022</b>
Outros	8 (22,86)	27 (77,14)	35	0,3062
<b>Total (*)</b>	<b>722 (23,65)</b>	<b>2331 (76,35)</b>	<b>3053 (*)</b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Com relação ao diagnóstico de bronquiolite viral aguda (BVA), verificou-se que o percentual de crianças com BVA com resultados positivos para o VPIH-3 é significativamente inferior ao percentual observado nos casos positivos para o VSR ( $p = 0,0068$ ), sendo superior ao percentual verificado nos casos positivos para influenza A ( $p = 0,0218$ ) e levemente superior ao encontrado nos casos negativos ( $p = 0,0608$ ). Não foram observadas diferenças significativas na comparação do VPIH-3 com os demais grupos analisados (Tabela 18).

TABELA 18 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação à presença do diagnóstico de bronquiolite viral aguda (BVA), na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Diagnóstico de BVA</b> (n / %)	<b>Outros diagnósticos</b> (n / %)	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>16 (16,16)</b>	<b>83 (83,84)</b>	<b>99</b>	<b>--</b>
Negativo	213 (10,02)	1913 (89,98)	2126	0,0608
<b>VSR</b>	<b>160 (29,36)</b>	<b>385 (70,64)</b>	<b>545</b>	<b>0,0068</b>
Adenovírus	5 (8,77)	52 (91,23)	57	0,2301
<b>Influenza A</b>	<b>12 (6,94)</b>	<b>161 (93,06)</b>	<b>173</b>	<b>0,0218</b>
VSR + influenza A	2 (11,11)	16 (88,89)	18	0,7355
Outros	3 (8,57)	32 (91,43)	35	0,3992
<b>Total (*)</b>	<b>411 (13,46)</b>	<b>2642 (86,54)</b>	<b>3053 (*)</b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Utilizando-se o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que não existe relação entre os diagnósticos de bronquite ou laringotraqueobronquite e o tipo de vírus identificado ( $p = 0,8997$ ).

Em resumo, quanto ao diagnóstico clínico, os pacientes positivos para o VPIH-3 apresentaram, significativamente, mais diagnósticos de IVAS que os positivos para VSR; menos diagnósticos de IVAS que os casos de influenza A; mais bronquiolites que os casos de influenza A; menos bronquiolites que os casos de VSR; e menos pneumonias que os casos de VSR ou de VSR + influenza A.

#### 4.4.16. Tratamento instituído

Com relação ao tratamento instituído pelo médico que atendia ao paciente, foram analisados o uso de antibióticos, corticóides, aerossol e/ou salbutamol e oxigenioterapia. Para cada um destes tratamentos, os casos positivos para o VPIH-3 foram comparados aos casos negativos, aos casos positivos para VSR, para influenza A, para adenovírus, para VSR e influenza A simultaneamente e para o grupo dos outros vírus pesquisados.

Utilizando o Teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que existe relação entre as variáveis: utilização de antibiótico e tipo de vírus identificado ( $p = 0,0000$ ); entre a utilização de corticóides e o tipo de vírus ( $p = 0,0000$ ); entre o uso de oxigenioterapia e o tipo

de vírus ( $p = 0,0000$ ); e entre o uso de aerossol/salbutamol e o tipo de vírus ( $p = 0,0000$ ). Em seguida, utilizou-se o Teste Exato de Fisher para avaliar as diferenças de percentual de cada tipo de terapêutica, entre os grupos de vírus.

Observou-se que o percentual de utilização de antibiótico nos casos positivos para o VPIH-3 foi menor que os observados nos casos positivos para VSR ( $p = 0,0014$ ) e para a co-infecção VSR + influenza A ( $p = 0,0100$ ), porém não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao verificado nos casos negativos ( $p = 0,3016$ ). Na comparação com os demais grupos, não foram observadas diferenças significativas (Tabela 19).

TABELA 19 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao tratamento utilizando antibiótico, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Não utilizaram antibiótico (n / %)</b>	<b>Utilizaram antibiótico (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>74 (76,29)</b>	<b>23 (23,71)</b>	<b>97</b>	<b>--</b>
Negativo	1417 (70,99)	579 (29,01)	1996	0,3016
<b>VSR</b>	<b>313 (59,28)</b>	<b>215 (40,72)</b>	<b>528</b>	<b>0,0014</b>
Adenovírus	39 (68,42)	18 (31,58)	57	0,3458
Influenza A	132 (77,65)	38 (22,35)	170	0,8797
<b>VSR + influenza A</b>	<b>8 (44,44)</b>	<b>10 (55,56)</b>	<b>18</b>	<b>0,0100</b>
Outros	24 (70,59)	10 (29,41)	34	0,5008
<b>Total (*)</b>	<b>2007 (69,21)</b>	<b>893 (30,79)</b>	<b>2900 (*)</b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

De modo semelhante, foi observado que o percentual de utilização de oxigênio entre os casos positivos para o VPIH-3 foi inferior ao verificado nos casos positivos para VSR ( $p = 0,0026$ ) e na co-infecção VSR + influenza A ( $p = 0,0112$ ), porém não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado ao percentual nos casos negativos, nem na comparação entre o VPIH-3 e os demais grupos (Tabela 20).

TABELA 20 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao tratamento utilizando oxigenioterapia, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Não utilizaram oxigenioterapia (n / %)</b>	<b>Utilizaram oxigenioterapia (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>94 (96,91)</b>	<b>3 (3,09)</b>	<b>97</b>	<b>--</b>
Negativo	1934 (95,98)	81 (4,02)	2015	1,0000
<b>VSR</b>	<b>395 (86,43)</b>	<b>62 (13,57)</b>	<b>457</b>	<b>0,0026</b>
Adenovírus	53 (92,98)	4 (7,02)	57	0,4246
Influenza A	165 (97,63)	4 (2,37)	169	0,7081
<b>VSR + influenza A</b>	<b>14 (77,78)</b>	<b>4 (22,22)</b>	<b>18</b>	<b>0,0112</b>
Outros	33 (97,06)	1 (2,94)	34	1,0000
<b>Total</b>	<b>2688 (94,42)</b>	<b>159 (5,58)</b>	<b>2847<sup>(*)</sup></b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Verificou-se ainda que o percentual de utilização de corticóide nos casos positivos para VPIH-3 também é inferior ao observado nos casos positivos para VSR ( $p = 0,0011$ ), não apresentando diferença estatisticamente significativa quando comparado ao percentual nos casos negativos ( $p = 1,0000$ ), nem na comparação com os outros grupos (Tabela 21).

TABELA 21 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao tratamento utilizando corticóide, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Não utilizaram corticóide (n / %)</b>	<b>Utilizaram corticóide (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>85 (88,54)</b>	<b>11 (11,46)</b>	<b>96</b>	<b>--</b>
Negativo	1778 (88,33)	235 (11,67)	2013	1,0000
<b>VSR</b>	<b>393 (73,73)</b>	<b>140 (26,27)</b>	<b>533</b>	<b>0,0011</b>
Adenovírus	54 (94,74)	3 (5,26)	57	0,2543
Influenza A	156 (92,31)	13 (7,69)	169	0,3736
VSR + influenza A	15 (83,33)	3 (16,67)	18	0,4619
Outros	32 (94,12)	2 (5,88)	34	0,5121
<b>Total (*)</b>	<b>2513 (86,06)</b>	<b>407 (13,94)</b>	<b>2920 (*)</b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Quanto à utilização de aerossol e/ou salbutamol, verificou-se que o seu percentual entre os casos positivos para o VPIH-3, de forma semelhante aos itens anteriores, foi menor que entre os positivos para VSR ( $p = 0,0000$ ), tendo sido maior que entre os positivos para influenza A ( $p = 0,0400$ ), e não apresentando diferença estatisticamente significativa na comparação com o percentual verificado nos casos negativos ( $p = 0,06780$ ), nem na comparação com os demais grupos (Tabela 22).

TABELA 22 - Comparação dos casos positivos para VPIH-3 com os negativos e com os positivos para os demais vírus em relação ao tratamento utilizando aerossol e/ou salbutamol, na população do estudo.

<b>Vírus</b>	<b>Não utilizaram aerossol e/ou salbutamol (n / %)</b>	<b>Utilizaram aerossol e/ou salbutamol (n / %)</b>	<b>Total</b>	<b>p-valor</b>
<b>VPIH-3</b>	<b>46 (47,42)</b>	<b>51 (52,58)</b>	<b>97</b>	<b>--</b>
Negativo	914 (45,29)	1104 (54,71)	2018	0,6780
<b>VSR</b>	<b>131 (24,53)</b>	<b>403 (75,47)</b>	<b>534</b>	<b>0,0000</b>
Adenovírus	33 (57,89)	24 (42,11)	57	0,2440
<b>Influenza A</b>	<b>103 (60,95)</b>	<b>66 (39,05)</b>	<b>169</b>	<b>0,0400</b>
VSR + influenza A	9 (50,00)	9 (50,00)	18	1,0000
Outros	19 (55,88)	15 (44,12)	34	0,4305
<b>Total (*)</b>	<b>1255 (42,88)</b>	<b>1672 (57,12)</b>	<b>2927 (*)</b>	<b>0,0000</b>

(\*) Obs.: O número total e os percentuais correspondem ao total de casos em que a informação analisada estava disponível nas fichas epidemiológicas.

Em resumo, com relação ao tratamento instituído, os pacientes positivos para o VPIH-3 necessitaram menos de terapêutica com antibióticos, corticóides, oxigênio, aerossol e/ou salbutamol que os pacientes positivos para o VSR; necessitaram menos de antibióticos e de oxigenioterapia que os co-infectados com VSR e influenza A; e necessitaram mais de tratamento com aerossol e/ou salbutamol que os positivos para influenza A. Não houve diferenças significativas quanto ao tratamento na comparação entre os casos positivos para VPIH-3 e os negativos para os vírus pesquisados.

## **5. DISCUSSÃO**

### **5.1. O impacto das IRAs em geral e das IRAs virais**

As IRAs constituem um importante problema de saúde pública mundial, especialmente na população pediátrica, devido à sua elevada incidência, ao seu custo social e às potenciais complicações, bem como aos elevados índices de mortalidade observados em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (DENNY JR., 1995; ANTUÑANO, 1998; MONTO, 2002; CASHAT-CRUZ *et al*, 2005). As IRAs de etiologia viral são as mais freqüentes, em adultos e crianças, em países desenvolvidos ou em desenvolvimento (DENNY JR., 1995; WEISSENBACHER; ÁVILA, 1999; MONTO, 2004). Apesar disto, nos países em desenvolvimento, ainda há poucos estudos sobre os vírus respiratórios, suas características clínico-epidemiológicas e medidas de prevenção e controle (HAZLETT *et al*, 1988; RUUTU *et al*, 1988; ARRUDA *et al*, 1991; NASCIMENTO *et al*, 1991; CHEW *et al*, 1998; MIYAO *et al*, 1999; PORTILLO; CRUZ, 2000; TSAI *et al*, 2001; CARBALLAL *et al*, 2001; STRALIOTTO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; RODRIGUES *et al*, 2004; LIN *et al*, 2004; MEQDAM *et al*, 2005; CASHAT-CRUZ *et al*, 2005; TSUCHIYA *et al*, 2005; COSTA *et al*, 2006; CABELLO *et al*, 2006).

Em Fortaleza, um levantamento feito a partir das fichas de atendimento de 100 unidades públicas de saúde mostrou uma média de 341808 atendimentos por IRAs a cada ano, entre crianças e adultos, entre 1996 e 2001. As pneumonias corresponderam a 7,7% dos casos. A faixa etária mais afetada foi a de menores de um ano de idade, com uma incidência anual média de 1115,7 atendimentos por IRA em instituições públicas para cada 1000 habitantes deste grupo; as maiores incidências foram observadas nos meses de maio e junho (FAÇANHA; PINHEIRO, 2004). Quanto às hospitalizações, dados do DATASUS mostram que, no ano de 2005, houve 8095 internações por pneumonias em hospitais públicos da cidade, sendo 56,76% destas em crianças menores cinco anos; no mesmo período, houve 1217 internamentos por bronquiolite aguda ou bronquite, sendo 91,61% destes em crianças menores de um ano de idade (DATASUS).

### **5.2. Freqüência de IRAs de etiologia viral, de IRAs por parainfluenza e de co-infecções no estudo**

O percentual de IRAs virais encontrado em nosso estudo, de 30,39%, assemelha-se ao encontrado em outros estudos em crianças, no Brasil e em outros países, que varia desde 15,6% até 83% (Quadro 1). As freqüências de IRAs virais encontradas variam de acordo com a população, métodos de diagnóstico e agentes pesquisados em cada estudo. O

estudo com percentual mais baixo entre os avaliados foi realizado na Arábia Saudita, utilizando a imunofluorescência direta (IFD), e pesquisando apenas os vírus parainfluenza 1, 2 e 3, influenza A e B e adenovírus, com positividade de 15,6% para algum destes agentes (MEQDAM *et al*, 2005). Já o estudo com o maior percentual de vírus identificados foi realizado na Inglaterra, utilizando o PCR e incluindo a pesquisa de rinovírus, enterovírus, coronavírus e VSR, além dos agentes já citados, encontrando uma positividade de 83% (LEGG *et al*, 2005). Outros estudos que utilizaram, a exemplo do nosso, a imunofluorescência indireta (IFI) para o diagnóstico dos mesmos vírus (parainfluenza 1, 2 e 3, VSR, adenovírus e influenza A e B), obtiveram frequências de detecção viral semelhantes: 30% em Porto Alegre (STRALIOTTO *et al*, 2002); 32% na Argentina (CARBALLAL *et al*, 2001); 37,9% em Dakota do Norte, Estados Unidos (IRMEN; KELLEHER, 2000); e 30% em Stanford, EUA (SHETTY *et al*, 2003).

O índice de co-infecções virais observado em nosso estudo (1,10% do total de IRAs, ou 3,64% dos casos positivos para algum vírus) é compatível com as taxas encontradas na maioria dos outros estudos, que têm observado frequências entre 0,9 e 5,1% do total de casos (DREWS *et al*, 1997; KIM *et al*, 2000; TSAI *et al*, 2001; MOURA *et al*, 2003; LIN *et al*, 2004; DINIZ *et al*, 2005; TSUCHIYA *et al*, 2005). Em um estudo na Austrália e em outro na Inglaterra, porém, as taxas de co-infecções encontrada foram maiores, atingindo 10,9% e 20% do total, respectivamente (LEGG *et al*, 2005; KUSEL *et al*, 2006). Ambos os estudos utilizaram o PCR, considerado atualmente um dos métodos mais sensíveis, e incluíram a pesquisa de rinovírus, agente presente na grande maioria das co-infecções detectadas. O número de co-infecções encontradas aumenta com o número de métodos utilizados para a detecção viral (DREWS *et al*, 1997). A co-infecção mais frequentemente encontrada em nosso estudo, do VSR com o vírus influenza A, também foi demonstrada em outros estudos (DREWS *et al*, 1997; DINIZ *et al*, 2005), e sua frequência pode ser explicada pelos períodos de pico dos dois agentes em nossa região, ambos no primeiro semestre, bastante próximos, havendo períodos de co-circulação dos dois vírus. A importância da infecção simultânea por mais de um vírus no quadro clínico e na evolução dos pacientes não está claramente definida. Embora um estudo americano tenha relatado uma maior taxa de hospitalização entre as crianças com co-infecções virais, quando comparada à taxa entre as que apresentavam mono-infecção (DREWS *et al*, 1997), nos outros trabalhos não foram demonstradas diferenças clínicas atribuíveis à infecção concomitante por mais de um agente.

QUADRO 1 – Comparação entre os índices de IRAs virais e de IRAs por parainfluenza entre diversos estudos, destacando o(s) método(s) de diagnóstico.

<b>Autor/Ano</b>	<b>País</b>	<b>Método de diagnóstico</b>	<b>IRAs virais</b>	<b>IRAs por VPIH</b>
Hazlett <i>et al</i> , 1988	Quênia	IFI, isolamento viral e sorologia	48,05%	2,31%
Ruutu <i>et al</i> , 1988	Filipinas	ELISA e isolamento viral	39,7%	7,8%
Arruda <i>et al</i> , 1991	Brasil (Fortaleza)	Isolamento viral	35%	5,9%
Nascimento <i>et al</i> , 1991	Brasil (Rio de Janeiro)	IFI e isolamento viral	31%	1,28%
Lina <i>et al</i> , 1996	França	ELISA, IFD e Isolamento viral	36,1%	0,31%
Chew <i>et al</i> , 1998	Cingapura	IF (D?I?), isolamento viral e sorologias	29%	3,19%
Miyao <i>et al</i> , 1999	Brasil (São Paulo)	IFD e isolamento viral	56,4%	0,0%
Irmen; Kelleher, 2000	EUA	IFI e isolamento viral	37,9%	5,0%
Kim <i>et al</i> , 2000	Coréia	Isolamento viral	25,9%	6,4%
Portillo; Cruz, 2000	Chile	IFD	53,1%	5,4%
Carballal <i>et al</i> , 2001	Argentina	IFI	32%	2,2%
Tsai <i>et al</i> , 2001	Taiwan	Isolamento viral	32,8%	2,0%
Stralioetto <i>et al</i> , 2002	Brasil (Porto Alegre)	IFI	36,6%	1,5%
Shetty <i>et al</i> , 2003	EUA	IFD e isolamento viral	30%	4,5%
Moura <i>et al</i> , 2003	Brasil (Salvador)	IFI e isolamento viral	31,9%	5,38%
Lin <i>et al</i> , 2004	Taiwan	Isolamento viral	40%	0,76%
Templeton <i>et al</i> , 2004	Holanda	PCR e isolamento viral	24%	3,07%
Rodrigues <i>et al</i> , 2004	Brasil (Belém)	IFI e isolamento viral	23,8%	2,0%
Meqdam <i>et al</i> , 2005	Arábia Saudita	IFD	15,6%	5,31%
Legg <i>et al</i> , 2005	Inglaterra	PCR	83%	13%
Tsuchiya <i>et al</i> , 2005	Brasil (Curitiba)	IFI e isolamento viral	30%	3,3 a 5,6%
Cabello <i>et al</i> , 2006	México	Isolamento viral	65%	13%
Costa <i>et al</i> , 2006	Brasil (Uberlândia)	IFI e PCR	75%	6,3%
Kusel <i>et al</i> , 2006	Austrália	PCR	69%	5,2%

Desde a sua identificação, na década de 50, os vírus parainfluenza vêm-se destacando, em diversos estudos, entre os agentes mais freqüentes de IRAs virais, em crianças e adultos de todo o mundo. Em nosso trabalho, encontramos as freqüências de 3,8% e 12,54% para os vírus parainfluenza no total de amostras analisadas e entre aquelas positivas para um ou mais vírus, respectivamente. A freqüência de identificação dos vírus parainfluenza como agente de IRAs infantis em estudos realizados em vários países desenvolvidos e em desenvolvimento tem variado entre 0 e 13% do total das amostras (Quadro 1). Dentre trabalhos de outros países, o estudo em que houve menor freqüência de detecção do parainfluenza (0,13%) foi realizado na França, entre adultos e crianças com sintomas gripais, num período de sete meses, incluindo o final do outono, o inverno e o início da primavera, utilizando o ELISA para o diagnóstico de parainfluenza (LINA *et al*, 1996). É possível que a época do estudo, que abrangeu principalmente o inverno, por ser estação de pico do vírus influenza, além do método utilizado, tenham influenciado na baixa detecção do parainfluenza. Um dos estudos analisados com maior índice de detecção de parainfluenza (13%) utilizou o PCR, método de maior sensibilidade, para o diagnóstico de crianças com IRAs na Inglaterra (LEGG *et al*, 2005); em outro, utilizou-se o isolamento viral, em crianças acompanhadas durante 13 meses, no México, também com 13% de amostras positivas para o parainfluenza (CABELLO *et al*, 2006). Em um estudo de revisão, também foi apontada uma freqüência de 13% de parainfluenza em crianças com IRAs na Tailândia, não sendo especificado o método de diagnóstico (CASHAT-CRUZ *et al*, 2005).

No Brasil, as freqüências de identificação dos vírus parainfluenza entre crianças com IRAs têm variado entre 0,0 e 6,3% (ARRUDA *et al*, 1991; NASCIMENTO *et al*, 1991; MIYAO *et al*, 1999; STRALIOTTO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; RODRIGUES *et al*, 2004; TSUCHIYA *et al*, 2005; COSTA *et al*, 2006). O estudo com a taxa mais baixa (0,0%) foi realizado em São Paulo, durante quatro meses (abril a julho), com crianças internadas, sendo 126 delas com IRAs, e 75 do grupo controle (sem sintomas respiratórios); é possível que o curto período de estudo e o pequeno número de amostras expliquem a ausência de detecção do parainfluenza (MIYAO *et al*, 1999). Nos demais trabalhos citados, o percentual de amostras positivas para os vírus parainfluenza variou entre 1,28% e 6,3% do total de amostras. Ressalta-se ainda que vários trabalhos brasileiros são direcionados à análise do VSR, devido à sua maior prevalência entre crianças menores de um ano com IVAI (CHECON *et al*, 2002; MACEDO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2006), ou à análise dos vírus influenza, em decorrência de suas implicações na morbidade e mortalidade de pacientes idosos ou imunocomprometidos (FAÇANHA, 2005; MARTINS, 2005), muitas vezes não dando ênfase à pesquisa dos vírus parainfluenza.

Dentre os tipos de parainfluenza, o VPIH-3 foi o mais freqüente, correspondendo a 3,18% do total de casos, e a 83,76% dos casos de parainfluenza, seguido pelo VPIH-1 (11,96%), com um número menor de casos de VPIH-2 (4,27%). Esta freqüência relativa entre os tipos ( $VPIH-3 > VPIH-1 > VPIH-2$ ) está em concordância com a maioria dos trabalhos em diversos países (MONTO, 1973; HAZLETT *et al*, 1988; KNOTT *et al*, 1994; REED *et al*, 1997; CHEW *et al*, 1998; CARBALLAL *et al*, 2001; TSAI *et al*, 2001; STRALIOTTO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; SHETTY *et al*, 2003; FRY *et al*, 2006). No entanto, esta proporção é divergente do estudo de Arruda e colaboradores, também realizado em Fortaleza, que encontrou mais amostras de VPIH-2 (54,83% dos casos de parainfluenza). No estudo citado, os percentuais relativos de VPIH-1 e VPIH-3 em relação ao total de amostras de parainfluenza foram de 20,96% e 12,90%, respectivamente. Este grande número de casos de VPIH-2, porém, ocorreu durante um período limitado, num dos anos do estudo, na área geográfica delimitada onde se realizou a pesquisa, podendo corresponder a um surto, e não ao comportamento geral do vírus na população da cidade (ARRUDA *et al*, 1991). No estudo realizado na Arábia Saudita, o tipo mais prevalente foi o VPIH-1, com 64,28% dos casos de parainfluenza, seguido pelo VPIH-2, com 28,57%; no entanto, o número total de casos de parainfluenza neste trabalho foi de apenas 14, o que prejudica a análise dos dados (MEQDAM *et al*, 2005). Nos demais trabalhos em que houve a análise da freqüência de cada tipo, o VPIH-3 predominou, com percentuais que variaram entre 45,25% (TSAI *et al*, 2001) e 100% (NASCIMENTO *et al*, 1991). O VPIH-4 não foi analisado em nosso estudo.

### **5.3. Limitações da amostragem**

A amostragem colhida foi de conveniência, incluindo apenas crianças atendidas em diversos setores de um hospital terciário. Embora seja reconhecida a importância dos hospitais de referência como sentinelas do comportamento das doenças na população geral, podem ter ocorrido vieses de seleção, devido às dificuldades de acesso da população a serviços terciários, com maior freqüência de casos mais graves. Apesar desta limitação, foi incluído um grande número de pacientes com quadros leves ou moderados, uma vez que ainda há uma grande procura da população ao serviço de pronto-atendimento dos hospitais terciários, mesmo para casos mais simples. No entanto, estudos complementares, em serviços de atenção primária ou secundária ou nas comunidades, são necessários para uma análise mais completa dos dados.

#### 5.4. O método utilizado para o diagnóstico

O diagnóstico de infecções virais, inclusive aquelas causadas pelos vírus parainfluenza, é criticamente dependente da qualidade e manuseio da amostra clínica e do(s) método(s) empregado(s). Para a identificação do agente etiológico, o espécime clínico utilizado foi o aspirado de nasofaringe. Este modo de coleta de espécimes clínicos, além de ter-se mostrado ligeiramente mais sensível que o swab de nasofaringe, permite a coleta de uma quantidade maior de material, com a obtenção de maior número de células infectadas (CRUZ *et al*, 1987; WEISSENBACHER; ÁVILA, 1999; HEIKKINEN *et al*, 2002).

O método utilizado para a identificação viral foi a imunofluorescência indireta. Embora este método tenha, em vários estudos, apresentado uma sensibilidade inferior à do isolamento em cultura para os vírus parainfluenza, o mesmo tem demonstrado especificidade constante e elevada. Num estudo em Arizona, a sensibilidade da imunofluorescência foi de apenas 31% para o VPIH-3, e 63% para o VPIH-1, quando comparada ao isolamento em cultura; as especificidades, porém, foram de 100% e 98%, respectivamente (RAY; MINNICH, 1987). Entretanto, em outros estudos, foram obtidos índices mais favoráveis de sensibilidade, como num trabalho americano, que obteve 94% de sensibilidade da imunofluorescência para os parainfluenza em geral, com 93% de especificidade (WONG *et al*, 1982). Além disso, a imunofluorescência indireta possibilita o diagnóstico rápido, em horas, em oposição aos vários dias necessários para o isolamento em cultura, o que permite o uso do método no acompanhamento clínico dos pacientes. Em outro estudo americano, por exemplo, observou-se que os resultados de isolamento para vírus respiratórios de crianças internadas só foram disponibilizados, em 86% dos casos, após a alta dos pacientes, ao passo que a imunofluorescência pôde influenciar na suspensão da antibioticoterapia e no uso de terapêutica antiviral específica (no caso, com amantadina, para o vírus influenza A) (SHETTY *et al*, 2003). Uma outra vantagem da imunofluorescência é a sua relativa simplicidade de execução, embora a leitura das lâminas requeira um microscopista com experiência (WEISSENBACHER; ÁVILA, 1999; STRALIOTTO *et al*, 2002). Com relação aos métodos de biologia molecular, estes agregam alta sensibilidade, especificidade e rapidez de execução, além de possibilitarem o diagnóstico a partir de pequenas quantidades de material clínico, porém apresentam um custo mais elevado, dificultando sua implementação rotineira em nosso serviço (ECHEVARRÍA *et al*, 1998; OSIOWY, 1998; AGUILAR *et al*, 2000; HENRICKSON, 2003; TEMPLETON *et al*, 2004; KUYPERS *et al*, 2006).

### 5.5. Características epidemiológicas das infecções pelo VPIH-3

O período anual com maior número de infecções pelo VPIH-3 observado em nosso estudo, entre setembro e novembro, corresponde ao final do inverno e ao início da primavera no Hemisfério Sul. Embora a distinção entre as estações do ano não seja bem delimitada no Nordeste brasileiro, onde o clima é tropical e ocorre pequena variação de temperatura ao longo do ano, o achado de maior número de casos na primavera assemelha-se ao observado em regiões de clima subtropical, como Porto Alegre (STRALIOTTO *et al*, 2002), e em regiões de clima temperado, como os Estados Unidos (GLEZEN, 1984; KNOTT *et al*, 1996; REED *et al*, 1996; IRMEN *et al*, 2000; MONTANO, 2004; FRY *et al*, 2006; WEINBERG, 2006). Esses trabalhos americanos vêm destacando a modificação da sazonalidade do VPIH-3 nas últimas décadas: até a década de 70, o vírus era detectado uniformemente durante todo o ano; desde 1977, passou a ter períodos de pico de incidência, geralmente no final do inverno, na primavera e no início do verão. No entanto, num estudo em Cingapura, de clima tropical, foi mantido o padrão de infecções ao longo do ano, sem sazonalidade significativa (CHEW *et al*, 1998). No Nordeste brasileiro, um trabalho em Salvador mostrou o VPIH-3 em oito dos doze meses de estudo, também sem sazonalidade marcante (MOURA *et al*, 2003). Não havia estudos anteriores mostrando o comportamento sazonal do VPIH-3 no Nordeste do Brasil. O pequeno número de amostras de VPIH-1 e VPIH-2 identificadas não permitiu a análise da sazonalidade para estes dois subtipos.

Foi observada uma relação direta entre o total de amostras colhidas e os índices pluviométricos. Outros estudos em regiões tropicais já tinham verificado a relação entre os períodos chuvosos e o aumento do número total de casos de IRAs, atribuído principalmente ao aumento da frequência de VSR e de influenza A, que geralmente estão entre os vírus responsáveis pelo maior número de infecções (CHEW *et al*, 1998; MOURA *et al*, 2003; SIAS, 2005; MARTINS, 2005; MOURA *et al*, 2006). As explicações aventadas para o aumento de IRAs nos períodos de chuvas incluem a maior permanência de pessoas em ambientes fechados, facilitando a disseminação interpessoal de vírus respiratórios; além disso, a maior umidade e a menor exposição à luz aumentariam o período de infectividade das secreções respiratórias (SHEK; LEE, 2003). Já em regiões de clima temperado, onde há grande variação da temperatura média ao longo do ano, o aumento do total de casos de IRAs correlaciona-se com os meses de inverno, com temperaturas mais baixas (KIM *et al*, 2000; PORTILLO *et al*, 2000; CARBALLAL *et al*, 2001; MACEDO *et al*, 2002; LEGG *et al*, 2005; TSUCHIYA *et al*, 2005). De modo semelhante, as hipóteses para esta maior incidência também se relacionam à permanência em ambientes fechados e sem ventilação, embora as

razões para estas variações sazonais não sejam completamente conhecidas (TREANOR, 1997; SHEK; LEE, 2003).

Merece destaque a relação inversa observada, em nosso estudo, entre o número de casos positivos para o VPIH-3 e os índices pluviométricos. Em um estudo em Cingapura, de clima tropical, demonstrou-se uma relação entre o aumento dos casos de VPIH-1, temperaturas mais baixas e umidade mais elevada; o VPIH-3, porém, não apresentou relação com variações de temperatura, umidade ou pluviometria (CHEW *et al*, 1998). Num estudo anterior, em Fortaleza, observou-se aumento da frequência de infecções pelo VPIH-2 nos meses de maior pluviometria, durante o segundo ano de acompanhamento, não sendo verificada relação entre o VPIH-3 e os índices pluviométricos (ARRUDA *et al*, 1991). Na Arábia Saudita, foi descrita a relação entre temperaturas mais elevadas e maior taxa de infecções pelo VPIH-3 (BAKIR *et al*, 1998). Um estudo australiano, por outro lado, observou que as maiores frequências de infecção pelo VPIH-3 ocorriam numa faixa de temperatura entre 13 e 25°C, correspondendo à primavera em Sidney (Austrália) e em Houston (EUA), e ao verão em Newcastle (Inglaterra). Esta faixa de temperatura é mais baixa que a média observada em Fortaleza, de cerca de 27°C, com pouca variação ao longo do ano. A relação inversa da detecção de VPIH-3 com a pluviometria, no entanto, ainda não tinha sido destacada em outros estudos. Uma outra hipótese sugerida por outro autor para tentar explicar as variações sazonais das doenças em geral é a de que as diferenças de incidência se deveriam a diferenças na suscetibilidade do hospedeiro a agentes específicos, por mecanismos não bem esclarecidos, possivelmente influenciados por fatores climáticos, como a exposição à luz e a variações de temperatura, que alterariam a produção de melatonina, interferindo na resposta imune (DOWELL, 2001). Certamente, são necessários outros estudos para tentar estabelecer os fatores que determinam o comportamento sazonal do VPIH-3 observado em nosso trabalho.

Houve um ligeiro predomínio do sexo masculino (54,92% da população de estudo), de modo semelhante ao observado em outros trabalhos sobre IRAs (NASCIMENTO *et al*, 1991; MIYAO *et al*, 1999; PORTILLO; CRUZ, 2000; KIM *et al*, 2000; TSAI *et al*, 2001; STRALIOTTO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; RODRIGUES *et al*, 2004; LIN *et al*, 2004; MEQDAM *et al*, 2005; MOURA *et al*, 2006; CABELLO *et al*, 2006). A maioria dos casos de VPIH-3 ocorreu em meninos (60%), porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os percentuais de meninos e meninas, na comparação entre o VPIH-3 e os casos negativos, ou na comparação com outros vírus.

A média de idade dos pacientes positivos para o VPIH-3 foi de 20 meses, sendo significativamente superior à média de idade dos casos de VSR (15 meses), e inferior à dos

casos de influenza A (34 meses). Estes achados são compatíveis com os de outros estudos, em que o VSR é apontado como o principal agente de IRAs nos primeiros meses de vida (MIYAO *et al*, 1999; IRMEN; KELLEHER, 2000; KIM *et al*, 2000; PORTILLO; CRUZ, 2000; CARBALLAL *et al*, 2001; CHECON *et al*, 2002; STRALIOTTO *et al*, 2002; MOURA *et al*, 2003; MONTA, 2004; COSTA *et al*, 2006). O influenza A, por sua vez, é um dos principais vírus detectados em crianças maiores, especialmente entre as que têm mais de cinco anos (IRMEN; KELLEHER, 2000; KIM *et al*, 2000; PORTILLO; CRUZ, 2000; STRALIOTTO *et al*, 2002; LIN *et al*, 2004). A observação da idade média de 20 meses para o VPIH-3 é compatível com o trabalho de Glezen e colaboradores (1984), realizado nos Estados Unidos, que demonstrou infecção pelo agente já no primeiro ano de vida em dois terços das crianças acompanhadas, alcançando 92,2% de infecção até os dois anos de idade, com reinfecções posteriores ao longo da vida.

A população estudada foi relativamente homogênea no que se refere à renda familiar mensal e à escolaridade dos pais. 88,99% dos pacientes em que a informação estava disponível pertenciam a famílias com renda mensal de até dois salários mínimos, o que reflete a condição sócio-econômica da população atendida no HIAS, um hospital público. De modo semelhante, 61,79% das mães e 60,44% dos pais para os quais a informação estava disponível tinham estudado apenas até o ensino fundamental, completo ou incompleto; o percentual de analfabetos foi de 4,47% para os pais, e de 3,35% para as mães. Por esta razão, não foram analisadas as relações entre as frequências virais e a renda familiar ou a escolaridade dos pais, embora a baixa renda já tenha sido descrita, em outros estudos, como fator de risco para uma maior frequência e maior gravidade das IRAs, devido principalmente à sua associação com a desnutrição e com a moradia em condições de aglomeração (BERMAN *et al*, 1991; CASHAT-CRUZ *et al*, 2005).

De forma análoga, a situação vacinal das crianças era satisfatória na maioria dos casos (92,04%), e por esta razão a vacinação não foi analisada na comparação entre as infecções virais.

A maioria dos pacientes positivos para o VPIH-3 foi atendida na emergência (60%) ou no ambulatório (28%). A proporção de crianças com VPIH-3 que necessitaram de internamento em enfermaria ou UTI (9%) foi significativamente inferior ao percentual encontrado entre os casos de VSR (21,13%) e entre os casos de co-infecção por VSR e influenza A (33,33%), o que provavelmente reflete a maior capacidade do VSR de determinar quadros mais graves, com comprometimento das vias aéreas inferiores (bronquiolite ou pneumonia) e maiores taxas de desconforto respiratório (MIYAO *et al*, 1999; PORTILLO;

CRUZ, 2000; KIM *et al*, 2001; TSAI *et al*, 2001; MOURA *et al*, 2003; STRALIOTTO *et al*, 2004; COFFIN, 2005; COSTA *et al*, 2006).

O número de pessoas por cômodo encontrado nos casos positivos para o VPIH-3 foi maior que o encontrado nos casos negativos, nos casos positivos para o VSR e para o adenovírus. Este dado pode refletir a importância do convívio próximo na transmissão do VPIH-3, uma vez que o contágio ocorre através do contato de gotículas, eliminadas na tosse ou espirros, com as mucosas, ou através das mãos e objetos contaminados. Como já foi mencionado, a moradia em condições de aglomeração já foi descrita como fator de risco para IRAs (BERMAN, 1991; VICTORA, 1999). Corroborando com a importância do contato próximo para a transmissão dos vírus respiratórios, um estudo realizado em Hong Kong constatou uma redução significativa nos índices de infecção por parainfluenza, influenza, VSR e adenovírus durante o período do surto de SARS-coronavírus, em 2003, quando, objetivando o controle do surto, as aulas foram suspensas, os eventos sociais foram reduzidos e vários locais públicos foram fechados (LO *et al*, 2005). Como o VSR e o adenovírus compartilham com os vírus parainfluenza os mesmos mecanismos de transmissão, é de certa forma inusitado o achado de um número significativamente menor de pessoas por cômodo nos casos positivos para esses vírus.

O índice de crianças que freqüentava creche ou escola observado nos casos de VPIH-3 (15,31%) foi significativamente menor que o dos casos de influenza A (31,33%), e levemente superior ao dos casos de VSR (9,09%). Este achado, porém, pode relacionar-se apenas à média de idades das crianças com VPIH-3 (20 meses), maior que a dos casos de VSR (15 meses), porém menor que a dos casos de influenza A (34 meses).

O tempo de aleitamento materno não se mostrou diferente na comparação entre os casos positivos para o VPIH-3 e os casos negativos, ou com os demais grupos. O aleitamento materno já foi demonstrado como fator de proteção para IRAs em lactentes, especialmente em relação às IVAI (ALBERNAZ *et al*, 1997; VICTORA, 1999; ODDY *et al*, 2003; TAUSSIG *et al*, 2003). Porém, em nosso estudo, todas as crianças incluídas tinham sintomas de IRAs, e boa parte dos casos negativos para os vírus pesquisados pode constituir-se de crianças com IRAs por outros agentes, daí não ser possível pesquisar o efeito protetor do aleitamento para as IRAs como um todo. Além disso, a população de estudo era relativamente homogênea quanto ao aleitamento materno, com uma minoria de crianças que não tinham sido amamentadas (12,18%).

Outro dado inusitado observado em nosso estudo foi a menor freqüência de familiares com sintomas respiratórios entre as crianças positivas para o VPIH-3, em relação às negativas para os vírus pesquisados. Em 42,86% dos casos de VPIH-3, eram relatados

sintomas de IRA em familiar(es), contra 54,40% nos casos negativos. É importante novamente ressaltar que os casos negativos refletem a não detecção dos vírus estudados, porém outros agentes, também transmissíveis, e que podem causar sintomas semelhantes, não foram pesquisados, como o rinovírus, o metapneumovírus, os enterovírus, os coronavírus e o parainfluenza tipo 4. As bactérias também não foram pesquisadas neste estudo. Além disso, o método de diagnóstico utilizado (imunofluorescência indireta), apesar de ter especificidade elevada, tem sensibilidade variável, melhor para o VSR (entre 90,6 e 95%) e para o vírus influenza A (82,6%), porém mais baixa para o adenovírus (28 a 64,8%) e para os vírus parainfluenza (31 a 94%) (WONG *et al*, 1982; RAY; MINNICH, 1987; IRMEN; KELLEHER, 2000; SHETTY *et al*, 2003). Portanto, é bastante provável que as amostras classificadas como negativas incluam vários casos positivos para outros vírus, bem como casos falso-negativos ou casos de IRAs bacterianas.

A maior frequência de IRA em familiares detectada nos casos positivos para o vírus influenza A que nos casos de VPIH-3 pode refletir a maior infectividade do primeiro agente, cuja transmissão é descrita não só através de gotículas e do contato direto, como também através de aerossóis, partículas menores que 5 micrômetros, que podem permanecer em suspensão por períodos mais longos. Após a introdução do vírus influenza A em uma família, é descrita a sua transmissão para 20 a 60% das pessoas expostas, com o estabelecimento do quadro clássico de gripe em mais de metade dos infectados. A transmissão através de aerossóis não é descrita para o VPIH-3 (MUSHER, 2003).

## **5.6. Características clínicas e radiológicas das infecções pelo VPIH-3**

Na análise dos sintomas apresentados pelos pacientes, os casos positivos para VPIH-3 apresentaram, significativamente, menor incidência de dispnéia que a observada nos casos de VSR; menos tosse que os casos de VSR e que os casos negativos; menos obstrução nasal que os casos negativos; e mais conjuntivite que os casos de influenza A ou de VSR. Para os demais sintomas analisados, não foram encontradas diferenças significativas.

A maior frequência de dispnéia nos casos de VSR, de modo semelhante à maior frequência de crianças com VSR que necessitaram de internamento, é explicada pela maior propensão do VSR de causar infecções respiratórias baixas, com maior comprometimento da oxigenação, podendo levar ao desconforto respiratório com maior frequência (MIYAO *et al*, 1999; PORTILLO; CRUZ, 2000; KIM *et al*, 2001; TSAI *et al*, 2001; MOURA *et al*, 2003; STRALIOTTO *et al*, 2004; COFFIN, 2005; COSTA *et al*, 2006). A menor frequência de tosse nos casos de VPIH-3 que nos casos de VSR também pode refletir a maior intensidade

de comprometimento das vias aéreas pelo segundo agente. Já o achado de menor percentual de tosse e obstrução nasal nos casos de VPIH-3 que nos casos negativos pode estar relacionado à presença de outros agentes entre os negativos, ou de falso-negativos, bem como pode relacionar-se à inclusão de crianças com quadros alérgicos (rinite alérgica, asma) no estudo, já que os sintomas podem ser semelhantes aos de IRAs. De um modo geral, portanto, observamos que a análise dos sintomas apresentados pelos pacientes, apesar de direcionar o raciocínio clínico e o tratamento, é insuficiente para determinar a etiologia das IRAs virais. A inespecificidade dos sintomas já foi demonstrada em outros estudos, pesquisando síndromes clínicas específicas, como na vigilância do vírus influenza, onde vários outros vírus, como o VSR, os vírus parainfluenza e o adenovírus, são detectados em pacientes com sintomas de gripe (LINA *et al*, 1996; BOURGEOIS *et al*, 2006), ou num estudo com pacientes com sintomas de resfriado comum, que identificou, além do rinovírus e do coronavírus, o VSR, os vírus influenza, parainfluenza, adenovírus, enterovírus, bem como infecções bacterianas (MÄKELÄ *et al*, 1998).

Outros achados que ressaltam o maior comprometimento das vias aéreas inferiores pelo VSR, na comparação com o VPIH-3, incluem a frequência maior, na ausculta pulmonar, de estertores e da associação de estertores, roncos e sibilos, para o VSR; e a maior frequência de tiragem intercostal para o VSR. Por outro lado, a maior frequência de roncos e sibilos nos casos de VPIH-3 (49,48%), em comparação com os casos de influenza A ou adenovírus, pode refletir a importância deste vírus no desencadeamento de broncoespasmo, como já foi descrito em outros trabalhos (GERN *et al*, 2005; MARTIN, 2006). Um estudo americano realizado em adultos internados por IVAI também observou maior incidência de roncos nos casos positivos para o VPIH-3, no caso, em comparação com as infecções bacterianas (MARX *et al*, 1999).

Um achado inusitado foi a baixa frequência de otite encontrada, entre o total de casos e entre os casos de parainfluenza (4,26% e 3,00%, respectivamente). A otite média aguda é descrita como a complicação mais frequente da infecção respiratória alta por parainfluenza (PIEDRA *et al*, 1997; REED *et al*, 1997; HALL, 2001; HENRICKSON, 2003). No entanto, esta complicação não foi pesquisada rotineiramente nas crianças do estudo, o que pode explicar sua baixa detecção.

Foram detectadas alterações radiológicas em 55% dos pacientes positivos para o VPIH-3 que necessitaram de raio-X de tórax, com 45% de radiografias normais. O percentual de alterações radiológicas foi maior nos casos positivos para VSR que realizaram raio-X (83,22%), e nos casos negativos para os vírus pesquisados que necessitaram do exame (73,38%). A diferença observada na comparação com o VSR já era esperada, novamente pelo

maior potencial de acometimento de vias aéreas inferiores por este agente. A maior frequência de alterações observadas entre os casos negativos que nos casos de VPIH-3, embora pareça paradoxal, pode refletir a presença de agentes não pesquisados, especialmente as bactérias. Na análise da presença de cada uma das alterações radiológicas pesquisadas (condensação, hiperinsuflação, infiltrado intersticial), nenhuma delas associou-se significativamente à infecção pelo VPIH-3. Outros trabalhos já ressaltavam a inespecificidade dos padrões radiológicos encontrados nas infecções virais, como uma revisão de Waite e colaboradores (2006). Um estudo americano realizado em adultos internados por IVAI observou, de modo semelhante ao nosso, maior incidência de raio-X normal nas IVAI por VPIH-3, em comparação com as bacterianas (MARX *et al*, 1999). Já um estudo na Finlândia, que comparou pneumonias virais e bacterianas, evidenciou associação entre infiltrados alveolares e pneumonias bacterianas em 72% dos casos, porém não encontrou padrão característico nas infecções virais, que se apresentaram com infiltrados intersticiais ou alveolares (VIRKKI *et al*, 2002). No estudo citado, não foram incluídos os pacientes com raio-X normal. Em outro estudo, em Barcelona, avaliando pacientes adultos com pneumonia, observou-se infiltrado de padrão alveolar em 62% dos casos de etiologia viral, e padrão intersticial em 10% (DE ROUX *et al*, 2004)

Duas limitações do presente estudo são: a utilização apenas de secreções das vias aéreas superiores, e a não utilização de métodos para o diagnóstico de infecções bacterianas. Embora a obtenção de amostras provenientes das vias aéreas inferiores requeira procedimentos invasivos, a identificação do vírus na secreção nasofaríngea não garante que as alterações observadas nas vias aéreas distais e nos alvéolos são decorrentes da infecção viral detectada. Desta forma, alterações radiológicas observadas em pacientes positivos para o vírus parainfluenza podem refletir, na verdade, a presença de co-infecção bacteriana. As co-infecções envolvendo vírus respiratórios e bactérias, em crianças com pneumonia, vêm sendo identificadas, em outros trabalhos, em frequências variáveis, entre 4 e 34% do total de casos (NASCIMENTO-CARVALHO, 2001; TSOLIA *et al*, 2004; SINANIOTIS, 2004; CABELLO *et al*, 2006).

O diagnóstico clínico mais frequente entre os pacientes positivos para o VPIH-3 foi o de IVAS (61,62%). A frequência de IVAS entre os casos de VPIH-3, no entanto, não apresentou diferença significativa em relação à frequência nos casos negativos (58,42%). Neste caso, novamente, é importante lembrar que os casos negativos para os vírus pesquisados podem ser positivos para outros agentes. O percentual de IVAS entre os casos de VPIH-3 foi significativamente superior ao observado entre os casos de VSR (devendo ser ressaltado novamente o maior índice de IVAI causadas por VSR), e menor que o percentual

entre os casos de influenza A. Como o vírus influenza A se caracteriza por ter a gripe como sua principal síndrome clínica, com maior probabilidade de determinar extensão para as vias aéreas inferiores em pacientes idosos e em imunocomprometidos, e estas populações não foram incluídas no estudo (havendo apenas três casos de imunossuprimidos, ou 0,10%), o achado de mais IVAS nos casos de influenza A é compatível com o descrito em outros trabalhos (SIAS, 2005; PITREZ; PITREZ, 2003).

O diagnóstico clínico de bronquiolite viral aguda foi observado em 16,16% dos casos positivos para o VPIH-3, percentual que, embora seja inferior aos 29,36% observados entre os casos de VSR, o agente mais característico de bronquiolite, foi significativamente superior ao encontrado nos casos de influenza A e nos negativos. Esses achados estão em concordância com outros trabalhos que colocam o VPIH-3 como agente importante de bronquiolite em lactentes (GARDNER *et al*, 1971; CHEW *et al*, 1998; HENRICKSON, 2003). O diagnóstico de pneumonia entre os casos de VPIH-3 foi, de modo semelhante, menos freqüente que entre os casos de VSR, o que também é compatível com os achados de outros trabalhos, que destacam o VSR como o vírus mais freqüentemente identificado em crianças com pneumonia (VIRKKI *et al*, 2002; NASCIMENTO-CARVALHO, 2001; SINANIOTIS, 2004; NACUL *et al*, 2005; NOYOLA; ARTEAGA-DOMÍNGUEZ, 2005).

Um aspecto que merece destaque é o pequeno número de casos de laringotraqueobronquite encontrados na população de estudo (apenas seis casos). O número reduzido de casos não permitiu a análise estatística desta síndrome clínica separadamente, e, por isso, os casos foram analisados em conjunto com os casos de bronquite, não sendo observada relação estatisticamente significativa entre este grupo de diagnósticos e o tipo de vírus. No DATASUS, são agrupadas as internações por laringite e por traqueíte, não sendo analisado separadamente o diagnóstico de laringotraqueobronquite; para laringite e traqueíte, foram registradas apenas 546 internações em Fortaleza no ano de 2005, sendo apenas 143 (26,19%) em menores de 4 anos. Esta freqüência é bem menor que a observada em trabalhos nos Estados Unidos, onde, embora as taxas de internação por laringotraqueobronquite tenham diminuído entre 1979 e 1997, foi verificada uma média anual de 41000 internações pela doença, entre 1979 e 1993, e estima-se que 1 a 5% das crianças necessitem de consulta em serviço de saúde por esta patologia durante o segundo ano de vida (MARX *et al*, 1997; COUNIHAN *et al*, 2001). Além da menor incidência da doença em nosso meio, nosso pequeno número de casos também pode ter sido influenciado por ocasiões em que a coleta de aspirados de nasofaringe não foi realizada devido à presença de desconforto respiratório importante da criança, para evitar precipitar a piora do quadro, à exceção de crianças que já

estivessem com suporte ventilatório, em UTI. Desta forma, alguns casos de laringotraqueobronquite podem não ter sido incluídos no trabalho.

Em 23,71% dos casos positivos para o VPIH-3, os pacientes receberam prescrição de antibiótico. Este percentual, porém, foi significativamente inferior aos encontrados nos casos de VSR (40,52%), e de co-infecção VSR + influenza A (55,56%). Estes valores provavelmente se relacionam com os maiores percentuais de condensação ao raio-X observados nos casos de VSR e de VSR + influenza A, levando à hipótese diagnóstica de pneumonia bacteriana. Como a presença de bactérias não foi pesquisada neste estudo, não podemos excluir a hipótese de co-infecção bacteriana nestes casos.

A terapêutica com corticóides e com oxigênio entre os casos positivos para o VPIH-3 também foi significativamente menos freqüente que o observado entre os casos de VSR, o que é condizente com os achados anteriores de mais dispnéia, mais tiragem intercostal e mais alterações na ausculta pulmonar nos casos de VSR. Com relação à necessidade de aerossol ou salbutamol, o maior percentual também foi verificado nos casos de VSR (75,47%). O percentual de utilização de aerossol ou salbutamol entre os casos de VPIH-3 foi superior ao dos casos de influenza A, o que é compatível com o achado de mais sinais de broncoespasmo (roncos e sibilos à ausculta pulmonar) para o VPIH-3 que para o vírus influenza A.

A análise das características clínicas e radiológicas dos pacientes infectados mostrou-se inespecífica e insuficiente para a determinação da etiologia das IRAs virais, em concordância com trabalhos anteriores, o que reforça a importância do diagnóstico laboratorial para a determinação do agente etiológico. Embora ainda não haja terapêutica antiviral eficaz disponível para o tratamento das infecções por parainfluenza, o diagnóstico etiológico rápido das infecções respiratórias virais em geral permite, além de um maior conhecimento quanto às características epidemiológicas e à apresentação clínico-radiológica destas infecções, a utilização de terapêutica antiviral específica direcionada a outros agentes, principalmente em relação aos vírus influenza, para os quais já existem opções terapêuticas eficazes, que podem reduzir o tempo de doença e suas complicações (KIMBERLIN, 2005). Um estudo em Hong Kong e outro nos Estados Unidos demonstraram o custo-efetividade do diagnóstico virológico em pacientes internados, observando-se redução do tempo de internação, do uso de antibióticos e dos custos hospitalares após a disponibilização do diagnóstico por imunofluorescência (WOO *et al*, 1997; BARENFANGER *et al*, 2000). Além disso, em pacientes hospitalizados, o diagnóstico rápido possibilita que medidas de controle sejam tomadas, evitando a disseminação nosocomial da infecção, com a separação dos pacientes infectados pelo mesmo vírus em coorte numa mesma enfermaria, ou com o

isolamento em quarto privativo (AITKEN; JEFFRIES, 2001). As medidas de contenção de transmissão de IRAs virais e a terapêutica antiviral seriam particularmente benéficas para os pacientes de maior risco para infecções mais graves, como os idosos, neonatos e imunossuprimidos.

Acreditamos que a divulgação e o avanço de pesquisas sobre os vírus respiratórios, incluindo a evolução no desenvolvimento de vacinas e de drogas antivirais eficazes, ajudarão a combater a idéia errônea, compartilhada por muitos profissionais de saúde, de que uma IRA viral é “só uma virose”, uma condição clínica sem maiores conseqüências, onde o diagnóstico etiológico não traria benefícios, já que não influiria no prognóstico, e que nenhum tratamento específico estaria disponível. Esperamos que a identificação dos vírus respiratórios, atualmente disponível apenas no contexto de pesquisa, possa, no futuro, deixar de ser exceção e passar a ser disponível para a população atendida nos serviços de saúde de referência em nosso município.

## 6. CONCLUSÕES

- Os vírus parainfluenza (VPIH-1, VPIH-2 e VPIH-3) foram detectados em 3,81% do total de 3070 amostras de pacientes com infecções respiratórias agudas analisadas.
- O VPIH-3, o VPIH-1 e o VPIH-2 representaram 10,50%, 1,50% e 0,54%, respectivamente, das 933 amostras positivas para vírus respiratórios.
- O VPIH-3 foi o subtipo predominante, correspondendo a 83,76% dos vírus parainfluenza identificados, seguido do VPIH-1 (11,96%) e do VPIH-2 (4,27%).
- O VPIH-3 foi o terceiro vírus mais identificado nos casos de IRA na população de estudo, sendo os mais frequentes o VSR e o vírus influenza A, nesta ordem.
- O pequeno número de amostras de VPIH-1 e VPIH-2 não permitiu a análise estatística de suas características clínico-epidemiológicas.
- O VPIH-3 mostrou comportamento sazonal, com maior frequência de infecções observadas nos meses de setembro, outubro e novembro, o que ainda não havia sido demonstrado no Nordeste brasileiro.
- A frequência de IRAs em geral apresentou relação direta com os índices pluviométricos, porém a pluviometria teve relação inversa com a frequência de detecção do VPIH-3.
- A média de idades dos pacientes com infecção pelo VPIH-3 foi de 20 meses, significativamente maior que a média de idades observada entre os pacientes positivos para o VSR (15 meses), e menor que a média entre os positivos para o vírus influenza A (34 meses).
- As IVAS constituíram a principal síndrome clínica observada nos pacientes com infecção pelo VPIH-3 (em 61,62% dos casos), porém não houve diferenças significativas na comparação com o percentual de IVAS observados entre os pacientes negativos para os vírus pesquisados.
- A infecção pelo VPIH-3 foi detectada em quadros de bronquiolite viral aguda e pneumonia, embora numa taxa significativamente menor que a infecção pelo VSR.

- A infecção pelo VPIH-3 relacionou-se a uma incidência significativamente menor de dispnéia, tosse, tiragem intercostal, associação de estertores, roncosp e sibilosp à ausculta pulmonar e alterações ao raio-X de tórax que a infecção pelo VSR.
  
- Os pacientes com infecção pelo VPIH-3 necessitaram significativamente menos de terapêutica com antibióticos, corticóides, oxigênio e nebulização e/ou salbutamol que os casos de VSR, embora tenham necessitado significativamente mais de nebulização e/ou salbutamol que os casos de influenza A.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, J. C.; PÉREZ-BREÑA, M. P.; GARCÍA, M. L.; CRUZ, N.; ERDMAN, D. D.; ECHEVARRÍA, J. E. Detection and identification of human parainfluenza viruses 1, 2, 3 and 4 in clinical samples of pediatric patients by multiplex reverse transcription-PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 38, n. 3, p. 1191-1195, 2000.

AITKEN, C.; JEFFRIES, D. Nosocomial spread of viral disease. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 14, n. 3, p. 528-546, 2001.

ALBERNAZ, E. P.; MENEZES, A. M. B.; CÉSAR, J. A.; VICTORA, C. G.; BARROS, F. C.; HALPERN, R. Fatores de risco associados à hospitalização por bronquiolite aguda no período pós-neonatal. **Rev. Saúde Pública**, v. 37, n. 4, p. 485-493, 2003.

ANDREWES, C. H.; BANG, F. B.; BURNET, F. M. A short description of the *Myxovirus* group (influenza and related viruses). **Virology**, v. 1, p. 176-184, 1955.

ANSARI, S. A.; SPRINGTHORPE, S.; SATTAR, S. A.; RIVARD, S.; RAHMAN, M. Potential role of hands in the spread of respiratory viral infections: studies with human parainfluenza virus 3 and rhinovirus 14. **J. Clin. Microbiol.**, v. 29, n. 10, p. 2115-2119, 1991.

ANTUÑANO, F. J. L. Epidemiology of acute respiratory infections in children: regional overview. In: BENGUIGUI, Y.; ANTUÑANO, F. J. L.; SCHMUNIS, G.; YUNES, J. (Ed.). **Respiratory Infections in Children**. Washington: OPAS, 1999, p. 3-21.

ARRUDA N., E.; HAYDEN, F. G.; McAULIFFE, J. F.; SOUSA, M. A.; MOTA, S. B.; McAULIFFE, M. I.; GEIST, F. C.; CARVALHO, E. P.; FERNANDES, M. C.; GUERRANT, R. L.; GWALTNEY JR., J. M. Acute respiratory viral infections in ambulatory children of urban northeast Brazil. **J. Infect. Dis.**, v. 164, n. 2, p. 252-258, 1991.

BAKIR, T. M. F.; HALAWANI, M.; RAMIA, S. Viral aetiology and epidemiology of acute respiratory infections in hospitalized saudi children. **J. Trop. Pediatr**, v. 44, n. 2, p. 100-103, 1998.

BARENFANGER, J.; DRAKE, C.; LEON, N.; MUELLER, T.; TROUTT, T. Clinical and financial benefits of rapid detection of respiratory viruses: an outcome study. **J. Clin. Microbiol.**, v. 38, n. 8, p. 2824-2828, 2000.

BARTON, T. D.; BLUMBERG, E. A. Viral pneumonias other than cytomegalovirus in transplant recipients. **Clin. Chest Med.**, v. 26, p. 707-720, 2005.

BASANTA, M. L. A. Laringitis aguda (crup). **An. Esp. Pediatr.**, v. 1, n. 1, p. 55-61, 2003.

BEADLING, C.; SLIFKA, M. K. How do viral infections predispose patients to bacterial infections? **Curr. Opin. Infect. Dis.**, v. 17, n. 3, p. 185-191, 2004.

BELSHE, R. B.; NEWMAN, F. K.; TSAI, T. F.; KARRON, R. A.; REISINGER, K.; ROBERTON, D.; MARSHALL, H.; SCHWARTZ, R.; KING, J.; HENDERSON, F. W.; RODRIGUEZ, W.; SEVERS, J. M.; WRIGHT, P. F.; KEYSERLING, H.; WEINBERG, G. A.; BROMBERG, K.; LOH, R.; SLY, P.; McINTYRE, P.; ZIEGLER, J. B.; HACKELL, J.; DEATLY, A.; GEORGIU, A.; PASCHALIS, M.; WU, S.-L.; TATEM, J. M.; MURPHY, B.;

ANDERSON, E. Phase 2 evaluation of parainfluenza type 3 cold passage mutant 45 live attenuated vaccine in healthy children 6-18 months old. **J. Infect. Dis.**, v. 189, p. 462-470, 2004.

BENIGUI, Y. Technical guidelines for the prevention, diagnosis, treatment, and control of acute respiratory infections at the primary care level. In: BENIGUI, Y.; ANTUÑANO, F. J. L.; SCHMUNIS, G.; YUNES, J. (Ed.). **Respiratory Infections in Children**. Washington: OPAS, 1999, p. 313-330.

BERMAN, S. Epidemiology of acute respiratory infections in children in developing countries. **Rev. Infect. Dis.**, v. 13, n. 6, p. 454-462, 1991.

BOURGEOIS, F. T.; OLSON, K. L.; BROWNSTEIN, J. S.; McADAM, A. J.; MANDL, K. D. Validation of syndromic surveillance for respiratory infections. **Ann. Emerg. Med.**, v. 47, n. 3, p. 265-271, 2006.

BRADY, M. T. Survival and disinfection of parainfluenza viruses on environmental surfaces. **Am. J. Infect. Control**, v. 18, n. 1, p. 18-23, 1990.

CABELLO, C.; MANJARREZ, M. E.; OLVERA, R.; VILLALBA, J.; VALLE, L.; PARAMO, I. Frequency of viruses associated with acute respiratory infections in children younger than five years of age at a locality of México City. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 1, p. 21-24, 2006.

CAMARA, A. A.; SILVA, J. M.; FERRIANI, V. P. L.; TOBIAS, K. R. C.; MACEDO, I. S.; PADOVANI, M. A.; HARSÍ, C. M.; CARDOSO, R. A.; CHAPMAN, M. D.; ARRUDA, E.; PLATTS-MILLS, T. A. E.; ARRUDA, L. K. Risk factors for wheezing in a subtropical environment: Role of respiratory viruses and allergen sensitization. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 113, n. 3, p. 551-557, 2004.

CANCHOLA, J.; VARGOSKO, A. J.; KIM, H. W.; PARROTT, R. H.; CHRISTMAS, E.; JEFFRIES, B.; CHANOCK, R. M. Antigenic variation among newly isolated strains of parainfluenza type 4 virus. **Am. J. Hyg.**, v. 79, p. 357-364, 1964.

CARBALLAL, G.; VIDELA, C. M.; ESPINOSA, M. A.; SAVY, V.; UEZ, O.; SEQUEIRA, M. D.; KNEZ, V.; REQUEJO, P. V.; POSSE, C. R.; MICELI, I. Multicentered study of viral acute lower respiratory infections in children from four cities in Argentina, 1993-1994. **J. Med. Virol.**, v. 64, p. 167-174, 2001.

CASHAT-CRUZ, M.; MORALES-AGUIRRE, J. J.; MENDOZA-AZPIRI, M. Respiratory tract infections in children in developing countries. **Semin. Pediatr. Infect. Dis.**, v. 16, n. 2, p. 84-92, 2005.

CHANOCK, R. M.; PARROTT, R. H.; COOK, K.; ANDREWS, B. E.; BELL, J. A.; REICHELDERFER, T.; KAPIKIAN, A. Z.; MASTROTA, F. M.; HUEBNER, R. J. Newly recognized *Myxoviruses* from children with respiratory disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 258, n. 5, p. 207-213, 1958.

CHECON, R. E.; SIQUEIRA, M. M.; LUGON, A. K.; PORTES, S.; DIETZE, R. Short report: seasonal pattern of respiratory syncytial virus in a region with a tropical climate in Southeastern Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 67, n. 5, p. 490-491, 2002.

CHEW, F. T. Seasonal trends of viral respiratory tract infections in the tropics. **Epidemiol. Infect.**, v. 121, n. 1, p. 121-128, 1998.

CHIU, C. Y.; ROUSKIN, S.; KOSHY, A.; URISMAN, A.; FISCHER, K.; YAGI, S.; SCHNURR, D.; ECKBURG, P. B.; TOMPKINS, L. S.; BLACKBURN, B. G.; MERKER, J. D.; PATTERSON, B. K.; GANEM, D.; DERISI, J. L. Microarray detection of human parainfluenzavirus 4 infection associated with respiratory failure in an immunocompetent adult. **Clin. Infect. Dis.**, n. 46, p. 71-76, 2006.

COFFIN, S. E. Bronchiolitis: in-patient focus. **Pediatr. Clin. N. Am.**, v. 52, p. 1047-1057, 2005.

CORTEZ, K. J.; ERDMAN, D. D.; PERET, T. C. T.; GILL, V. J.; CHILDS, R.; BARRETT, A. J.; BENNETT, J. E. Outbreak of human parainfluenza virus 3 infections in a hematopoietic stem cell transplant population. **J. Infect. Dis.**, v. 184, n. 9, p. 1093-1097, 2001.

COSTA, L. F.; YOKOSAWA, J.; MANTESE, O. C.; OLIVEIRA, T. F. M.; SILVEIRA, H. L.; NEPOMUCENO, L. L.; MOREIRA, L. S.; DYONISIO, G.; ROSSI, L. M. G.; OLIVEIRA, R. C.; RIBEIRO, L. Z. G.; QUEIRÓZ, D. A. O. 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**, v. 101, n. 3, p. 301-306, 2006.

COUNIHAN, M. E.; SHAY, D. K.; HOLMAN, R. C.; LOWTHER, S. A.; ANDERSON, L. J. Human parainfluenza virus-associated hospitalizations among children less than five years of age in the United States. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 20, n. 7, p. 646-653, 2001.

CRUZ, J. R.; QUIÑONEZ, E.; DE FERNANDEZ, A.; PERALTA, F. Isolation of viruses from nasopharyngeal secretions: comparison of aspiration and swabbing as means of sample collection. **J. Infect. Dis.**, v. 156, n. 2, p. 415-416, 1987.

CRUZ, M. E. M.; ZAIDAN, A. M. E.; RODRIGUES, M. M. L.; DE SÁ, J. P. O.; SILVA, N. M.; OLIVEIRA, J. F. Incidence of influenza A and B viruses among the population of Maceió-AL, Brazil. **Rev. Bras. Anal. Clin.**, v. 31, p. 9-11, 1999.

D'ELIA, C.; SIQUEIRA, M. M.; PORTES, S. A.; SANT'ANNA, C. C. Infecções do trato respiratório inferior pelo vírus sincicial respiratório em crianças hospitalizadas menores de um ano de idade. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 1, p. 7-10, 2005.

DENNY JR., F. W. The clinical impact of human respiratory virus infections. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 152, p. S4-S12, 1995.

DE ROUX, A.; MARCOS, M. A.; GARCIA, E.; MENSA, J.; EWIG, S.; LODE, H.; TORRES, A. Viral community-acquired pneumonia in nonimmunocompromised adults. **Chest**, v. 125, n. 4, p. 1343-1351, 2004.

DE SILVA, L. M.; CLOONAN, M. J. Brief report: parainfluenza vírus type 3 infections: findings in Sydney and some observations on variations in seasonality worldwide. **J. Med. Virol.**, v. 35, n. 1, p. 19-21, 1991.

DEPARTAMENTO DE INFORMAÇÃO E INFORMÁTICA DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (DATASUS). **Morbidade hospitalar**. <http://www.datasus.gov.br>. Acesso em 16 dez. 2006.

DINIZ, E. M. A.; VIEIRA, R. A.; CECCON, M. E. J.; ISHIDA, M. A.; VAZ, F. A. C. Incidence of respiratory viruses in preterm infants submitted to mechanical ventilation. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 47, n. 1, p. 37-44, 2005.

DOWELL, S. F. Seasonal variation in host susceptibility and cycles of certain infectious diseases. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 7, n. 3, p. 369-374, 2001.

DREWS, A. L.; ATMAR, R. L.; GLEZEN, W. P.; BAXTER, B. D.; PIEDRA, P. A.; GREENBERG, S. B. Dual respiratory virus infections. **Clin. Infect. Dis.**, v. 25, p. 1421-1429, 1997.

DURBIN, A. P.; KARRON, R. A. Progress in the development of respiratory syncytial virus and parainfluenza virus vaccines. **Clin. Infect. Dis.**, v. 37, p. 1668-1677, 2003.

ECHEVARRÍA, J. E.; ERDMAN, D. D.; SWIERKOSZ, E. M.; HOLLOWAY, B. P.; ANDERSON, L. J. Simultaneous detection and identification of human parainfluenza viruses 1, 2 and 3 from clinical samples by multiplex PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 5, p. 1388-1391, 1998.

ELIZAGA, J.; OLAVARRIA, E.; APPERLEY, J. F.; GOLDMAN, J. M.; WARD, K. N. Parainfluenza virus 3 infection after stem cell transplant: relevance to outcome of rapid diagnosis and ribavirin treatment. **Clin. Infect. Dis.**, v. 32, n. 3, p. 413-418, 2001.

FAÇANHA, M. C. Impacto da vacinação de maiores de 60 anos para influenza sobre as internações e óbitos por doenças respiratórias e circulatórias em Fortaleza – CE – Brasil. **J. Bras. Pneumol.**, v. 31, n. 5, p. 415-420, 2005.

FAÇANHA, M. C.; PINHEIRO, A. C. Doenças respiratórias agudas em serviços de saúde entre 1996 e 2001, Fortaleza, CE. **Rev. Saúde Pública**, v. 38, n. 3, p. 346-350, 2004.

FAULKS, J. T.; DRINKA, P. J.; SHULT, P. A serious outbreak of parainfluenza type 3 on a nursing unit. **J. Am. Geriatr. Soc.**, v. 48, n. 10, p. 1216-1218, 2000.

FRANK, A. L. Patterns of shedding of myxoviruses and paramyxoviruses in children. **J. Infect. Dis.**, v. 144, n. 5, p. 433-441, 1981.

FRAYHA, H.; CASTRICIANO, S.; MAHONY, J.; CHERNESKY, M. Nasopharyngeal swabs and nasopharyngeal aspirates equally effective for the diagnosis of viral respiratory disease in hospitalized children. **J. Clin. Microbiol.**, v. 27, n. 6, p. 1387-1389, 1989.

FRY, A. M.; CURNS, A. T.; HARBOUR, K.; HUTWAGNER, L.; HOLMAN, R. C.; ANDERSON, L. J. Seasonal trends of human parainfluenza viral infections: United States, 1990-2004. **Clin. Infect. Dis.**, v. 43, p. 1016-1022, 2006.

FULTON, R. E.; MIDDLETON, P. J. Comparison of immunofluorescence and isolation techniques in the diagnosis of respiratory viral infections of children. **Infect. Immunity**, v. 10, n. 1, p. 92-101, 1974.

FUNDAÇÃO CEARENSE DE METEOROLOGIA. **Monitoramento**. Disponível em: <http://www.funceme.br>. Acesso em: 14 dez. 2006.

GARBINO, J.; GERBASE, M. W.; WUNDERLI, W.; KOLAROVA, L.; NICOD, L. P.; ROCHAT, T.; KAISER, L. Respiratory viruses and severe lower respiratory tract complications in hospitalized patients. **Chest**, v. 12, n. 3, p. 1033-1039, 2004.

GARCÍA, M. L. G.; RUIZ, J. A.; MAYO, J. E. E.; REY, C. C.; FUENTES, I. P.; GARBIN, M. O.; RIECHMANN, E. R.; BREÑA, P. P. Infecciones por el virus parainfluenza tipo 4. **An. Esp. Pediatr.**, v. 57, n. 2, p. 116-120, 2002.

GARCÍA-RODRIGUEZ, J. A.; MARTÍNEZ, M. J. F. Microbiología de la infección respiratoria pediátrica. **An. Esp. Pediatr.**, v. 56, S. 1, p. 2-8, 2002.

GARDNER, P. S.; McQUILLIN, J.; McGUICKIN, R.; DITCHBURN, R. K. Observations on clinical and immunofluorescent diagnosis of parainfluenza virus infections. **Br. Med. J.**, v. 2, n. 752, p. 7-12, 1971.

GARDNER, P. S.; McQUILLIN, J. **Rapid virus diagnosis: Application of immunofluorescence**. 2. ed. London: Butterworth, 1980, 317 p.

GERN, J.E.; ROSENTHAL, L. A.; SORKNESS, R. L.; LEMANSKE, R. F. Effects of viral respiratory infections on lung development and childhood asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 115, n. 4, p. 668-674, 2005.

GLEZEN, W. P. Parainfluenza virus type 3: seasonality and risk of infection and reinfection in young children. **J. Infect. Dis.**, v. 150, n. 6, p. 851-857, 1984.

GLEZEN, W.P. Impact of respiratory virus infections on persons with chronic underlying conditions. **JAMA**, v. 283, n. 4, p. 499-505, 2000.

GRANDIEN, M.; PETTERSSON, C. -A.; GARDNER, P. S.; LINDE, A.; STANTON, A. Rapid viral diagnosis of acute respiratory infections: comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and the immunofluorescence technique for detection of viral antigens in nasopharyngeal secretions. **J. Clin. Microbiol.**, v. 22, n. 5, p. 757-760, 1985.

GREENBERG, D. P.; WALKER, R. E.; LEE, M.-S.; REISINGER, K. S.; WARD, J. I.; YOGEV, R.; BLATTER, M. M.; YEH, S. H.; KARRON, R. A.; SANGLI, S.; EUBANK, L.; COELINGH, L.; CORDOVA, J. M.; AUGUST, M. J.; MEHTA, H. B.; CHEN, W.; MENDELMAN, P. M. A bovine parainfluenza virus type 3 vaccine is safe and immunogenic in early infancy. **J. Infect. Dis.**, v. 191, n. 7, p. 1116-1122, 2005.

GREENBERG, R. A.; DUDLEY, N. C.; RITTICHER, K. K. A reduction in hospitalization, length of stay, and hospital charges for croup with the institution of a pediatric observation unit. **Am. J. Emerg. Med.**, v. 24, p. 818-821, 2006.

GREENBERG, S. B. Viral respiratory infections in elderly patients and patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Am. J. Med.**, v. 112, n. 6A, p. 28S-32S, 2002.

HALL, C. B. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. **N. Engl. J. Med.**, v. 344, n. 25, p. 1917-1928, 2001.

HAZLETT, D. T. G.; BELL, T. M.; TUKEI, P. M.; ADEMBA, G. R.; OCHIENG, W. O.; MAGANA, J. M.; GATHARA, G. W.; WAFULA, E. M.; PAMBA, A.; NDINYA-ACHOLA, J. O.; SIONGOK, T. K. A. Viral etiology and epidemiology of acute respiratory infections in children in Nairobi, Kenya. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 39, n. 6, p. 632-640, 1988.

HEIKKINEN, T.; MARTTILA, J.; SALMI, A. A.; RUUSKANEN, O. Nasal swab versus nasopharyngeal aspirate for isolation of respiratory viruses. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 11, p. 4337-4339, 2002.

HENRICKSON, K. J. Parainfluenza Viruses. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 16, n. 2, p. 242-264, 2003.

HEYMANN, P. W.; CARPER, H. T.; MURPHY, D. D.; PLATTS-MILLS, T. A. E.; PATRIE, J.; McLAUGHLIN, A. P.; ERWIN, E. A.; SHAKER, M. S.; HELLEMS, M.; PEERZADA, J.; HAYDEN, F. G.; HATLEY, T. K.; CHAMBERLAIN, R. Viral infections in relation to age, atopy, and season of admission among children hospitalized for wheezing. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 114, n. 2, p. 239-247, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo demográfico 2000**. <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 14 dez. 2006.

IRMEN, K. E.; KELLEHER, J. J. Use of Monoclonal Antibodies for Rapid Diagnosis of Respiratory Viruses in a Community Hospital. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 7, n. 3, p. 396-403, 2000.

JARTTI, T.; MÄKELÄ, M. J.; VANTO, T.; RUUSKANEN, O. The link between bronchiolitis and asthma. **Infect. Dis. Clin. N. Am.**, v. 19, p. 667-689, 2005.

JOHNSON, D. W.; JACOBSON, S.; EDNEY, P. C.; HADFIELD, P.; MUNDY, M. E.; SCHUH, S. A comparison of nebulized budesonide, intramuscular dexamethasone, and placebo for moderately severe croup. **N. Engl. J. Med.**, v. 339, n. 8, p. 498-503, 1998.

KARRON, R. A.; FROELICH, J. L.; BOBO, L.; BELSHE, R. B.; YOLKEN, R. H. Rapid detection of parainfluenza virus type 3 RNA in respiratory specimens: use of reverse transcription-PCR-enzyme immunoassay. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, n. 2, p. 484-488, 1994.

KIM, M. R.; LEE, H. R.; LEE, G. M. Epidemiology of acute viral respiratory tract infections in Korean children. **J. Infect.**, v. 41, p. 152-158, 2000.

KIMBERLIN, D. W. Antiviral therapies in children: has their time arrived? **Pediatr. Clin. N. Am.**, v. 52, p. 837-867, 2005.

KLIG, J. E.; SHAH, N. B. Office pediatrics: current issues in lower respiratory infections in children. **Curr. Opin. Pediatr.**, v. 17, n. 1, p. 111-118, 2005.

KNOTT, A. M.; LONG, C. E.; HALL, C. B. Parainfluenza viral infections in pediatric outpatients: seasonal patterns and clinical characteristics. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 13, n. 4, p. 269-273, 1994.

KNUTSON, D.; ARING, A. Viral croup. **Am. Fam. Physician**, v. 69, n. 3, p. 535-540, 2004.

KUSEL, M. M. H.; DE KLERK, N. H.; HOLT, P.; KEBADZE, T.; JOHNSTON, S. L.; SLY, P. D. Role of respiratory viruses in acute upper and lower respiratory tract illness in the first year of life: A birth cohort study. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 25, n. 8, p. 680-686, 2006.

KUYPERS, J.; WRIGHT, N.; FERRENBURG, J.; HUANG, M. L.; CENT, A.; COREY, L.; MORROW, R. Comparison of real-time PCR assays with fluorescent-antibody assays for diagnosis of respiratory virus infections in children. **J. Clin. Microbiol.**, v. 44, n. 7, p. 2382-2388, 2006.

LAU, S. K.; TO, W.-K.; TSE, P. W. T.; CHAN, A. K. H.; WOO, P. C. Y.; TSOI, H.-W.; LEUNG, A. F. Y.; LI, K. S. M.; CHAN, P. K. S.; LIM, W. W. L.; YUNG, R. W. H.; CHAN, K.-H.; YUEN, K.-Y. Human parainfluenza virus 4 outbreak and the role of diagnostic tests. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 9, p. 4515-4521, 2005.

LEE, M.-S.; MENDELMAN, P. M.; SANGLI, C.; CHO, I.; MATHIE, S. L.; AUGUST, M. J. Half-life of human parainfluenza virus type 3 (hPIV3) maternal antibody and cumulative proportion of hPIV3 infection in young infants. **J. Infect. Dis.**, v. 183, n. 8, p. 1281-1284, 2001.

LEGG, J. P.; WARNER, J. A.; JOHNSTON, S. L.; WARNER, J. O. Frequency of detection of picornaviruses and seven other respiratory pathogens in infants. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 24, n. 7, p. 611-616, 2005.

LEGOFF, J.; GUÉROT, E.; NDOJOI-MBIGUINO, A.; MATTA, M.; SI-MOHAMED, A.; GUTMANN, L.; FAGON, J.-Y.; BÉLEC, L. High prevalence of respiratory viral infections in patients hospitalized in an intensive care unit for acute respiratory infections as detected by nucleic acid-base assays. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 1, p. 455-457, 2005.

LEMANSKE, R. F. Viral infections and asthma inception. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 114 n. 5, p. 1023-1026, 2004.

LIN, T. Y.; HUANG, Y. C.; NING, H. C.; TSAO, K. C. Surveillance of respiratory viral infections among pediatric outpatients in Northern Taiwan. **J. Clin. Virol.**, v. 30, n. 1, p. 81-85, 2004.

LINA, B.; VALETTE, M.; FORAY, S.; LUCIANI, J.; STAGNARA, J.; SEE, D. M.; AYMARD, M. Surveillance of community-acquired viral infections due to respiratory viruses in Rhone-Alpes (France) during winter 1994 to 1995. **J. Clin. Microbiol.**, v. 34, n. 12, p. 3007-3011, 1996.

LINDQUIST, S. W.; DARNULE, A.; ISTAS, A.; DEMMLER, G. J. Parainfluenza virus type 4 infections in pediatric patients. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 16, n. 1, p. 34-38, 1997.

LO, J. Y. C.; TSANG, T. H. F.; LEUNG, Y.-H.; YEUNG, E. Y. H.; WU, T.; LIM, W. W. L. Respiratory infections during SARS outbreak, Hong Kong, 2003. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 11, n. 11, p. 1738-1741, 2005.

LOBOGUERRERO, M. A. Control of acute respiratory infections in children between 2 months and 5 years of age. In: BENGUIGUI, Y.; ANTUÑANO, F. J. L.; SCHMUNIS, G.; YUNES, J. (Ed.). **Respiratory Infections in Children**. Washington: OPAS, 1999, p. 343-354.

- LOUGHLIN, G. M.; MOSCONA, A. The cell biology of acute childhood respiratory disease: therapeutic implications. **Pediatr. Clin. N. Am.**, v. 53, p. 929-959, 2006.
- LUJÁN-ZILBERMANN, J.; BENAÏM, E.; TONG, X.; SRIVASTAVA, D. K.; PATRICK, C. C.; DEVINCENZO, J.P. Respiratory vírus infections in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. **Clin. Infect. Dis.**, v. 33, p. 962-968, 2001.
- MACEDO, S. E. C.; MENEZES, A. M. B.; POST, P.; ALBERNAZ, E.; KNORST, M. Respiratory syncytial virus infection in children under one year of age hospitalized for acute respiratory diseases in Pelotas, RS. **J. Pneumol.**, v. 29, n. 1, p. 4-8, 2003.
- MAEDA, Y.; HATTA, M.; TAKADA, A.; WATANABE, T.; GOTO, H.; NEUMANN, G.; KAWAOKA, Y. Live bivalent vaccine for parainfluenza and influenza virus infections. **J. Virol.**, v. 79, n. 11, p. 6674-6679, 2005.
- MÄKELÄ, M. J.; PUHAKKA, T.; RUUSKANEN, O.; LEINONEN, M.; SAIKKU, P.; KIMPIMÄKI, M.; BLOMQVIST, S.; HYYPIÄ, T.; ARSTILA, P. Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 2, p. 539-542, 1998.
- MARTIN, R. J. Infections and asthma. **Clin. Chest Med.**, v. 27, p. 87-98, 2006.
- MARTINS, M. G. **Perfil epidemiológico das infecções respiratórias agudas causadas pelo vírus influenza em crianças atendidas no Hospital Infantil Albert Sabin, Fortaleza – Ceará (2001-2004)**. 2005. 89 p. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Microbiologia Médica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.
- MARX, A.; TÖRÖK, T. J.; HOLMAN, R. C.; CLARKE, M. J.; ANDERSON, L. J. Pediatric hospitalizations for croup (laryngotracheobronchitis): Biennial increases associated with human parainfluenza virus 1 epidemics. **J. Infect. Dis.**, v. 176, n. 6, p. 1423-1427, 1997.
- MARX, A.; GARY, H. E.; MARSTON, B. J.; ERDMAN, D. D.; BREIMAN, R. F.; TÖRÖK, T. J.; PLOUFFE, J. F.; FILE, T. M.; ANDERSON, L. J. Parainfluenza virus infection among adults hospitalized for lower respiratory tract infection. **Clin. Infect. Dis.**, v. 29, v. 1, p. 134-140, 1999.
- MEISSNER, H. C. Reducing the impact of viral respiratory infections in children. **Pediatr. Clin. N. Am.**, v. 52, p. 695 – 710, 2005.
- MEQDAM, M. M.; SUBAÏH, S. H.; THWINY, I. R. Rapid detection and clinical features of influenza and parainfluenza in infants and young children hospitalized with acute lower respiratory illnesses. **J. Trop. Pediatr.**, v. 51, n. 3, p. 160-165, 2005.
- MIYAO, C. R.; GILIO, A. E.; VIERA, S.; HEIN, N.; PAHL, M. M. C.; BETTA, S. L.; DURIGON, E. L.; STEWIEN, K. E.; QUEIROZ, D. A. O.; BOTOSO, V. F.; GOMES, M. C. S.; LOPES, C. L. B. C.; EJZENBERG, B.; OKAY, Y. Infecções virais em crianças internadas por doença aguda do trato respiratório inferior. **J. Pediatr.**, v. 75, n. 5, p. 334-344, 1999.
- MONTO, A. S. The Tecumseh study of respiratory illness: V. Patterns of infections with the parainfluenza viruses. **Am. J. Epidemiol.**, v. 97, n. 5, p. 338-348, 1973.
- MONTO, A. S. Epidemiology of viral respiratory infections. **Am. J. Med.**, v. 112, Suppl 6A, p. 4S-12S, 2002.

MONTO, A. S. Occurrence of respiratory virus: time, place and person. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 23, n. 1, p. S58-S64, 2004.

MOURA, F. E. A.; BORGES, L. C.; SOUZA, L. S. F.; RIBEIRO, D. H.; SIQUEIRA, M. M.; RAMOS, E. A. G. Estudo de infecções respiratórias agudas virais em crianças atendidas em um centro pediátrico em Salvador (BA). **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 38, n. 4, p. 275-282, 2003.

MOURA, F. E. A.; NUNES, I. F. S.; SILVA JR., G. B.; SIQUEIRA, M. M. Short report: Respiratory syncytial vírus infections in Northeastern Brazil: seasonal trends and general aspects. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 74, n. 1, p. 165-167, 2006.

MUSHER, D. M. How contagious are common respiratory tract infections? **N. Engl. J. Med.**, v. 348, n. 13, p. 1256-1266, 2003.

NACUL, L. C.; KIRKWOOD, B. R.; CARNEIRO, A. C.; PANNUTI, C. S.; MAGALHÃES, M.; ARTHUR, P. Aetiology and clinical presentation of pneumonia in hospitalized and outpatient children in Northeast Brazil and risk factors for severity. **J. Health Popul. Nutr.**, v. 23, n. 1, p. 6-15, 2005.

NASCIMENTO, J. P.; SIQUEIRA, M. M.; SUTMOLLER, F.; KRAWCZUK, M. M.; FARIAS, V.; FERREIRA, V.; RODRIGUES, M. J. Longitudinal study of acute respiratory viruses during four consecutive years. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 33, p. 287-296, 1991.

NASCIMENTO-CARVALHO, C. M. C. Etiology of childhood community acquired pneumonia and its implications for vaccination. **Braz. J. Infect. Dis.**; v. 5, n. 2, p. 87-97, 2001.

NOYOLA, D. E.; ALPUCHE-SOLÍS, A. G.; HERRERA-DÍAZ, A.; SORIA-GUERRA, R. E.; SÁNCHEZ-ALVARADO, J.; LÓPEZ-REVILLA, R. Human metapneumovirus infections in México: epidemiological and clinical characteristics. **J. Med. Microbiol.**, v. 54, p. 969-974, 2005.

NOYOLA, D. E.; ARTEAGA-DOMÍNGUEZ, G. Contribution of respiratory syncytial vírus, influenza and parainfluenza viruses to acute respiratory infections in San Luis Potosí, Mexico. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 24, n. 12, p. 1049-1052, 2005.

ODDY, W. H.; SLY, P. D.; DE KLERK, N. H.; LANDAU, L. I.; KENDALL, G. E.; HOLT, P. G.; STANLEY, F. J. Breast feeding and respiratory morbidity in infancy: a birth cohort study. **Arch. Dis. Child.**, v. 88, p. 224-228, 2003.

OLIVEIRA, J. F.; DE SÁ, J. P. O.; CRUZ, M. E. M. Influenza virus A and B identification and monitoring in the population of Maceió. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 9, p. 241-246, 2004.

ORDÁS, J.; BOGA, J. A.; ALVAREZ-ARGÜELLES, M.; VILLA, L.; RODRÍGUEZ-DEHLI, C.; DE OÑA, M.; RODRÍGUEZ, J.; MELÓN, S. Role of metapneumovirus in viral respiratory infections in young children. **J. Clin. Microbiol.**, v. 44, n. 8, p. 2739-2742, 2006.

OSIOWY, C. Direct detection of respiratory syncytial vírus, parainfluenza vírus, and adenovirus in clinical respiratory specimens by a multiplex reverse transcription-PCR assay. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 11, p. 3149-3154, 1998.

PELTOLA, V.; HEIKKINEN, T.; RUUSKANEN, O. Clinical courses of croup caused by influenza and parainfluenza viruses. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 21, n. 1, p. 76-78, 2002.

PIEDRA, P. A.; ENGLUND, J. A.; GLEZEN, W. P. Respiratory syncytial vírus and parainfluenza viruses. In: RICHMAN, D.; WHITLEY, R. J.; HAYDEN, F. G. (Ed.). **Clinical Virology**. 1. ed. New York: Churchill Livingstone, 1997. p. 787-819.

PITREZ, P. M. C.; PITREZ, J. L. B. Infecções agudas das vias aéreas superiores – diagnóstico e tratamento ambulatorial. **J. Pediatr.**, v. 79, Supl. 1, p. S77-S86, 2003.

PORTILLO, C. M.; CRUZ, J. Implementación del método rápido de diagnóstico de virus por inmunofluorescencia en niños hospitalizados por infecciones respiratorias agudas. **Rev. Chil. Pediatr.**, v. 71, n. 1, p. 72-77, 2000.

RAY, C. G.; MINNICH, L. Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. **J. Clin. Microbiol.**, v. 25, n. 2, p. 355-357, 1987.

REED, G.; JEWETT, P. H.; THOMPSON, J.; WRIGHT, P. F. Epidemiology and clinical impact of parainfluenza infections in otherwise healthy infants and young children < 5 years old. **J. Infect. Dis.**, v. 175, n. 4, p. 807-813, 1997.

RODRIGUES, O. G.; ROZOV, T.; SILVA, E. M. K.; KOPELMAN, B. I. Infecções virais em crianças portadoras de doença respiratória aguda, atendidas em um Centro de Saúde Escola, em Belém, Pará, Brasil. **Pediatrics (São Paulo)**, v. 26, n. 1, p. 13-20, 2004.

RUUTU, P.; HALONEN, P.; MEURMAN, O.; TORRES, C.; PALADIN, F.; YAMAOKA, K.; TUPASI, T. E. Viral lower respiratory infections in Filipino children. **J. Infect. Dis.**, v. 161, p. 175-179, 1990.

SHEK, L. P.-C; LEE, B.-W. Epidemiology and seasonality of respiratory tract virus infections in the tropics. **Paediatr. Respir. Rev.**, v. 4, p. 105-111, 2003.

SHETTY, A.K.; TREYNOR, E.; HILL, D. W.; GUTIERREZ, K. M.; WARFORD, A.; BARON, E. J. Comparison of conventional viral cultures with direct fluorescent antibody stain for diagnosis of community-acquired respiratory virus infections in hospitalized children. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 22, n.9, p. 789-794, 2003.

SIAS, S. Viroses respiratórias. In: TAVARES, W.; MARINHO, L. A. C. (Ed.). **Rotinas de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias**. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. p. 1070-1080.

SINANOTIS, C. A. Viral pneumoniae in children: incidence and aetiology. **Paediatr. Respir. Rev.**, v. 5, Supl. A, p. S197-S200, 2004.

STRALIOTTO, S. M.; SIQUEIRA, M. M.; MULLER, R. L.; FISCHER, G. B.; CUNHA, M. L. T.; NESTOR, S. M. Viral etiology of acute respiratory infections among children in Porto Alegre, RS, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 4, p. 283-291, 2002.

STRALIOTTO, S. M.; SIQUEIRA, M. M.; MACHADO, V.; MARIA, T. M. R. Respiratory viruses in the pediatric intensive care unit: prevalence and clinical aspects. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 8, p. 883-887, 2004.

SUBBARAO, K. Parainfluenza viruses. In: LONG, S. S.; PICKERING, L. K.; PROBER, C. G. (Ed.). **Principles and practice of pediatric infectious diseases**. 2. ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2003. p. 1131-1135.

SÜTMOLLER, F.; FERRO, Z. P. A.; ASENSI, M. D.; FERREIRA, V.; MAZZEI, I. S.; CUNHA, B. L. Etiology of acute respiratory tract infections among children in a combined community and hospital study in Rio de Janeiro. **Clin. Infect. Dis.**, v. 20, p. 854-860, 1995.

TAUSSIG, L. M.; WRIGHT, A. L.; HOLBERG, C. J.; HALONEN, M.; MORGAN, W. J.; MARTINEZ, F. D. Tucson children's respiratory study: 1980 to present. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 111, n. 4, p. 661-675, 2003.

TEMPLETON, K. E.; SCHELTINGA, S. A.; BEERSMA, F. C.; KROES, A. C. M.; CLAAS, E. C. J. Rapid and sensitive method using multiplex real-time PCR for diagnosis of infections by influenza A and influenza B viruses, respiratory syncytial virus, and parainfluenza viruses 1, 2, 3 and 4. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, n. 4, p. 1564-1569, 2004.

TREANOR, J. Respiratory infections. In: RICHMAN, D.; WHITLEY, R. J.; HAYDEN, F. G. (Ed.). **Clinical Virology**. 1. ed. New York: Churchill Livingstone, 1997. p. 787-819.

TSAI, H. P.; KUO, P. H.; LIU, C. C.; WANG, J. R. Respiratory Viral Infections among Pediatric Inpatients and Outpatients in Taiwan from 1997 to 1999. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 1, p. 111-118, 2001.

TSOLIA, M. N.; PSARRAS, S.; BOSSIOS, A.; AUDI, H.; PALDANIUS, M.; GOURGIOTIS, D.; KALLERGI, K.; KAFETZIS, D. A.; CONSTANTOPOULOS, A.; PAPADOPOULOS, N. G. Etiology of community-acquired pneumonia in hospitalized school-age children: Evidence for high prevalence of viral infections. **Clin. Infect. Dis.**, v. 39, n. 5, p. 681-686, 2004.

TSUCHIYA, L. R. R. V.; COSTA, L. M. D.; RABONI, S. M.; NOGUEIRA, M. B.; PEREIRA, L. A.; ROTTA, I.; TAKAHASHI, G. R. A.; COELHO, M.; SIQUEIRA, M. M. Viral respiratory infection in Curitiba, Southern Brazil. **J. Infect.**, v. 51, p. 401-407, 2005.

VACHON, M.-L.; DIONNE, N.; LEBLANC, E.; MOISAN, D.; BERGERON, M. G.; BOIVIN, G. Human parainfluenza type 4 infections, Canada. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 12, n. 11, p. 1755-1758, 2006.

VAINIONPÄÄ, R.; HYYPIÄ, T. Biology of parainfluenza viruses. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 7, n. 2, p. 265-275, 1994.

VERBOON-MACIOLEK, M. A.; KREDIET, T. G.; GERARDS, L. J.; FLEER, A.; VAN LOON, T. M. Clinical and epidemiologic characteristics of viral infections in a neonatal intensive care unit during a 12-year period. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 24, n. 10, p. 901-904, 2005.

VICTORA, C. G. Risk factors for acute lower respiratory infections. In: BENGUIGUI, Y.; ANTUÑANO, F. J. L.; SCHMUNIS, G.; YUNES, J. (Ed.). **Respiratory Infections in Children**. Washington: OPAS, 1999, p. 41-58.

VIRKKI, R.; JUVEN, T.; RIKALAINEN, H.; SVEDSTRÖM, E.; MERTSOLA, J.; RUUSKANEN, O. Differentiation of bacterial and viral pneumonia in children. **Thorax**, v. 57, p. 438-441, 2002.

WAITE, S.; JEUDY, J.; WHITE, C. S. Acute lung infections in normal and immunocompromised hosts. **Radiol. Clin. N. Am.**, v. 44, p. 295-315, 2006.

WEINBERG, G. A. Parainfluenza viruses – an underappreciated cause of pediatric respiratory morbidity. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 25, n. 5, p. 447-448, 2006.

WEISSENBACHER, M. C.; ÁVILA, M. M. Viruses as the cause of upper and lower acute respiratory infections in children: general characteristics and diagnosis. In: BENGUIGUI, Y.; ANTUÑANO, F. J. L.; SCHMUNIS, G.; YUNES, J. (Ed.). **Respiratory Infections in Children**. Washington: OPAS, 1999,

WILLIAMS, B. G.; GOUWS, E.; BOSCHI-PINTO, C.; BRYCE, J.; DYE, C. Estimates of worldwide distribution of children deaths from acute respiratory infections. **Lancet Infect. Dis.**, v. 2, p. 25-32, 2002.

WILLIAMS, J. D.; WANG, C. K.; YANG, C.-F.; TOLLEFSON, S. J.; HOUSE, F. S.; HECK, J. M.; CHU, M.; BROWN, J. B.; LINTAO, L. D.; QUINTO, J. D.; CHU, D.; SPAETE, R. R.; EDWARDS, K. M.; WRIGHT, P. F.; CROWE JR., J. E. The role of human metapneumovirus in upper respiratory tract infections in children: a 20-year experience. **J. Infect. Dis.**, v. 193, p. 387-395, 2006.

WONG, D. T.; WELLIVER, R. C.; RIDDLESBERGER, K. R.; SUN, M. S.; OGRA, P. L. Rapid diagnosis of parainfluenza virus infection in children. **J. Clin. Microbiol.**, v. 16, n.1, p. 164-167, 1982.

WOO, P. C. Y.; CHIU, S. S.; SETO, W.-H.; PEIRIS, M. Cost-effectiveness of rapid diagnosis of viral respiratory tract infections in pediatric patients. **J. Clin. Microbiol.**, v. 35, n. 6, p. 1579-1581, 1997.

WRIGHT, P. F. Parainfluenza viruses. In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. (Ed.). **Principles and practice of infectious diseases**. 6. ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005. p. 1998-2003.

YANAGIHARA, R.; McINTOSH, K. Secretory immunological response in infants and children to parainfluenza virus types 1 and 2. **Infect. Immun.**, v. 30, n. 1, p. 23-28, 1980.

ZAMBON, M.; BULL, T.; SADLER, C. J.; GOLDMAN, J. M.; WARD, K. N. Molecular epidemiology of two consecutive outbreaks of parainfluenza 3 in a bone marrow transplant unit. **J. Clin. Microbiol.**, v. 36, n. 8, p. 2289-2293, 1998.

## **ANEXOS**

## ANEXO I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### Projeto: Análise das Infecções Respiratórias Virais Infantis por Setores de Atendimento em um Hospital de Referência em Fortaleza.

Estamos fazendo uma pesquisa para conhecer as características das viroses respiratórias em crianças com doenças respiratórias agudas (gripe, bronquite, pneumonia ou outras doenças semelhantes), atendidas no Hospital Infantil Albert Sabin. Essas viroses causam, todos os anos, doença em um grande número de crianças e adultos, e esta pesquisa busca saber mais sobre essas doenças, para tentar ajudar nas medidas de controle, como vacinações ou tratamentos. Para isso, estamos pedindo sua colaboração.

Neste estudo, colhemos o material para exame pela aspiração de uma pequena quantidade de secreção através das narinas da criança. Além disso, preenchemos uma ficha com as informações dadas pela mãe ou pelo responsável pela criança, e pelo médico que a atendeu. A mãe ou responsável fica na sala durante a coleta. Esse procedimento geralmente não dói, mas pode causar desconforto à criança, e ela pode chorar durante a coleta. Raramente, pode ocorrer aspiração de secreção com sangue por pequeno trauma (machucado) na mucosa nasal. O responsável pela criança ou o médico que a atendeu poderão ter acesso ao resultado do exame.

Em caso de dúvida ou solicitação do resultado, o (a) senhor (a) pode entrar em contato com Mariana Mota Moura Fé, telefone nº 9117-8886, ou 3366-8303.

Esclarecemos que a participação neste estudo é voluntária (ninguém é obrigado a participar), e que a pessoa pode desistir de participar a qualquer momento, sem prejudicar o atendimento no hospital. As informações obtidas na pesquisa são confidenciais, e só serão divulgadas em eventos e publicações científicas da área da saúde, sem dizer o nome dos pacientes.

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que, após ter sido esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, concordo em deixar o menor de idade \_\_\_\_\_ participar deste protocolo de pesquisa, sendo eu o seu responsável legal.

Fortaleza, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Responsável pela Criança

Pesquisadora: Mariana Mota Moura Fé – Rua Antônio Gentil, 1775 – Casa 2 –

Tel.: 32757236 – End. Eletrônico: [marianamfe@hotmail.com](mailto:marianamfe@hotmail.com)

Orientadora: Dra. Fernanda Edna Araújo Moura – Tel. 3279 2297 – End. Eletrônico:

[fernandaedna@terra.com.br](mailto:fernandaedna@terra.com.br)

(1ª Via – Pesquisador; 2ª Via – Paciente)

## ANEXO II: Ficha epidemiológica

**Projeto: Análise das Infecções Respiratórias Virais Infantis por Setores de Atendimento em um Hospital de Referência em Fortaleza.**

### DADOS PESSOAIS

Nome do paciente: \_\_\_\_\_  
 Bairro: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_ Pessoa p/ Contato: \_\_\_\_\_  
 Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: Feminino ( ) Masculino ( )

### PROCEDÊNCIA

Ambulatório ( ) Emergência ( ) Observação ( ) Enfermaria ( )  
 UTI ( ) Prontoário: \_\_\_\_\_ Leito: \_\_\_\_\_ Bloco: \_\_\_\_\_

### ASPECTOS SÓCIO-ECONÔMICOS

Renda familiar mensal: \_\_\_\_\_  
 Pai e mãe empregados( ) Pai e mãe desempregados( ) Pai ou mãe empregado( )  
 Escolaridade do pai: \_\_\_\_\_ Mãe: \_\_\_\_\_  
 Quantas pessoas moram na casa: \_\_\_\_\_ Nº de cômodos: \_\_\_\_\_  
 Frequenta Creche/Escola? Sim( ) Não( ) Quantas horas por dia: \_\_\_\_\_

### HISTÓRICO DO PACIENTE

Parto Normal ( ) Cesárea ( ) Fórceps ( ) A Termo ( ) Prematuro ( )  
 Não Mamou ( ) Mamou < 6 Meses ( ) Mamou > 6 meses ( ) Ainda mama ( )  
 Vacinação: Em Dia ( ) Atrasada ( )  
 1ª Vez que Cansa: Sim ( ) Não ( ) Idade em que cansou pela 1ª vez: \_\_\_\_\_  
 Internação anterior por problema respiratório: Não ( ) Sim ( ) Nº de vezes \_\_\_\_\_  
 Gripe Frequentemente: Não( ) Sim( ) Nos últimos 2 meses: ( )1-2x ( )3-5x ( )>5x  
 A criança está faltando aula pela doença atual? Não ( ) Sim ( ) Nº de dias \_\_\_\_\_  
 Ausência no trabalho (pais) pela doença atual? Não ( ) Sim ( ) Nº de dias \_\_\_\_\_  
 Doenças associadas: Não ( ) Sim ( ) Qual? \_\_\_\_\_

### HISTÓRICO FAMILIAR

História de Cansaço na Família: Mãe( ) Pai ( ) Irmãos( ) Primos( ) Tios( )  
 Avós( ) Não( )  
 Outro familiar com IRA: Não( ) Sim( ) Quem? \_\_\_\_\_  
 Fumantes em casa: Não( ) Sim( ) Quem? \_\_\_\_\_

### EXAME FÍSICO E ASPECTOS CLÍNICOS

Peso: \_\_\_\_\_ Temperatura: \_\_\_\_\_ FR: \_\_\_\_\_ Queixa principal: \_\_\_\_\_  
 Tempo de início dos sintomas: \_\_\_\_\_  
 Coriza( ) Obstrução Nasal( ) Espirros( ) Tosse Cheia( ) Tosse Seca( ) Dispnéia ( )  
 Febre( ) Conjuntivite( ) Otite( ) Dor de garganta( ) Dor de cabeça( )  
 Gemente( ) Rouquidão( ) Anorexia( ) Vômitos( ) Diarréia( ) Cianose( )  
 Convulsões( ) Estridor( ) Exantema( )  
 Ausculta Pulmonar: Roncos( ) Sibilos( ) Estertores( ) Normal( )  
 Tiragem intercostal( ) Tiragem supraesternal / subcostal( )  
 Batimentos de asa do nariz( )

**EXAMES REALIZADOS**

Raio-X de Tórax: Sim( ) Não( )

Data	Resultado – Achados Radiológicos
	Normal( ) Condensação( ) Infiltrado Intersticial( ) Hiperinsuflação( ) Outros _____
	Normal( ) Condensação( ) Infiltrado Intersticial( ) Hiperinsuflação( ) Outros _____
	Normal( ) Condensação( ) Infiltrado Intersticial( ) Hiperinsuflação( ) Outros _____

Hemograma:

Data	Ht	Hb	Leucócitos	Segm	Linfóc.	Linf. atípicos	Bas.	Eosin	Mono	Plaq.

Gasometria arterial:

Data	pH	PCO <sub>2</sub>	PO <sub>2</sub>	Sat. O <sub>2</sub>			

Hemocultura: Não( ) Sim( ) Negativa ( ) Positiva ( )

Bactéria isolada: \_\_\_\_\_

Antibiograma: Resistente \_\_\_\_\_  
Sensível \_\_\_\_\_**TRATAMENTO INSTITUÍDO PELO MÉDICO**

Antitérmico( ) Antibiótico( ) Aerossol( ) Salbutamol( ) Corticóide( )

Sol. fisiológica nasal( ) Cateter de O<sub>2</sub>( ) Oxi-Hood( ) Ventilação Mecânica( )

Adrenalina( ) Fisioterapia respiratória( )

Outros \_\_\_\_\_

	Especificação	Início	Término	Nº total de dias
Antibiótico 1				
Antibiótico 2				
Antibiótico 3				
Antibiótico 4				

Outros \_\_\_\_\_

Data admissão \_\_\_\_\_ Data alta \_\_\_\_\_ Nº dias internação \_\_\_\_\_

Óbito: Sim( ) Não( )

**IMPRESSÃO DIAGNÓSTICA** \_\_\_\_\_

## **ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO**

Editorial Manager(tm) for The Pediatric Infectious Disease Journal  
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Parainfluenza virus infections in a tropical city: seasonal trends, clinical and epidemiological aspects.

Short Title: Parainfluenza virus infections in a tropical city Parainfluenza infections in a tropical city

Article Type: Original Studies

Keywords: acute respiratory infections; parainfluenza virus; epidemiology; Brazil

Corresponding Author: Fernanda Edna Araújo Moura, PhD

Corresponding Author's Institution: Universidade Federal do Ceará

First Author: Fernanda Edna Araújo Moura, PhD

Order of Authors: Fernanda Edna Araújo Moura, PhD; Mariana M Fé, M.D.; André J Monteiro, Ph.D

Manuscript Region of Origin: BRAZIL

**Abstract:** Background. In spite of the importance of human parainfluenza virus (HPIV) as a pathogen of human respiratory tract, little information on the epidemiology and clinical characteristics of HPIV infections, especially for children from tropical countries, has been published.

**Objectives.** To determine the frequency of parainfluenza infections in children attended at a large hospital in Fortaleza in Northeast Brazil, and describe seasonal patterns, clinical and epidemiological characteristics of these infections.

**Methods.** From January 2001 to December 2006, a total of 3070 nasopharyngeal aspirates were collected from children attending at Hospital Infantil Albert Sabin. These aspirates were then screened by indirect immunofluorescence for human parainfluenza viruses 1, 2, and 3 (HPIV-1, 2 and 3) and other respiratory viruses.

**Results.** Respiratory virus antigens were identified in 30.39% of the samples (933/3070). HPIV was detected in 117 cases (3.81%). The frequency of HPIV-3, HPIV-1 and HPIV-2 was of 83.76%, 11.96% and 4.27%, respectively. Only HPIV-3 showed a seasonal occurrence, with most cases observed from September to

November, and there was an inverse relationship with the rainy season. Most HPIV-3 infections seen in outpatients were diagnosed as upper respiratory tract infections. The HPIV-3 infections were milder than respiratory syncytial virus cases.

Conclusions. Cases of respiratory infections due to parainfluenza virus in Fortaleza occur throughout the year in low numbers, although they peak in the dry season months of September, October and November.

Suggested Reviewers: Marilda Siqueira Ph.D

Virology, Instituto Oswaldo Cruz

msiq@ioc.fiocruz.br

Dra Marilda Siqueira is leader of Laboratory of Respiratory Viruses of the Oswaldo Cruz Institute. She is author of several studies about viral respiratory infections.

Juan Arbiza Ph.D

Leader, Laboratory of Molecular Virology, Universidad de La Republica de Uruguay

jarbiza@fcien.edu.uy

Dr. Arbiza is an expert in respiratory viruses in Latin America.

Luis F Avendaño M.D.

Professor, División de Ciencias Médicas, Facultad de Medicina-Universidad de Chile

lavendan@med.uchile.cl

Dr. Avendano has an expressive number of publications about viral respiratory infections in Chilean children.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ – UFC  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA MÉDICA  
UNIDADE DE VIROLOGIA



---

April, 2007

To: Editorial Office – Pediatric Infectious Diseases Journal

Dear Editors,

We are sending our manuscript, entitled: “Parainfluenza virus infections in a tropical city: seasonal trends, clinical and epidemiological aspects”, for your consideration for publication in the **Pediatric Infectious Diseases Journal** in the category of Original Study.

The present study has not and will not be submitted for publication elsewhere.

The authors of the study affirm that have not any financial or other relationships that might lead to a conflict of interests.

All the authors of this study read and concur with the present submission and subsequent revisions submitted by the corresponding author, in this case, Fernanda Edna Araújo Moura, which address is: Rua Monsenhor Furtado SN, Rodolfo Teófilo, 60 441-750, Fortaleza, CE, Brasil. (Email: [fernandaedna@terra.com.br](mailto:fernandaedna@terra.com.br)).

---

Mariana Mota Moura Fé

---

André Jalles Monteiro

---

Fernanda Edna Araújo Moura

**Parainfluenza virus infections in a tropical city: seasonal trends, clinical and epidemiological aspects.**

MARIANA MOTA MOURA FÉ, Post-Graduation Program in Medical Microbiology, Virology Section, Department of Pathology and Forensic Medicine of the Federal University of Ceará – Brazil.

ANDRÉ JALLES MONTEIRO, PHD, Department of Statistics and Applied Mathematics of the Federal University of Ceará – Brazil.

FERNANDA EDNA ARAÚJO MOURA, PHD, Virology Section, Department of Pathology and Forensic Medicine of the Federal University of Ceará – Brazil.

Corresponding author: Fernanda Edna Araújo Moura

Rua Alice, 58, C-07, Cidade dos Funcionários, CEP 60822-610, Fortaleza, Ceará, Brazil

Fax number: 55021 85 33668300; Telephone number: 55021 85 33668303

E-mail: [fernandaedna@terra.com.br](mailto:fernandaedna@terra.com.br)

Address for reprints (same as corresponding author)

Grant sponsor: This work was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) grant 620053/2004-6.

Key words: acute respiratory infections, parainfluenza virus, epidemiology, Brazil

Parainfluenza virus infections in a tropical city

Parainfluenza infections in a tropical city

**Parainfluenza virus infections in a tropical city: seasonal trends, clinical and epidemiological aspects**

MARIANA M. MOURA FÉ, MD, ANDRÉ J. MONTEIRO PHD AND FERNANDA E. A. MOURA MD, PHD

*Background.* In spite of the importance of human parainfluenza virus (HPIV) as a pathogen of human respiratory tract, little information on the epidemiology and clinical characteristics of HPIV infections, especially for children from tropical countries, has been published.

*Objectives.* To determine the frequency of parainfluenza infections in children attended at a large hospital in Fortaleza in Northeast Brazil, and describe seasonal patterns, clinical and epidemiological characteristics of these infections.

*Methods.* From January 2001 to December 2006, a total of 3070 nasopharyngeal aspirates were collect from children attending at Hospital Infantil Albert Sabin. These aspirates were then screened by indirect immunofluorescence for human parainfluenza viruses 1, 2, and 3 (HPIV-1, 2 and 3) and other respiratory viruses.

*Results.* Respiratory virus antigens were identified in 30.39% of the samples (933/3070). HPIV was detected in 117 cases (3.81%). The frequency of HPIV-3, HPIV-1 and HPIV-2 was of 83.76%, 11.96% and 4.27%, respectively. Only HPIV-3 showed a seasonal occurrence, with most cases observed from September to November, and there was an inverse relationship with the rainy season. Most HPIV-3 infections seen in outpatients were diagnosed as upper respiratory tract infections. The HPIV-3 infections were milder than respiratory syncytial virus cases.

*Conclusions.* Cases of respiratory infections due to parainfluenza virus in Fortaleza occur throughout the year in low numbers, although they peak in the dry season months of September, October and November.

## **INTRODUCTION**

Human parainfluenza viruses (HPIVs) are a common cause of acute respiratory infections (ARI) in infants and children. There are four subtypes of HPIV, but subtypes 1, 2, and 3 have been more extensively investigated. All subtypes can cause a full spectrum of respiratory illnesses, including upper respiratory infections, croup, bronchiolitis and pneumonia.<sup>1,2</sup> Seasonal patterns of HPIV infections are distinct among the subtypes and geographic regions. Studies from the United States of America (USA) show that HPIV-3 is endemic throughout the year, being more frequent in late spring, while HPIV-1 and HPIV-2 circulate biennially in the fall of odd-numbered years, with more cases of HPIV-1 seen than HPIV-2. Outbreaks of HPIV-1 and HPIV-2 may occur in intercalated years.<sup>3-7</sup> In tropical countries, there have been fewer studies of HPIV, and most of them don't demonstrate a seasonal pattern of HPIV infections.<sup>8-10</sup>

This study was conducted in Fortaleza, a tropical city in Northeast Brazil, from January 2001 to December 2006. The purposes of the study were: (1) To determine the frequency of HPIV infections among children attended at Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), the most important pediatric hospital in Fortaleza; (2) To describe the seasonal pattern and the clinical and epidemiological characteristics of these infections; (3) To search for a possible relationship between pluviometric precipitation and HPIV infections; and (4) To compare the clinical and epidemiological characteristics of parainfluenza infections with infections caused by respiratory syncytial virus (RSV).

## **METHODS**

This study was conducted at HIAS, a teaching hospital where care is provided to low income children living in Fortaleza and other cities of the state of Ceará. The city of Fortaleza is located at sea level, 4° south of the equator and has a tropical climate

characterized by two distinct seasons: the rainy season, that occurs in the first semester of each year, usually from January to June, and the dry season, during the rest of the year. The humidity is high (>70%), and there is little temperature variation throughout the year. During this study, the minimum and maximum daily temperatures in Fortaleza were 21.1°C and 33.9°C, respectively.

The patients included in this study were children and teenagers (0 to 16 years old) with acute respiratory symptoms. They were attended at the emergency department, outpatient's clinics and pediatric wards of HIAS. Basic information about medical history, risk factors, medical diagnoses of each patient were obtained from parental interview and clinical examination in each setting of attendance. Patients were included in the study if they had one or more of the following symptoms: cough, coryza, sore throat, earache, breathing difficulty, stridor and / or wheezing and fever ( $\geq 37.5^\circ\text{C}$ ) within seven days of onset. This study was approved by the Ethical Committee of HIAS. The parents of the children included in the study were required to sign a formal written consent, which was carefully explained to them. Nasopharyngeal aspirates were obtained from the patients by aspiration as described previously.<sup>11</sup> They were analyzed by indirect immunofluorescence assay that was performed using the Respiratory Panel I Viral Screening and Identification (Chemicon International, Inc, Temucula, CA), following the manufacturer's instructions, for detecting antigens of the following respiratory viruses: HPIV-1, 2 and 3, RSV, influenza A and B, and adenovirus.

Descriptive statistics (mean, standard deviation, Student test) were used for univariate analysis. Comparisons were carried out using the Fisher exact test and Pearson's  $\chi^2$  for categorical variables. All *P* values were considered significant if  $\leq 0.05$ . Spearman's correlation test was used to correlate the total number of ARI cases, the number of HPIV-3 cases and monthly rainfall.

## RESULTS

A total of 3070 samples of nasopharyngeal aspirates were collected in the six-year study. Most of the children with respiratory symptoms were attended mostly in emergency room (58.66%), followed by outpatient's (29.08%) and the pediatric wards (11.98%). Most of the samples (84.40%) were collected from previously healthy patients. Respiratory viruses were detected in 933 cases (30.39%), and there were 117 cases of HPIV (3.81%). Mixed viral infections including HPIV were observed in six cases, two of them with RSV. Of the HPIV cases, HPIV-3 was the most frequently detected type, accounting for 83.76% of cases; 11.96% were HPIV-1, and only 4.27% were HPIV-2.

As there were a high number of positive cases for HPIV-3 found in this study, a statistical analysis was able to be done by comparing these infections to negative cases and RSV-positive cases. It was not possible to analyse HPIV-1 and HPIV-2 due to the low number of cases.

To assess the seasonal pattern of respiratory infections and specific viral infections, the number of ARI, HPIV-3 and RSV infections per month was compared to the rainfall. The results show a statistically significant association of the occurrence of ARI with the rainy season ( $P = 0.0000$ ) (Fig.1). The seasonal pattern of HPIV-3 in Fortaleza was characterized by the predominant occurrence from September to November ( $P = 0.0000$ ) and an inverse correlation of these infections with rainy season ( $P = 0.0067$ ) (Fig.2). The contrasting relation of periods of RSV infections (associated to rainy periods) with HPIV-3 infections is shown in Fig.3.

The general characteristics of children infected by HPIV-3, RSV and those infected by other viruses or negative for all viruses analyzed in the study are shown in the Table 1. The main significant differences were observed when comparing HPIV-3 and RSV.

The majority of children with ARI were outpatients (88%), as the majority of HPIV patients (88%) and RSV patients (78.8%). Hospitalized children represented 12% of the study population, and 12% of those infected by HPIV. The number of hospitalized children due to RSV infection was higher than that caused by HPIV-3, and this was statistically significant ( $P = 0.0223$ ).

The mean age of patients infected by HPIV-3 (20 months) was significantly higher than RSV cases (15 months) ( $P = 0.0215$ ).

Upper airway infections were the most frequent clinical syndrome among HPIV-3 patients, diagnosed in 61.62% of the cases. These infections were more associated to HPIV-3 than RSV ( $P = 0.0000$ ). The number of patients diagnosed with pneumonia due to HPIV-3 was statistically lower than caused by RSV ( $P = 0.0007$ ) and bronchiolitis in HPIV-3 patients was less frequent than in RSV patients ( $P = 0.0068$ ).

Regarding clinical manifestations and chest X-ray findings, HPIV-3 patients significantly presented less dyspnea, cough, chest retractions, crackles and radiologic abnormalities than RSV patients. HPIV-3 patients were prescribed less antibiotics, corticosteroids, oxygen, salbutamol and nebulization than RSV patients (Table 2). Other clinical aspects observed did not show statistically significant differences, when comparing infections by HPIV-3 and by other viruses (coryza, fever, sneezing, cyanosis, rash, gastrointestinal symptoms, seizures, specific radiological findings).

## **DISCUSSION**

HPIVs have been underestimated as agents of pediatric IRAs although they represent the second cause of lower tract infections in infants after RSV.<sup>1</sup> The rate of identification of respiratory viruses and specifically HPIV in this study was not so high as in some other studies, but was comparable to other studies that also used direct and indirect immunofluorescence assay to detect the same agents.<sup>12-14</sup> The rate of detection of HPIV in clinical samples of children with ARIs varies with the methods of diagnosis employed, ranging from 0.31 to 13% of ARI cases.<sup>12,15-18</sup> The use of the immunofluorescence (IF) as the single method to identify these infections may have contributed to the low frequency of HPIV infections in this study. The highest rates of identification of HPIV have been achieved by using isolation in cell culture and molecular methods. A rate of 13% of detection of HPIV was achieved by using viral isolation in cell culture in a Mexican study, and with polymerase chain reaction in an English study.<sup>17,19</sup> In spite of the excellent specificity of IF reagents for HPIV in pediatric specimens, the sensibility of available monoclonal antibodies ranges between 0 and 92%, 50 and 100% and 31 and 100% to HPIV-1, HPIV-2 and, HPIV-3, respectively.<sup>1</sup> Although less sensitive than conventional cell culture, this procedure has been uniformly specific, less expensive, and faster than conventional cell culture, allowing viral diagnosis in a few hours.<sup>14,20,21</sup>

The predominance of HPIV-3 among the three subtypes of HPIV analyzed in this study was also demonstrated in several studies.<sup>3,6-8,10,13-15,22,23</sup> In an Italian study of ARI in hospitalized children, using nasal wash as the clinical sample and molecular techniques for 13 respiratory viruses, HPIV-3 was the only HPIV found, representing 7.5% of identified viruses.<sup>18</sup> During a community based study conducted in the city of Fortaleza for 29 consecutive months, 62 infections by HPIV were identified and HPIV-2, HPIV-1 and HPIV-3 represented 54.8, 21% and 13%, respectively. Seven HPIV

isolates were not classified by hemadsorption-inhibition used in that study.<sup>29</sup> During this six-year study, the annual number of infections by HPIV-2 did not exceed two cases. Indeed, in the last three years no case of HPIV-2 occurred.

Seasonal patterns of HPIV infections are distinct among the subtypes and geographic regions and have changed since the first descriptions of HPIV, when, in the 50's and 60's, infections by subtypes 1, 2, and 3 occurred throughout the year, in an endemic pattern. In the 70's, HPIV-1 switched to outbreaks in the odd-numbered years. HPIV-2 was more sporadically detected. The initial pattern of HPIV-3 was endemic, but since 1978 it has changed to epidemic with outbreaks in late winter, spring or early summer, in the United States and Australia.<sup>3,6,7,12,22,24,25</sup> As observed for RSV and influenza, the seasonal pattern of HPIV infections has been described in more detail in studies from temperate areas. A small number of studies have reported an epidemiology of HPIV-4. A Canadian study showed that HPIV-4 infections occur in autumn and winter of some years.<sup>26</sup> In some studies the seasonal distribution of HPIV infections have been described without identifying the serotypes circulating. During a four-year study of epidemiology of viral respiratory infections in Korean children, peaks of HPIV infections were identified around April to June from 1994 to 1997. In this study a second peak of HPIV infections was observed from November 1994 to January 1995.<sup>27</sup> During a 13 month-study in the district of Tlalpan, Mexico City, HPIV infections were detected throughout the year but were more frequent during summer and autumn.<sup>19</sup>

The seasonal pattern of HPIV-3 in the city of Fortaleza during this study shows singular characteristics when compared to those described in the scarce publications relating to HPIV infections in tropical countries.<sup>8-10</sup> In Fortaleza, as in other tropical areas, the rainy season is associated with higher incidences of viral ARIs, especially those caused by RSV and influenza.<sup>9,10,28</sup> In this study, a correlation of the total number

of ARIs with the rainy season was observed, thus agreeing with most studies from tropical areas, where rainfall is the major climatic variable.<sup>8,10</sup> The majority of the cases of HPIV-3 infections in the city of Fortaleza occurred in the dry months, a seasonal pattern which had not previously been described in northeastern Brazil or in other tropical countries. A previous study of viral ARI in children living in Fortaleza showed different findings of HPIV infections. First, the most prevalent subtype was HPIV-2, and second, the occurrence of HPIV-2 in one of the three years of the study was related to rainy season.<sup>29</sup> Brazilian studies about viral ARIs mention a possible interregional variation. Annual outbreaks of HPIV-3 infections in children living in a shanty town in Rio de Janeiro city were observed during the late winter or spring.<sup>30</sup> In a three-year-study conducted in Porto Alegre, a city located in South Brazil, only 10 cases of HPIV-3 were identified out of a total of 862 infections. The HPIV-3 cases were observed from September to November in 1991 and from July to August in 1992.<sup>31</sup>

Regarding the clinical aspects, the infections caused by HPIV-3 were milder than those caused by RSV, where there was a significantly higher involvement of lower respiratory tract, hospitalization, use of antibiotics, salbutamol, corticosteroids and need of oxygen. The occurrence of HPIV-3 infections in older children may have been contributed to these characteristics of HPIV-3 infections. In several studies RSV is the leading viral pathogen associated with infants and young children being hospitalized due to serious ARI.<sup>32,33</sup> An interesting finding of this study was the lower occurrence of croup (laryngotracheobronchitis), the signal illness for HPIV. Six cases of croup were diagnosed, and only two were due to HPIV, both by HPIV-1. Of the etiologic agents of croup, HPIV -1 accounts for half of cases and the other half is associated to HPIV-2, HPIV-3, RSV, influenza A, adenovirus and more rarely to *Mycoplasma pneumoniae*.<sup>34</sup>

This study emphasizes the importance of HPIV and mainly HPIV-3 as an etiologic agent of ARI in children, and reinforces the need to diagnose viral respiratory infections quickly to provide epidemiological and virological data that may be useful in control efforts and in vaccine trials, mostly in developing countries, where less information regarding respiratory viruses is available.

## REFERENCES

1. Henrickson KJ. Parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev.* 2003; 16: 242-264.
2. Hall CB. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *N Engl J Med.* 2001; 344: 1917-1928.
3. Reed G, Jewett PH, Thompson J, Wright PF. Epidemiology and clinical impact of parainfluenza infections in otherwise healthy infants and young children < 5 years old. *J Infect Dis.* 1997; 175: 807-813.
4. Marx A, Török T J, Holman RC, Clarke MJ, Anderson LJ. Pediatric hospitalizations for croup (laryngotracheobronchitis): Biennial increases associated with human parainfluenza virus 1 epidemics. *J Infect Dis.* 1997; 176: 1423-1427.
5. Weinberg GA. Parainfluenza viruses – an underappreciated cause of pediatric respiratory morbidity. *Pediatr Infect Dis J.* 2006; 25: 447-448.
6. Knott AM, Long CE, Hall CB. Parainfluenza viral infections in pediatric outpatients: seasonal patterns and clinical characteristics. *Pediatr Infect Dis J.* 1994; 13: 269-273.
7. Fry AM, Curns AT, Harbour K, Hutwagner L, et al. Seasonal trends of human parainfluenza viral infections: United States, 1990-2004. *Clin Infect Dis.* 2006; 43; 1016-1022.
8. Chew FT. Seasonal trends of viral respiratory tract infections in the tropics. *Epidemiol Infect.* 1998; 121: 121-128.

9. Shek LP, Lee BW. Epidemiology and seasonality of respiratory tract virus infections in the tropics. *Paediatr Respir Rev.* 2003; 4: 105-111.
10. Moura FEA, Borges LC, Souza LSF, et al. Estudo de infecções respiratórias agudas virais em crianças atendidas em um centro pediátrico em Salvador (BA). *J Bras Patol Med Lab.* 2003; 38: 275-282.
11. Gardner PS, McQuillin J. *Rapid virus diagnosis: application of immunofluorescence.* 2. ed. London: Butterworth, 1980.
12. Irmen KE, Kelleher JJ. Use of monoclonal antibodies for rapid diagnosis of respiratory viruses in a community hospital. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000; 7: 396-403.
13. Carballal G, Videla CM, Espinosa MA, et al. Multicentered study of viral acute lower respiratory infections in children from four cities in Argentina, 1993-1994. *J Med Virol.* 2001; 64: 167-174.
14. Shetty AK, Treynor E, Hill DW, et al. Comparison of conventional viral cultures with direct fluorescent antibody stain for diagnosis of community-acquired respiratory virus infections in hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J.* 2003; 22: 789-794.
15. Hazlett DTG, Bell TM, Tukei PM, et al. Viral etiology and epidemiology of acute respiratory infections in children in Nairobi, Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 1988; 39: 632-640.
16. Lina B, Valette M, Foray S, Luciani J, et al. Surveillance of community-acquired viral infections due to respiratory viruses in Rhone-Alpes (France) during winter 1994 to 1995. *J Clin Microbiol.* 1996; 34: 3007-3011.
17. Legg JP, Warner JA, Johnston SL, Warner JO. Frequency of detection of picornaviruses and seven other respiratory pathogens in infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2005; 24: 611-616.

18. Pierangeli A, Gentile M, Di Marco P, et al. Detection and typing by molecular techniques of respiratory viruses in children hospitalized for acute respiratory infection in Rome, Italy. *J Med Virol.* 2007; 79: 463-468.
19. Cabello C, Manjarrez ME, Olvera R, Villalba J, Valle L, Paramo I. Frequency of viruses associated with acute respiratory infections in children younger than five years of age at a locality of México City. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006 101: 21-24.
20. Wong DT, Welliver RC, Riddlesberger KR, Sun MS, Ogra PL. Rapid diagnosis of parainfluenza virus infection in children. *J Clin Microbiol.* 1982; 16: 164-167.
21. Ray CG, Minnich L. Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *J Clin Microbiol.* 1987; 25: 355-357.
22. De Silva LM, Cloonan MJ. Brief report: Parainfluenza virus type 3 infections: findings in Sydney and some observations on variations in seasonality worldwide. *J Med Virol.* 1991; 35: 19-21.
23. Tsai HP, Kuo PH, Liu CC, Wang JR. Respiratory viral infections among pediatric inpatients and outpatients in Taiwan from 1997 to 1999. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 111-118.
24. Glezen WP. Parainfluenza virus type 3: seasonality and risk of infection and reinfection in young children. *J Infect Dis.* 1984; 150: 851-857.
25. Monto AS. Occurrence of respiratory virus: time, place and person. *Pediatr Infect Dis J,* 2004; 23: S58-S64.
26. Vachon ML, Dionne N, Leblanc E, Moison D, Bergeron MG, Boivin G. Human parainfluenza type 4 infections in Canada. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12:1755-1758.
27. Kim MR, Lee HR, Lee GM. Epidemiology of acute viral respiratory tract infections in Korean children. *J Infect.* 2000; 41: 152-158.

28. Moura FEA, Nunes IFS, Silva Jr GB, Siqueira MM. Short report: Respiratory syncytial virus infections in Northeastern Brazil: seasonal trends and general aspects. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 74: 165-167.
29. Arruda E, Hayden FG, McAuliffe JF, Sousa MA, Mota SB, McAuliffe MI, Geist FC, Carvalho EP, Fernandez MC, Guerrant RL, Gwaltney JM Jr. Acute respiratory viral infections in ambulatory children of urban northeast Brazil. *J Infect Dis.* 1991; 164: 252-258.
30. Nascimento JP, Siqueira MM, Suttmoller F, et al. Longitudinal study of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro: occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1991; 33: 287-296.
31. Straliootto SM, Siqueira MM, Muller RL, Fischer GB, Cunha MLT, Nestor SM. Viral etiology of acute respiratory infections among children in Porto Alegre, RS, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002; 35: 283-291.
32. Craig P. Systematic review of the biology and medical management of respiratory virus infection. *Respiratory Care.* 2003 48: 209-233.
33. Iwane MK, Edwards KM, Szilagyi PG, et al. Population-based surveillance for hospitalizations associated with respiratory syncytial virus, influenza virus, and parainfluenza viruses among young children. *Pediatrics.* 2004; 113: 1758-1764.
34. Denny FW, Murphy TF, Clyde WA Jr, Collier AM, Henderson FW. Croup: a 11-year study in pediatric practice. *Pediatrics.* 1983; 71: 871-876.

TABLE 1 – Demographic and clinical data of children infected by human parainfluenza virus (HPIV), respiratory syncytial virus (RSV) and others (\*).

Characteristics	HPIV (+)	RSV (+)	Others	Total
	(N / %)	(N / %)	(N / %)	(N / %)
<b>Local of attending</b>				
Emergency room	70 (59.8)	318 (58.1)	1413 (59.0)	1801 (58.8)
Outpatients	33 (28.2)	113 (20.7)	747 (31.1)	893 (29.2)
Ward	14 (12.0)	116 (21.2)	238 (9.9)	368 (12.0)
<b>Gender</b>				
Male	75 (63.0)	316 (57.8)	1295 (53.9)	1684 (54.9)
Female	44 (37.0)	231 (42.2)	1107 (46.1)	1382 (45.1)
<b>Age</b>				
Mean	20	15	24	22
Standard deviation	21.25	15.79	27.15	25.51
<b>Clinical diagnosis (**)</b>				
Upper airway infection	72 (61.5)	207 (37.8)	1464 (60.9)	1746 (58.2)
Pneumonia	19 (16.2)	173 (31.5)	474 (19.7)	722 (23.5)
Bronchiolitis	17 (14.5)	126 (23.0)	183 (7.6)	326 (10.6)
Bronchitis	2 (1.7)	9 (1.6)	50 (2.0)	61 (2.0)
Bronchitis	21 (17.9)	69 (12.6)	393 (16.3)	484 (15.7)
Asthma in crisis	2 (1.7)	-	4 (0.1)	6
Croup	-	9 (1.6)	12 (0.6)	36 (1.2)
<b>Others</b>				

(\* ) A small amount of data was missing for some of the patients, so the total number is sometimes smaller than total of cases. "Others" includes negative cases, influenza A and B cases and adenovirus cases. (\*\*) There was association of two clinical diagnoses

TABLE 2 – Comparison of clinical aspects and treatments prescribed in human parainfluenza virus type 3 (HPIV-3) and respiratory syncytial virus (RSV) cases.

	HPIV-3 (+) (%)	RSV (+) (%)	p-value
<b>Clinical manifestations</b>			
Dyspnea	50.0	74.5	0.0000
Cough	38.0	55.6	0.0001
Crackles	15.5	36.0	0.0010
Chest retraction	23.2	36.0	0.0166
<b>X-ray abnormalities</b>	55.0	83.2	0.0002
<b>Treatment</b>			
Antibiotics	23.7	40.7	0.0014
Corticosteroids	11.5	26.3	0.0011
Oxygen	3.1	13.6	0.0026
Nebulization	52.6	75.5	0.0000

FIGURE 1 – Monthly variation of total of cases of ARIs and rainfall, from 2001 to 2006.

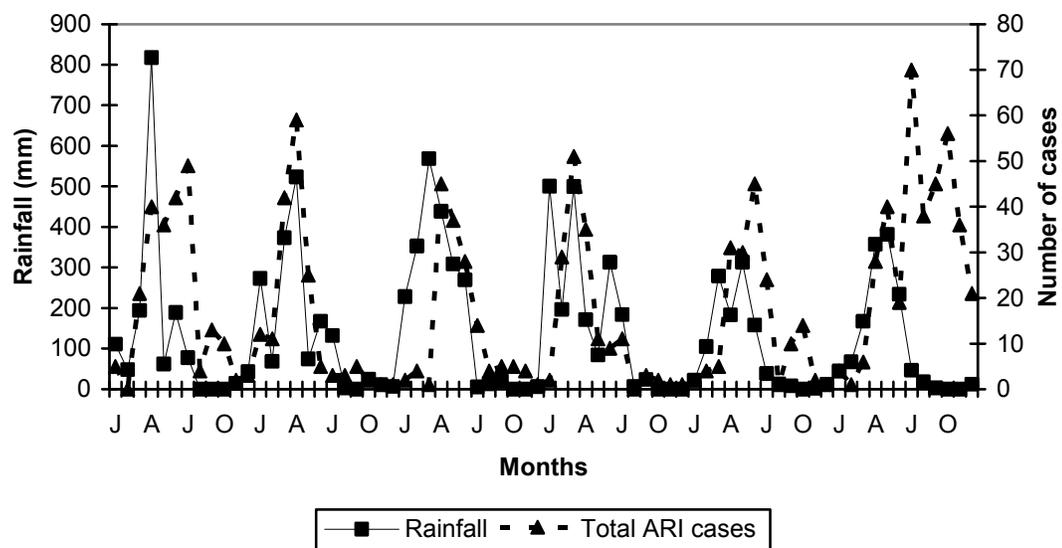


FIGURE 2 – Monthly distribution of the number of the parainfluenza 3 cases and rainfall, from January 2001 to December 2006.

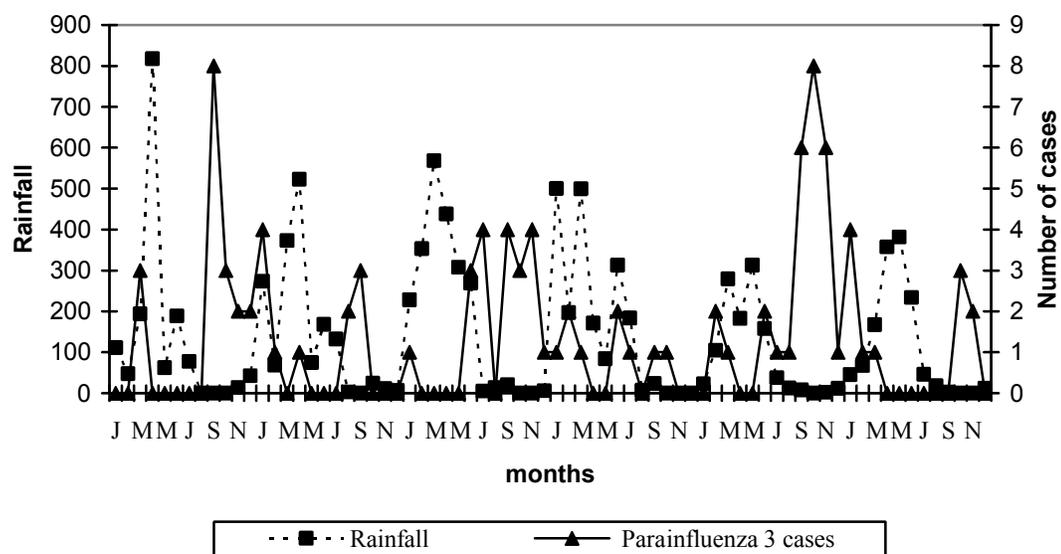
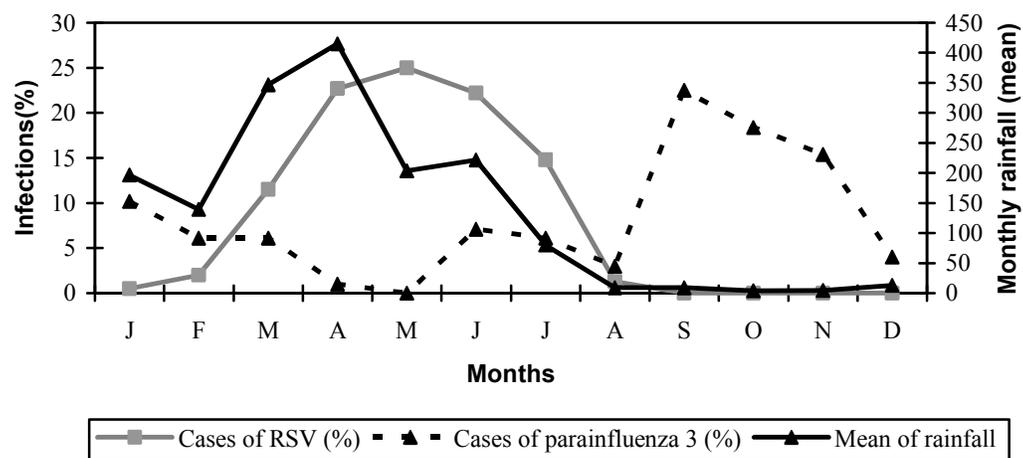


FIGURE 3 – Monthly distribution of the mean rainfall and the percentual of parainfluenza virus 3 and respiratory syncytial virus (RSV) infections from January 2001 to December 2006.



# **Seasonality of influenza epidemics in Fortaleza and Brazilian influenza vaccination campaigns for the elderly**

FEA Moura\* /<sup>+</sup>, MMM Fé, JF Ribeiro, NP de Lavor, RCO Abitbol\*\*, EBL Carvalho, MM Siqueira\*\*\*

Laboratório de Virologia, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, Rua Monsenhor Furtado s/n, 60441-750, Fortaleza, CE, Brasil \*\* Hospital Infantil Albert Sabin da Secretaria da Saúde do Estado do Ceará, Tertuliano Sales, 544, 60410-790, Fortaleza, Ceará, Brazil \*\*\* Laboratório de Vírus Respiratórios, Departamento de Virologia, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Av. Brasil 4365, 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Brazilian mass vaccination campaigns against influenza implemented by the Brazilian government in 1999 have been carried out simultaneously all over the country without taking regional and climatic differences into consideration. Influenza infections were recorded and quantified during six consecutive years (2001-2006) in a cohort of children attending Hospital Infantil Albert Sabin in Fortaleza, a state capital in northeastern Brazil. The study shows that influenza seasons in Fortaleza peak prior to or simultaneously with the beginning of national influenza vaccination campaigns. Thus, campaigns should be advanced to ensure the effectiveness of influenza vaccination in these parts of the country.

**Key words:** influenza, epidemic period, vaccination

Due to the growth of the elderly population in Brazil, in 1999 the Ministry of Health introduced influenza vaccination for citizens aged 60 years and up. Seasonal trends of influenza are well documented in southern and southeastern Brazil where epidemics occur

between May and September, but not in the other regions of the country (Nascimento et al. 1991, Stralioetto et al. 2002, Forleo-Neto et al. 2003, Tsuchiya et al. 2005, Costa et al. 2006). One of the objectives of the influenza surveillance system set up by the Brazilian Ministry of Health in 2000 was to generate and disseminate epidemiological data on influenza (Ministério da Saúde 2005). In spite of the scarcity of data available on influenza seasonality in three major regions of the country (North, Northeast and Midwest), mass influenza vaccination campaigns have been carried out simultaneously in all Brazilian regions since 1999. Not surprisingly, published data indicate that these campaigns have produced benefits in southern and southeastern Brazil, but not in the rest of the country (Ministério da Saúde 2005, Francisco et al. 2005, Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul 2006, Façanha 2005).

The present study was retrospective and analyzed a data sample from a survey covering acute respiratory viral infections in children attending the outpatient service, emergency room and wards of Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS) in Fortaleza, a state capital in northeastern Brazil, between January 2001 and December 2006. The presence of influenza A and B antigens in samples of nasopharyngeal aspirates collected from children was detected by indirect immunofluorescence with the Respiratory Panel I Viral Screening and Identification kit (Chemicon International, Inc, Temucula, CA) following the manufacturer's directions. Children of all ages with a clinical diagnosis of upper and/or lower respiratory infection within seven days of onset of symptoms were eligible for the study. Demographic data, medical history and informed written consent were obtained from the population studied, and the study was approved by the Ethics Committee at HIAS. The

objective of this study was (1) to record and quantify influenza infections observed in Fortaleza during the study period and (2) to compare peaks of influenza epidemics in Fortaleza with the timing of national influenza vaccination campaigns for the elderly.

Following the respiratory syncytial virus, influenza was the second-most frequent virus detected in the study accounting for 217 of a total of 3,070 cases of acute respiratory infection registered for the period. Confirming trends described in the literature, our data show that influenza epidemics coincide with increases in the number of children attending primary care services and emergency rooms for febrile respiratory illness and subsequent hospitalizations for pneumonia (Ploin et al. 2007).

Six influenza seasons were observed during the six years covered by the study, one each year during the first semester (92.6% of all influenza cases). Influenza A was the prevalent serotype in all periods and accounted for 92% of cases. The onset of each influenza season was variable (January, February, March or April), but all seasons peaked in March or April. As shown in the figure, influenza seasons in Fortaleza occurred prior to or simultaneously with the national influenza vaccination campaigns.

The prevention of influenza epidemics and pandemics has been centered on vaccination efforts worldwide. In Brazil, mass influenza vaccination campaigns have been sponsored by the government since 1999. Free vaccines are provided for citizens aged 60 years and up, patients with HIV or other chronic medical conditions and to health care professionals. Since being established, campaigns have been carried out in April (2000, 2002, 2003 and 2004) or in the last week of April and first week of May (2001 and 2005), covering a period of 4–19 days. Twice a year (in September and February) the World Health Organization Global Influenza Programme issues recommendations regarding the

composition of the influenza vaccine for the following season, expected to begin in either May/June (southern hemisphere) or December (northern hemisphere) (WVER 2002). The choice of April for the beginning of influenza vaccination campaigns in Brazil seems to be based on the influenza seasonality observed in southern and southeastern Brazil (Nascimento et al. 1991, Stralioetto et al. 2002, Forleo-Neto et al. 2003, Tsuchiya et al. 2005, Costa et al. 2006). Interestingly, information on influenza seasonality in Fortaleza was already available when Brazilian campaigns were implemented in 1999 (Arruda et al. 1991), showing influenza epidemics to occur primarily during the first months of the year, in association with the rainy season. These results match the findings of the present study.

As expected, reports have shown influenza vaccination campaigns to be effective in cities in southern and southeastern Brazil, reflected in the reduced number of outbreaks and the lower hospitalization rates for influenza-like illnesses in the elderly population (Ministério da Saúde 2005, Francisco et al. 2005, Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul 2006). Unfortunately, no such trends have been observed for the remaining three regions of the country. Thus, in the North an average increase of 6.8% was registered in hospitalization rates for respiratory causes between 1998 and 2000 (Ministério da Saúde 2005), while in the Northeast (Fortaleza) no reductions were reported in hospital admissions or in mortality rates for respiratory diseases among people over 60 as a result of the campaigns, although the vaccination coverage ranged from 79.90% to 88.98% in this area (Façanha, 2005). Influenza surveillance was performed with children due to the central role of children in the dissemination of the infection in the community. Children are major transmitters, shedding the virus at higher titers and for longer periods than adults (Munoz, 2003). Since the peak of antibody production in response to influenza vaccination occurs 4-

6 weeks post-vaccination, it is clear that vaccination cannot be expected to provide protection against influenza if it is given simultaneously with the peak of the influenza season in Fortaleza, when the majority of residents, including risk groups, have already been exposed to the virus.

The results presented in this study may be useful in health policy making when reconsidering the timing of influenza vaccination campaigns in Fortaleza. The analysis of the data recorded since the national influenza surveillance system was established seven years ago may also contribute to the solution of other specific regional problems identified by this surveillance.

#### **Financial suport**

The study was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq). Grant #620053/2004-6.

#### **REFERENCES**

Arruda E, Hayden FG, McAuliffe JF, De Sousa MA, Mota SB, McAuliffe MI, Geist FC, Carvalho EP, Fernandez MC, Guerrant RL, Gwaltney JM Jr 1991. Acute respiratory viral infections in ambulatory children of urban northeast Brazil. *J Infect Dis* 164: 252-258.

Costa LF, Yorosawa J, Mantese OC, Oliveira TFM, Silveira HL, Nepomuceno LL, Moreira LS, Dyinosio G, Rossi LMG, Oliveira RC, Ribeiro LZG, Queiroz DAO 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(3): 301-306.

Façanha MC 2005. Influenza vaccination of individuals over the age of 60: impact on hospital admissions and deaths from respiratory and circulatory diseases in Fortaleza, Brazil. *J Bras Pneumol* 31: 415-20.

Forleo-Neto E, Halker E, Santos VJ, Paiva TM, Toniolo-Neto J 2003. Influenza. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 36: 267-274.

Francisco PMSB, Donalisio MRC, Latorre RDO, 2005. Impact of influenza vaccination on mortality by respiratory diseases among Brazilian elderly persons. *Rev Saúde Pública* 39: 1-6.

Ministério da Saúde 2005. Secretaria de Vigilância em Saúde. Plano de preparação brasileiro para o enfrentamento de uma pandemia de influenza. Série B. Textos básicos em saúde. [http://portalweb02.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/plano\\_flu\\_final.pdf](http://portalweb02.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/plano_flu_final.pdf)

Munoz FM, 2003. Influenza virus infection in infancy and childhood. *Paediatric Respiratory Reviews* 4: 99-104.

Nascimento JP, Siqueira MM, Suttmoller F, Krawczuk, MM, Farias V, Ferreira V, Rodrigues MJ, 1991. Longitudinal study of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro: occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 33: 287-296.

Ploin D, Gillet Y, Morfin E, Fouilhoux A, Billaud G, Liberas S, Denis A, Thouvenot D, Fritzell B, Lina B, Floret D 2007. Influenza burden in febrile infants and young children in a pediatric emergence department. *Ped Infect Dis J* 26: 142-147.

Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul. Pneumologia. Impacto da vacinação anti-influenza na mortalidade e internação por pneumonia em maiores de 60 anos no estado do Rio Grande do Sul. [http://www.saude.gov.br/das/pneumologia\\_impacto\\_vacina.php](http://www.saude.gov.br/das/pneumologia_impacto_vacina.php)

Stralioatto SM, Siqueira MM, Muller RL Fischer GB, Cunha MLT, Nestor SM, 2002. Viral etiology of acute respiratory infections among children in Porto Alegre, RS, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 283-291.

Tsuchiya LRRV, Costa LMD, Raboni SM, Nogueira MB, Pereira LA, Rotta I, Takahashi GRA, Coelho M, Siqueira MM 2005. Viral respiratory infection in Curitiba, Southern Brazil. *J Infection* 51: 401-407.

WHO 2005. Influenza vaccines. *WER* 33: 277-288.

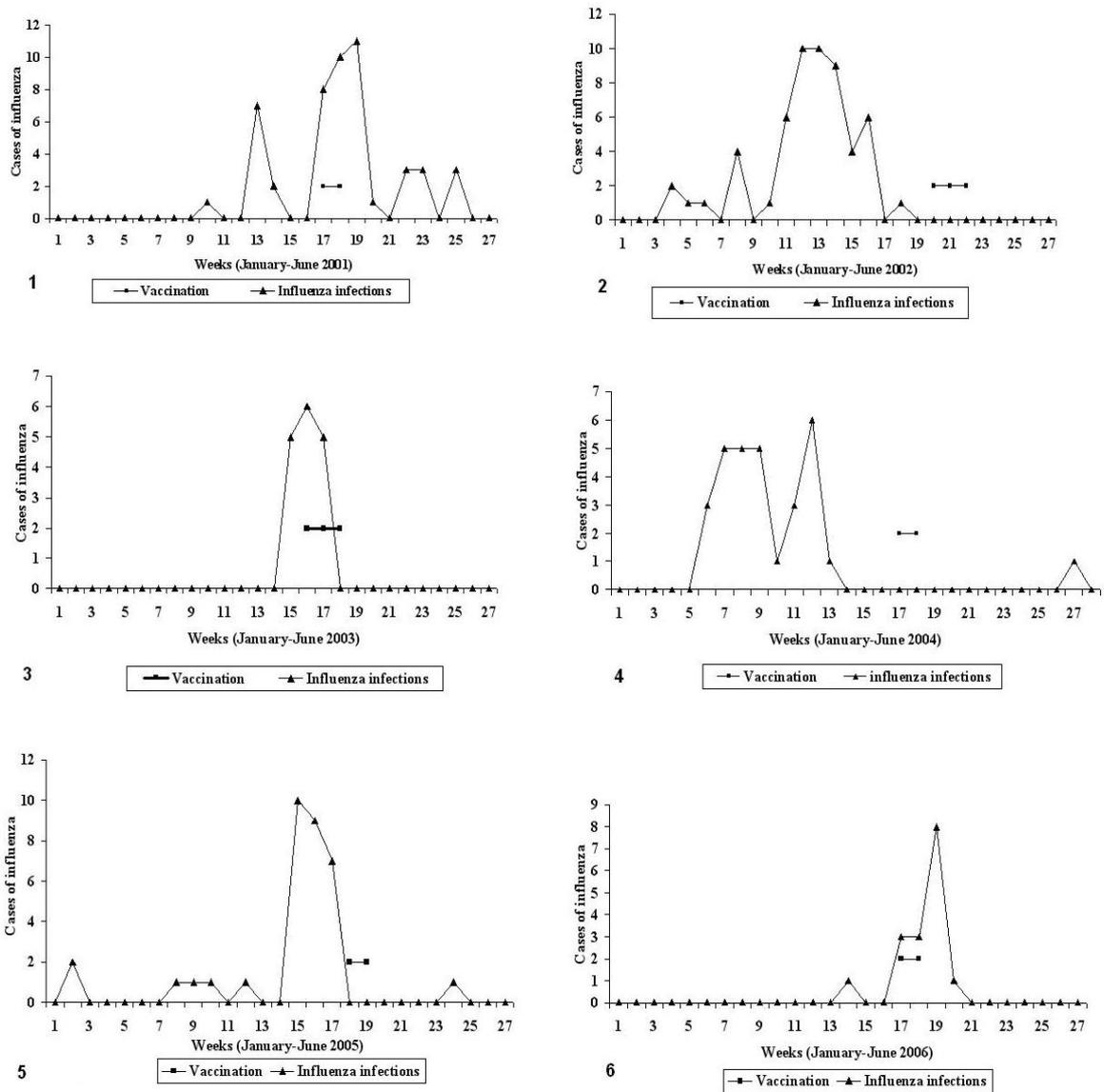


Figure 1. Comparison of peaks of influenza infections in children attending Hospital Infantil Albert Sabin in Fortaleza and the timing of six consecutive Brazilian influenza vaccination campaigns for elderly citizens. (1).2001 (2).2002 (3).2003 (4).2004 (5). 2005 (6). 2006.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)