

Rubella vaccination strategy

Estratégia de vacinação contra a rubéola

Alan R. Hinman*

Quando as vacinas contra a rubéola surgiram em 1969, elas eram inicialmente usadas somente nos países industrializados. Duas estratégias importantes eram utilizadas para prevenir a ocorrência da síndrome de rubéola congênita (SRC). Nos Estados Unidos, a estratégia visava interromper a circulação do vírus entre crianças pequenas, reduzindo assim a possibilidade de exposição por parte de uma gestante. Isso foi obtido através da vacinação em massa de crianças com idades entre 1 e 12 anos (num período de 1 a 3 anos), seguida da vacinação universal de crianças assim que elas completassem 1 ano de idade. No Reino Unido, o objetivo foi fornecer proteção às meninas quando as mesmas estivessem prestes a entrar na idade reprodutiva e isso consistia em vaciná-las (apenas) aos 12-14 anos de idade.

A abordagem estadunidense reduziu consideravelmente a incidência total de rubéola e SRC e eliminou o ciclo epidêmico da doença, que costumava durar de 6 a 9 anos; mas casos esporádicos de SRC persistiram através da transmissão entre adultos jovens. No Reino Unido, houve pouca mudança na tendência secular de ocorrência da rubéola e houve grandes epidemias com aumentos significativos no número de casos de SRC, embora fossem em menor número que na época que antecedeu a vacina. Assim, ambas as abordagens obtiveram sucesso, mas nenhuma delas teve um ótimo impacto. Ao revisar a experiência, em 1983, concluímos que a primeira prioridade dos programas de vacinação contra a rubéola deveria ser a vacinação de mulheres em idade reprodutiva. A segunda prioridade seria interromper a transmissão da rubéola (através da vacinação de crianças). Essa estratégia "completa" deveria resultar na prevenção máxima da SRC¹.

O Reino Unido acrescentou a vacina contra a rubéola ao seu esquema de vacinação infantil de rotina em 1988 (vacina tríplice) e promoveu uma campanha bastante abrangente envolvendo a vacina contra sarampo-rubéola (SR) em 1994².

Os casos de rubéola e SRC vêm diminuindo significativamente. Nos Estados Unidos, há uma ênfase maior na imunização de mulheres em idade reprodutiva. A rubéola não é mais uma doença endêmica nos Estados Unidos³.

Houve uma rápida evolução nas estratégias de vacinação contra a rubéola nas Américas no final dos anos 80 e início dos anos 90. A liderança nesse sentido ocorreu por parte dos países caribenhos de língua inglesa. Como parte integrante de suas atividades de eliminação do sarampo, muitos países incluíram a vacina contra a rubéola. Essa estratégia continha dois componentes primordiais: vacinação em massa de indivíduos masculinos e femininos com idades entre 1 e 40 anos com a vacina SR ou tríplice e inclusão da vacina contra a rubéola no esquema de vacinação infantil de rotina. O resultado foi que o sarampo e a rubéola foram eliminados como doenças indígenas nos países caribenhos de língua inglesa⁴.

Apesar do progresso obtido no Caribe, em 1998, concluímos que era prematuro estabelecer uma meta de eliminação da rubéola para esse hemisfério, mas ao mesmo tempo, reconhecemos que seria um desenvolvimento lógico, já que o progresso com a eliminação do sarampo continuava. Recomendamos categoricamente o início da vigilância da SRC (e da rubéola) nas Américas e a incorporação da vacina contra a rubéola (SR ou tríplice) aos programas de vacinação infantil, tanto como parte da imunização infantil de rotina aos 12-15 meses como parte do seguimento das campanhas contra o sarampo abrangendo todas as crianças com idades entre 1 e 4 anos a cada 4 anos. Durante vários anos, isso preveniria a epidemia de rubéola entre as crianças, embora não gerasse um efeito imediato na transmissão da rubéola entre adultos ou na ocorrência de SRC. Também recomendamos que todos os países adotassem um dos três passos adicionais seguintes: vacinação em massa de indivíduos do sexo feminino com idades entre 5 e 39 anos, vacinação em massa de indivíduos do sexo masculino e feminino com idades entre 5 e 39 anos, ou

**Veja artigo relacionado
na página 415**

* MD, MPH. Task Force for Child Survival and Development, Decatur, Georgia, USA.

Como citar este artigo: Hinman AR. Rubella vaccination strategy. J Pediatr (Rio J). 2007;83(5):389-391.

doi 10.2223/JPED.1700

vacinação de mulheres em idade reprodutiva. Quando se estabeleceu uma meta de eliminação para o hemisfério, os países deveriam cobrir quaisquer dos passos que não tivessem sido realizados anteriormente⁵. A vigilância da rubéola foi integrada à do sarampo.

Um encontro em 2000 promovido pela Organização Mundial da Saúde recomendou duas abordagens para a prevenção da SRC – prevenção da SRC apenas (através da vacinação de meninas e/ou mulheres em idade reprodutiva) e eliminação da rubéola e da SRC (através da vacinação universal de lactentes com ou sem campanhas em massa, vigilância e garantia de imunidade a mulheres em idade reprodutiva). O encontro também recomendou que os países que atualmente incluem a rubéola em seu esquema de imunização infantil devem assegurar que as mulheres em idade reprodutiva estejam imunes e devem buscar a eliminação da rubéola⁶.

A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) recomendou que “os países dispostos a acelerar o controle da rubéola e/ou a prevenção da SRC devem implementar rapidamente uma vacina contendo rubéola para a população adulta, além da vacinação infantil de rotina. Para acelerar a prevenção da SRC, sugere-se que os países realizem uma campanha única de vacinação em massa com vacinas contendo rubéola que inclua todos os indivíduos do sexo feminino com idades entre 5 e 39 anos. Com essa estratégia, o número de casos de SRC diminuiu significativamente, mas como os homens continuam suscetíveis, a circulação do vírus persiste. Todavia, em países que buscam uma estratégia rápida para o controle da rubéola, recomenda-se uma campanha única de vacinação em massa (com vacina contra o sarampo e vacina contendo rubéola) para indivíduos do sexo masculino e feminino com idades entre 5 e 39 anos. Essa estratégia interrompe a transmissão do vírus da rubéola”⁷. O Brasil e o Chile direcionaram suas campanhas somente às mulheres, enquanto as campanhas na Costa Rica e em Honduras incluíram tanto homens como mulheres⁸.

Dado o progresso contínuo na eliminação do sarampo no hemisfério ocidental e o grande interesse na utilização da vacina contra a rubéola, em setembro de 2003, o Conselho Diretor da OPAS aprovou uma resolução que determina que seus Estados-membros eliminem a rubéola e a SRC até 2010⁹.

A magnitude da rubéola como problema de saúde pública no Brasil tornou-se aparente quando o país adotou o plano de erradicação do sarampo. Entre 1993 e 1996, quase 50% dos casos suspeitos em que o sarampo foi descartado foram diagnosticados subsequentemente como rubéola. Como parte das atividades de erradicação do sarampo, as crianças com idades entre 1 e 11 anos foram vacinadas com a vacina SR. Contudo, foram relatados surtos de rubéola em vários estados entre 1998 e 2000 e em muitos deles a maior proporção de casos ocorreu entre adolescentes e jovens adultos. Em resposta, um programa de vacinação em massa de mulheres foi realizado em duas etapas. Cada estado estabeleceu o grupo-alvo e a data para a vacinação. As mulheres com idades entre

12 e 39 anos foram o principal alvo. Treze estados realizaram campanhas direcionadas a mulheres adultas em novembro de 2001 e os outros 11 estados realizaram campanhas entre junho e julho de 2002. No total, 27 milhões de mulheres foram cobertas pela campanha¹⁰.

O artigo de Lanzieri et al. neste número da revista descreve o controle progressivo da rubéola e SRC no estado da Paraíba, Brasil¹¹. Isso reflete também a necessidade de uma abordagem abrangente a fim de garantir a interrupção da transmissão da rubéola e a eliminação da SRC. A vacinação de todas as crianças com idades entre 1 e 11 anos em uma campanha em massa realizada em 1998, seguida da incorporação da vacina tríplice ao esquema de vacinação infantil de rotina, apresentou um impacto considerável na transmissão da rubéola entre as crianças, mas não preveniu a ocorrência de surtos de rubéola entre adolescentes e adultos jovens, conforme observado em 2000 na Paraíba. Se fosse viável realizar uma vacinação em massa das mulheres à época da campanha de vacinação infantil, o surto provavelmente poderia ter sido evitado. No entanto, em um país do tamanho do Brasil, isso significaria grandes desafios em termos financeiros, de planejamento e implementação. A vacinação de homens adultos e também de mulheres (como ocorre na maioria dos outros países latino-americanos) teria sido praticamente uma garantia de que a transmissão da rubéola entre adultos cessaria e também teria acrescentado mais 25 milhões de pessoas (ou mais) a serem vacinadas, resultando em custos adicionais e maior complexidade.

Existem outros dois pontos a ser destacados no estudo de Lanzieri. O primeiro é a alta proporção de casos suspeitos de SRC investigados ao nível laboratorial ($167/171 = 97,7\%$). Isso se deve à vigilância ativa implementada na maternidade de referência em João Pessoa, capital do estado da Paraíba, devendo ser contrastado com uma menor proporção em um estado vizinho onde não houve vigilância ativa ($2/45 = 4,4\%$)¹². A vigilância eficaz é importante para avaliar a interrupção da transmissão da rubéola. O segundo ponto importante é o fato de que houve comprometimento auditivo em apenas metade dos casos de SRC, um número mais baixo do que costuma ser relatado. Isso pode refletir as manifestações normalmente sutis da SRC.

Creio que a principal mensagem dessa experiência no estado da Paraíba (e no Brasil) é de que a rubéola e a SRC foram quase eliminadas de um país de grande extensão e com grande densidade demográfica em um período de 5 anos. Essa é uma conquista importante e, com a experiência do restante das Américas, isso deve servir de estímulo para o resto do mundo para que estratégias de prevenção e erradicação da SRC sejam adotadas.

Agradecimentos

Agradeço os comentários pertinentes de Tatiana Lanzieri, Rebecca Prevots e Susan Reef sobre a versão preliminar deste manuscrito.

Referências

- Hinman AR, Bart KJ, Orenstein WA, Preblud SR. [Rational strategy for rubella vaccination](#). *Lancet*. 1983;1: 39-40.
- Plotkin SA, Reef S. [Rubella vaccine](#). In: Plotkin SA, Orenstein WA, editors. *Vaccines*. 4th ed. Philadelphia; Saunders; 2004. p. 707-43.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). [Elimination of rubella and congenital rubella syndrome - United States, 1969-2004](#). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2005;54:279-82.
- Hinman AR. [Rubella and the Americas](#). *Pan Am J Public Health*. 2003;14:298-9.
- Hinman AR, Hersh BS, de Quadros CA. [Rational use of rubella vaccine for prevention of congenital rubella syndrome in the Americas](#). *Pan Am J Public Health* 1998;4:156-60.
- World Health Organization (WHO). Report of a meeting on preventing congenital rubella syndrome: immunization strategies, surveillance needs. Document WHO/V&B/00.10. Geneva, 12-14 January 2000. Geneva: WHO; 2000.
- Castillo-Solórzano C, Carrasco P, Tambini G, Reef S, Brana M, de Quadros CA. [New horizons in the control of rubella and prevention of congenital rubella syndrome in the Americas](#). *J Infect Dis*. 2003;187 Suppl 1:S146-52.
- [Accelerated control of rubella and prevention of congenital rubella syndrome, WHO Region of the Americas](#). *Wkly Epidemiol Rec*. 2003;78:50-4.
- PAHO Directing Council resolution CD44.R1. Sustaining immunization programs – elimination of rubella and congenital rubella syndrome (CRS). <http://www.paho.org/English/GOV/CD/cd44-fr-e.pdf>. Acesso: July 22, 2007.
- [Accelerated control of rubella and prevention of congenital rubella syndrome, Brazil](#). *Wkly Epidemiol Rec*. 2002;77:169-75.
- Lanzieri TM, Pinto D, Prevots DR. Impact of rubella vaccination strategy on the occurrence of congenital rubella syndrome. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83:415-21.
- Lanzieri TM, Parise MS, Siqueira MM, Fortaleza BM, Segatto TC, Prevots DR. [Incidence, clinical features and estimated costs of congenital rubella syndrome following a large rubella outbreak in Recife, Brazil, 1999-2000](#). *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:1116-22.

The beginning of a new era: systematic testing for pathogens causing acute respiratory tract infections (ARI) in children

O início de uma nova era: teste sistemático para patógenos causadores de infecções agudas das vias aéreas superiores (IVAS) em crianças

Heinz-J. Schmitt¹, Britta Gröndahl², Franziska Schaaff¹, Wolfram Puppe²

O problema

As pessoas ficam doentes, em média, dez vezes por ano. Em aproximadamente seis desses casos, a doença é causada por uma infecção aguda das vias aéreas superiores (IVAS). A morbidade dessas infecções é especialmente alta em crianças devido às seguintes razões:

- as crianças geralmente estão tendo contato com o organismo agressor pela primeira vez na vida;
- a falta de imunidade faz com que elas transmitam organismos agressores em grandes quantidades e por um período de tempo prolongado em comparação aos adultos;
- suas vias aéreas são menores do que as dos adultos e, portanto, a reação inflamatória leva a um estreitamento mais significativo das vias aéreas, resultando em um quadro mais grave;

- em média, as crianças têm mais contatos sociais e, além disso, esses contatos com outras crianças e com seus cuidadores são mais íntimos, o que resulta em uma taxa de ataque mais alta;
- dependendo da idade, praticam poucas medidas de higiene apropriadas.

Em países pobres, as IVAS são uma das maiores causas de mortalidade (Tabela 1)¹. Um manejo eficiente da IVAS é, portanto, muito importante em qualquer lugar do mundo. A grande relevância das IVAS infantis apresenta-se em profundo contraste com o escasso conhecimento sobre sua etiologia, epidemiologia e conseqüên-

cias clínicas, como, por exemplo, o desenvolvimento de asma após a ocorrência de infecções respiratórias. Enquanto as IVAS são comparativamente simples de ser diagnosticadas clinicamente por meio da história e do exame físico, somente

Veja artigo relacionado na página 422

1. MD. Infectious Diseases Service, Department of Pediatrics. Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, Germany.

2. PhD. Infectious Diseases Service, Department of Pediatrics. Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, Germany.

Como citar este artigo: Schmitt H-J, Gröndahl B, Schaaff F, Puppe W. The beginning of a new era: systematic testing for pathogens causing acute respiratory tract infections (ARI) in children. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(5):391-394.

doi 10.2223/JPED.1701

Tabela 1 - Número anual de mortes de acordo com a causa em crianças menores de 5 anos em algumas regiões da OMS, estimativas para 2000-2003¹

	Todos os estados membros da OMS		África		Europa		Américas			
					Estados membros com baixa mortalidade		Todos		Estados membros com baixa mortalidade	
	616.764.000		110.944.000		22.050.000		77.885.000		22.978.000	
	Total (x 1000)	%	Total (x 1000)	%	Total (x 1000)	%	Total (x 1000)	%	Total (x 1000)	%
Total de mortes	10.596	100	4.396	100	25	100	439	100	50	100
HIV/AIDS	321	3	285	6	0	0	6	1	0	0
Diarréia	1.762	17	701	16	0	0	51	12	0	0
Sarampo	395	4	227	5	0	0	1	0	0	0
Malária	853	8	802	18	0	0	1	0	0	0
IVA	2.027	19	924	21	0	2	54	12%	1	2
Neonatal	3.910	37	1.148	26	14	55	195	44	29	58
Injúrias físicas	305	3	76	2	2	7	23	5	5	10

os achados clínicos não permitem identificar o microorganismo agressor em um caso individual. Geralmente, encontramos o pico da temporada do vírus respiratório sincicial (VRS) na metade da temporada da influenza; e, frequentemente, – com base somente em conhecimento parcial da situação epidemiológica e do espectro de doenças causadas pelos dois organismos – notificações inespecíficas de infecções respiratórias causam confusão tanto para o público em geral quanto para os médicos²: a falta de ferramentas apropriadas para estabelecer o diagnóstico das IVAS e, portanto, a falha na identificação de seus patógenos resulta no fracasso de tratar os pacientes de maneira eficaz. Enquanto sabemos que pelo menos 70% das infecções das vias aéreas inferiores são causadas por vírus, “tratamentos cegos” com antibióticos têm se tornado o padrão na maioria dos casos de pneumonia e, até mesmo, em muitos casos de bronquite em muitas instituições em todo o mundo. Além disso, como não conhecemos a frequência dos diferentes patógenos das IVAS, tratamentos novos e específicos não são desenvolvidos.

O que sabemos atualmente

A partir de um ponto de vista principal, os organismos causadores das IVAs podem ser divididos em:

- **colonizadores** como o *Streptococcus pneumoniae*; geralmente sensíveis aos betalactâmicos, e

- **não-colonizadores**, incluindo bactérias (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Bordetella pertussis* e *B. parapertussis*; geralmente sensíveis aos macrolídeos) e vírus (rino-, entero-, metapneumo-, parainfluenza-, influenza-, adeno-, corona-, boca-, polioma-, reo- e vírus RS; entre outros).

Com a rara exceção em que uma hemocultura apresenta resultado positivo para *S. pneumoniae*, atualmente, ainda é impossível provar que um pneumococo é o agente causador da pneumonia. Para se conseguir a prova definitiva de que esses “colonizadores” são a etiologia da infecção das vias aéreas inferiores (IVAI), seria necessário realizar uma punção pulmonar, para evitar a contaminação na cavidade faríngea/oral. Unicamente por razões psicológicas, esse procedimento raramente é realizado – embora provavelmente seja seguro e, na verdade, poderia provar definitivamente a etiologia do respectivo episódio de IVA. Em oposição à situação dos agentes colonizadores, a detecção de um patógeno de IVA não-colonizador em uma amostra nasofaríngea, especialmente em uma criança com o primeiro contato com a IVA, geralmente significa que o patógeno detectado na via aérea superior é a causa da IVAI.

Soluções

Em seu artigo deste número³, Thomazelli et al. usaram oito reações em cadeia da polimerase (PCR) para rastrear a

presença de patógenos de IVA. Em seguida, usaram a análise do fragmento amplificado através do programa GeneScan para realizar a identificação definitiva de produtos de PCR. Através do estudo de pacientes de um grande hospital pediátrico durante 1 ano, os autores encontraram, com mais frequência, o VRS seguido de metapneumovírus, parainfluenza 3, adenovírus, e vírus influenza. Infecções duplas foram encontradas em aproximadamente 7% das crianças.

Esses resultados coincidem com a nossa observação⁴. A partir de 1996, desenvolvemos um ensaio com reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa (multiplex-RT-PCR) para detectar nove^{5,6} e depois 19 patógenos de IVA diferentes (trabalho em desenvolvimento). Durante 10 anos de estudo, e tendo examinado mais de 20.000 amostras até o momento, os rinovírus são encontrados, com mais frequência, em crianças hospitalizadas devido a IVAI. O VRS causa a metade do número de casos se comparado ao rinovírus, e os vírus influenza são detectados em somente cerca de 7% dos casos. Obviamente, esses achados simples devem nos levar a desenvolver intervenções eficientes contra os microorganismos de IVA mais comuns, e não somente contra a influenza. Além disso, o uso do ensaio multiplex-PCR como ferramenta diagnóstica de rotina reduziu o uso de antibióticos em nossa instituição; ensinou-nos sobre a evolução clínica e a grande variabilidade de apresentações clínicas dos organismos de IVA; e, durante as epidemias, reduziu o uso de intervenções diagnósticas como radiografias de tórax ou testes laboratoriais. Em muitos casos, terapias específicas podem ser oferecidas para micoplasma ou influenza, por exemplo. A Tabela 2 apresenta um resumo das vantagens adicionais.

Criamos um "sistema de alerta via Internet", www.pedari.net, onde publicamos o número de cada patógeno de IVA detectado durante a semana anterior, prevemos a atividade de cada organismo para a próxima estação epidemiológica (de 1º de julho a 30 de junho do ano seguinte) e fornecemos informações sobre a IVA.

Isso permite que os pediatras da Alemanha, por exemplo, adaptem o uso da imunoglobulina contra o VRS às suas necessidades: em anos ímpares, as epidemias do VRS começam mais tarde e apresentam picos elevados. A isso se segue uma atividade contínua do VRS no ano seguinte (par), às vezes, até mesmo durante o verão, alcançando novamente um pico antecipado no outono/inverno⁴. Da mesma forma, podem ser detectados os ritmos do metapneumovírus e de outros paramixovírus, enquanto que o adenovírus, o enterovírus e o rinovírus são detectados durante o ano todo⁴.

Problemas atuais

Sempre que surgem novas ferramentas diagnósticas, elas precisam ser validadas e, isso vale especialmente para as técnicas baseadas em PCR. A contaminação deve ser sempre evitada a partir do momento em que a amostra é retirada; por exemplo: ocasionalmente, amostras controle negativas devem ser coletadas no leito do paciente (em solução de soro

Tabela 2 - Vantagem dos testes sistemáticos de patógenos de IVA

Vantagens individuais
Conhecer a etiologia da doença
Reduzir o número de intervenções (radiografias, exames de sangue)
Oferecer o melhor tratamento (sem o uso de antibióticos, betalactâmico ou macrolídeo)
Reduzir efeitos colaterais/custo/dor causada pelas intervenções
Vantagens para a saúde pública
Conhecer a situação epidemiológica
Ensinar/educar os médicos
Oferecer sistema de alerta sobre epidemias
Reduzir hospitalizações
Reduzir o uso de antibióticos
Prever epidemias
Vantagens para a pesquisa: algumas opções
Descrição da epidemiologia (molecular)
Estudos de coorte (p. ex.: desenvolvimento de asma)
Estudos imunológicos (tipo de imunidade seguida de infecção)
Modelo de disseminação de vários organismos
Suscetibilidade genética a IVA

fisiológico ou tampão) para provar que a equipe médica não contaminou a amostra do paciente com "seus" patógenos. Além do uso de métodos rígidos para evitar a contaminação no laboratório, a validação do teste multiplex deveria ser estabelecida para cada organismo através de comparação com as técnicas padrão atuais como cultura celular⁶.

Qualquer que seja o "sistema de teste" utilizado, suas limitações devem ser levadas em consideração, e os médicos devem ser informados a esse respeito.

O futuro

Consideramos óbvio que o teste sistemático de patógenos de IVA é o caminho do progresso. Os problemas técnicos serão solucionados em poucos anos. Mais testes serão padronizados e validados. Atualmente, os testes são muito caros para os pacientes. O custo por exame solicitado comercialmente é de € 396 (www.arti-st.de). Portanto, hoje em dia, as

instituições de saúde pública devem usar o método de vigilância local. É de interesse do público saber quais microorganismos são responsáveis pelas taxas mais altas de morbidade (e até mesmo mortalidade) da população. Além disso, o público deve estar interessado em saber mais sobre patógenos emergentes como o H5N1. Esses patógenos podem ser incluídos nos sistemas de teste multiplex, e somente isso deveria ser razão suficiente para o uso da abordagem sistemática em comparação à falha em vencer os desafios causados pela IVA ou ao uso de métodos ineficazes e sistematicamente equivocados. Com novos desenvolvimentos técnicos surgindo no horizonte, o preço dos testes sistemáticos de IVA podem ser reduzidos substancialmente em um futuro próximo, e espera-se que se tornem o padrão de cuidado oferecido a todas as crianças.

Referências

1. World Health Organization (WHO). World Health Report; 2005. http://www.who.int/whr/2005/annex/annexes3-4_en.pdf.
2. Uphoff H, Puppe W, Schmitt HJ. *Respiratorisches-syncytial-virus: Ursache einer signifikant gesteigerten Morbidität akuter Atemwegsinfekte in Arztpraxen? Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2001;44:987-92.
3. Thomazelli LM, Vieira S, Leal AL, Sousa TS, Oliveira DB, Golono MA, et al. *Surveillance of eight respiratory viruses in clinical samples of pediatric patients in southeast Brazil*. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(5):422-8.
4. Weigl JA, Puppe W, Meyer CU, Berner R, Forster J, Schmitt HJ, et al. *Ten years' experience with year-round active surveillance of up to 19 respiratory pathogens in children*. *Eur J Pediatr*. 2007;[Epub ahead of print].
5. Gröndahl B, Puppe W, Hoppe A, Kühne I, Weigl JAI, Schmitt HJ. *Rapid identification of nine microorganisms causing acute respiratory tract infections by single-tube multiplex reverse transcription-PCR: feasibility study*. *J Clin Microbiol*. 1999; 37:1-7.
6. Puppe W, Weigl JA, Aron G, Gröndahl B, Schmitt HJ, Niesters HG, et al. *Evaluation of a multiplex reverse transcriptase PCR ELISA for the detection of nine respiratory tract pathogens*. *J Clin Virol*. 2004;30: 165-74.