



ARTIGO ORIGINAL

Infecções virais em crianças internadas por doença aguda do trato respiratório inferior

Viral infections in hospitalized children affected by acute lower respiratory tract disease

Cristina R. Miyao¹, Alfredo E. Gilio², Sandra Vieira³, Noely Hein³, Márcia M.C. Pahl⁴, Selma L. Betta³, Edson L. Durigon⁵, Klaus E. Stewien⁶, Divina A.O. Queiroz⁷, Viviane F. Botoso⁷, Maria Cecília S. Gomes⁸, Cristiane L.B.C. Lopes⁹, Bernardo Ejzenberg¹⁰, Yassuhiko Okay¹¹

Resumo

Objetivo: Avaliar a frequência dos principais vírus respiratórios em crianças internadas por doença do trato respiratório inferior em hospital universitário.

Métodos: Foi realizado estudo prospectivo que incluiu duas coortes de crianças internadas no período de abril a julho de 1996. Os grupos foram selecionados segundo a presença de patologia do trato respiratório inferior: Grupo A- com doença aguda (tempo de história inferior a sete dias), e B- sem patologia respiratória presente ou recente. Os parâmetros para definição de doença do trato respiratório inferior incluíram alterações na propedêutica pulmonar e/ou às radiografias simples do tórax. Foram pré-definidos critérios clínicos e radiológicos para classificação das doenças do trato respiratório inferior no grupo A. Foi coletado, à internação, material da nasofaringe de todas as crianças para detecção de vírus, através de cultura em meio celular e por imunofluorescência direta.

Resultados: Foram selecionados 201 casos, 126 no grupo A e 75 no grupo B. Foram identificados vírus em 71 crianças do grupo A (56,4%), enquanto eram somente 3 no grupo B (4,0%). Nas crianças do grupo A foi predominante o vírus respiratório sincicial, detectado em 66 casos, sendo também identificados adenovírus (4) e influenza (1) em outros pacientes. No grupo B foram identificados dois pacientes com vírus respiratório sincicial e um com adenovírus. Os pacientes do grupo A que apresentavam vírus respiratório sincicial tinham mediana de idade (3 meses) menor do que os outros casos deste grupo (13 meses) e apresentavam mais sibilância ao exame físico (78,7% versus 33,3%). Este vírus esteve associado à maior parte dos casos de bronquiolite (84%) e à metade das pneumonias (46,4%).

Conclusões: Os autores constataram uma significativa presença de vírus na maior parte dos casos de crianças internadas com patologia aguda do trato respiratório inferior. O vírus respiratório sincicial foi o agente predominante. Estes resultados são semelhantes aos verificados previamente em pesquisas realizadas em países desenvolvidos e de alguns em desenvolvimento. Ressalvam os autores que o presente estudo avaliou apenas parcialmente a possibilidade de infecção simultânea por outros patógenos e foi realizado durante o período anual de maior frequência do vírus respiratório sincicial.

J. pediatr. (Rio J.). 1999; 75(5): 334-344: vírus, vírus respiratório sincicial, bronquiolite, pneumonia.

Abstract

Objective: To evaluate the frequency of the main respiratory viruses in hospitalized children affected by acute lower respiratory tract disease at a university hospital.

Methods: This is a prospective trial that included two cohorts of hospitalized children in the period from April to July 1996. The groups were selected according to the presence of lower respiratory tract disease on admission: Group A- with acute disease (history of less than 7 days) and B- without present or recent respiratory disease. The parameters for defining lower respiratory tract disease included physical and/or radiological pulmonary changes. Clinical and radiological criteria were established for the classification of lower respiratory tract diseases in group A. Nasopharyngeal swab was collected from all children on admission for viral detection by cellular cultures and direct immunofluorescence.

Results: 201 cases were selected, 126 in group A and 75 in group B. Viruses were identified in 71 children from group A (56.4%) and only in 3 from group B (4.0%). The predominant agent in group A was respiratory syncytial virus, identified in 66 cases; adenovirus (4) and influenza (1) were detected in other patients. In group B two patients with respiratory syncytial virus and one with adenovirus were identified. The patients from group A affected by respiratory syncytial virus were younger (median age 3 months versus 13 months) and more wheezy on physical examination (78.7%) than the other patients of the group (33.3%). This virus was associated to most of the bronchiolitis cases (84%) and to half of the pneumonia cases (46.4%).

Conclusion: The authors found a significant presence of viruses in the majority of children hospitalized with acute lower respiratory tract disease. The respiratory syncytial virus was the predominant agent identified. These results are similar to others previously reported both in developed and some developing countries. The authors emphasize that the present study evaluated only partially the possibility of simultaneous infection by other pathogens and that the present protocol was conducted during the season with the highest incidence of respiratory syncytial virus.

J. pediatr. (Rio J.). 1999; 75(5): 334-344: virus, respiratory syncytial virus, bronchiolitis, pneumonia.

1. Médica Assistente da Divisão de Pediatria do HU-USP
2. Doutor em Pediatria. Médico-Chefe da Enfermaria do HU-USP.
3. Mestre em Pediatria. Médica Assistente da Enfermaria do HU-USP.
4. Doutor em Pediatria. Médica Assistente da Enfermaria do HU-USP.
5. Doutor em Biologia. Laboratório de Virologia ICB-USP.
6. Professor Livre Docente. Chefe do Laboratório de Virologia ICB-USP.
7. Mestre em Ciências. Laboratório de Virologia ICB-USP.

8. Fisioterapeuta pediátrica da Enfermaria do HU-USP.
9. Enfermeira pediátrica da Enfermaria do HU-USP.
10. Doutor em Pediatria. Coordenador de Pesquisas e Publicações da Divisão de Pediatria- HU-USP.
11. Professor Titular. Diretor da Divisão de Pediatria do HU-USP. Divisão de Pediatria do Hospital Universitário da USP. Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

Introdução

Nos países em desenvolvimento as doenças agudas do trato respiratório inferior (DRI) constituem importante causa de internação hospitalar de crianças com idade inferior a cinco anos^{1,2}. Na sua maior parte estas DRI são infecções brônquicas e alveolares, responsáveis por 90% das mortes por patologia respiratória³⁻⁵. As primeiras, infecções de brônquios e bronquíolos, são reconhecidas como de etiologia viral, em sua ampla maioria⁶⁻⁸. Já a etiologia aceita para os quadros pneumônicos, os mais frequentes, é bacteriana, sendo, por vezes, pouco reconhecida a participação dos agentes virais^{1,2,9-11}.

Diferentemente, nos países desenvolvidos os agentes virais são imputados como responsáveis pela maior parte das infecções pulmonares, sejam brônquicas ou alveolares^{8,12,13}. Os principais agentes virais associados à patogenia destas infecções das vias aéreas inferiores são, em ordem decrescente de frequência, o vírus respiratório sincicial (VRS), seguido do para-influenza, influenza e adenovírus^{4,14}.

Em ensaio anterior consideramos a possibilidade de que essas diferenças conceituais quanto à etiologia das infecções pulmonares pudessem não resultar de diferentes características socioeconômicas destes países¹⁵. É possível que essa discrepância de conceito, que decorre de investigações epidemiológicas, constitua um viés determinado por diferentes modelos de pesquisa realizados. Nos países desenvolvidos, as pesquisas etiológicas de crianças com pneumonia avaliaram a presença de vírus em material coletado nas vias aéreas superiores¹⁶⁻¹⁸. Enquanto nos países em desenvolvimento, foram pesquisadas preferencialmente bactérias, através da punção pulmonar aspirativa trans-torácica^{1,10,19,20}. Também deve ser observado que alguns estudos de agentes virais, realizados nos países em desenvolvimento, não alcançaram repercussão, embora tenham constatado significativa importância destes agentes em crianças com infecção das vias aéreas inferiores^{1,11,21-24}. Porém, recentemente, com a ampliação dessas pesquisas, que também observaram relevante papel dos agentes virais, estão sendo reformulados alguns conceitos quanto à etiologia das infecções das vias aéreas inferiores nos países em desenvolvimento²⁵⁻²⁸. A partir das considerações acima, desenvolvemos um estudo controlado para avaliar a importância dos principais agentes virais em crianças carentes internadas por doenças agudas do trato respiratório inferior. Com essa finalidade os autores compararam a frequência de infecções virais em crianças com e sem doença da via aérea inferior.

Métodos

Foi realizado estudo prospectivo que verificou a presença de alguns vírus nas vias aéreas superiores em dois grupos de crianças, com e sem doença na via aérea inferior, internadas na Enfermaria ou na Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica do Hospital Universitário da

USP. O hospital dá atendimento de nível secundário à população carente do bairro Butantã na cidade de São Paulo, com aproximadamente 500.000 habitantes, sendo a Divisão de Pediatria responsável pela faixa etária que se estende do nascimento até os quinze anos incompletos.

O protocolo da pesquisa foi previamente aprovado pelo Comitê de Pesquisa e Ética do Hospital Universitário da USP. Os pais ou responsáveis foram informados da realização do estudo e da razão da coleta de material da via aérea, tendo dado consentimento prévio.

O período pré-estabelecido para o estudo abrangeu de abril a julho de 1996. Este período anual apresenta o pico de incidência das doenças respiratórias atendidas e também internadas em nossa instituição, assim como no estado de São Paulo^{3,29}. Foi pré-determinada a inclusão apenas dos casos internados durante o horário das 8 às 16 horas, no período de segunda a sexta feira, para possibilitar o adequado processamento laboratorial das amostras coletadas.

Todas as crianças internadas durante o período do estudo foram distribuídas em dois grupos, segundo a presença de doença respiratória no trato inferior. O grupo A incluiu as crianças com patologia aguda da via aérea inferior (duração da história igual ou inferior a sete dias), e o grupo B, as crianças sem patologia da via aérea inferior, internadas por outras doenças. Foi pré-estabelecida a exclusão de casos com acometimento das vias aéreas inferiores que tivessem um tempo de história superior a sete dias.

Os critérios para definição de doença do trato respiratório inferior foram clínicos e/ou radiológicos³⁰⁻³². Os critérios clínicos estabelecidos foram: presença de roncocal, sibilocal, ou crepitações, difusocal ou localizados, ao exame físico do tórax, realizado pela autora principal. Os critérios radiológicos foram hiperinsuflação pulmonar difusa e/ou velamento alveolar/intersticial. As radiografias simples de tórax foram realizadas nas posições de frente e perfil, sendo avaliadas pelo serviço de radiologia do hospital.

Para as crianças pertencentes ao grupo A, com doença no trato respiratório inferior, foram pré-estabelecidos critérios para o(s) diagnóstico(s) clínico(s) à internação, abaixo descritos³⁰⁻³²:

a) *bronquiolite* - caso com sibilância bilateral ao exame físico, hiperinsuflação pulmonar difusa e ausência de condensação ao exame radiográfico, em criança com idade inferior a dois anos, sem antecedente similar;

b) *pneumonia* - caso com condensação alveolar, constatada através do exame radiográfico; os casos complicados por derrame pleural foram reconhecidos após punção torácica com coleta mínima de 3 ml de líquido;

c) *pneumonia intersticial* - caso com acometimento intersticial difuso, sem alterações alveolares, constatada através do exame radiográfico;

d) *bronquite aguda* - caso com primeiro episódio de roncocal ou sibilocal difusocal, bilaterais, e ausência de conden-

sação pulmonar ao exame radiográfico, em criança com idade superior a dois anos;

e) *criança chiadora* - caso de qualquer idade com sibilância bilateral, exame radiográfico com hiperinsuflação, com antecedente de episódio similar.

Foram registrados, à internação, parâmetros para comparação dos dois grupos: idade, sexo, cor, estado nutricional³³, febre (temperatura axilar superior a 37,7°C no exame físico inicial ou claramente referida na história), diagnósticos de doença não respiratória, presença de insuficiência respiratória (através da relação $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2 \leq 300$)³⁴. As condutas terapêuticas não foram pré-estabelecidas, sendo adotadas segundo os elementos clínicos e laboratoriais de cada caso. Foram também registradas a evolução dos casos do grupo A, quanto à ocorrência de complicações e duração das internações.

De todos os pacientes incluídos no estudo foram coletados à internação duas amostras das vias aéreas: uma por *swab* da cavidade nasal e outra por aspirado na altura presumida da nasofaringe, obtida através da narina contralateral. As amostras foram colocadas e transportadas em 3 ml de solução salina contendo 0,5% de gelatina^{35,36}. Todos os exames foram processados e analisados no laboratório de virologia clínica e molecular do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

Para detecção viral, foram utilizadas as culturas celulares e a imunofluorescência direta^{37,38}. As amostras coletadas foram processadas no laboratório, em período máximo de 6 horas. Para a realização de culturas celulares alíquotas dos meios contendo o aspirado e o *swab* foram misturadas, homogeneizadas mecanicamente e tratadas com 1% de penicilina e estreptomicina (Gibco BRL^R) por 30 minutos a 4°C. Na seqüência, o material foi centrifugado a 1500 rpm. Três alíquotas de 0,1 ml do sobrenadante foram separadas e inoculadas em meio celular sobre microplacas de poliestireno (Corning Inc.^R, New York). As três linhagens de células utilizadas foram Hep-2, NCI-H292 e Hela-I. A avaliação citopática foi feita durante 15 dias, verificando-se atentamente a formação de sincícios. Nos casos positivos, foram feitas novas subculturas para confirmação e realizada imunofluorescência direta das placas (técnica descrita adiante). Nos casos negativos, foram realizadas duas passagens adicionais em cultura, para confirmação; assim como as correspondentes pesquisas por imunofluorescência direta das placas.

Com as amostras coletadas da nasofaringe foi também realizada a imunofluorescência direta para detecção de antígenos virais. O material homogeneizado no laboratório foi colocado em lâminas e fixado com acetona. Foram utilizados anticorpos monoclonais específicos para influenza A e B, parainfluenza 1,2,3, vírus respiratório sincicial e adenovírus, segundo as técnicas pré-estabelecidas (*kit* comercial Chemicon International^R)^{38,39}. Foram considerados positivos os esfregaços com fluorescência em três ou mais células à microscopia.

Para identificação de epitopos de VRS foram utilizados, para os últimos 12 casos isolados em cultura, anticorpos monoclonais Mab 92-11c para o tipo A, e Mab 102-10b para o tipo B²³.

Como complementação ao estudo, foram obtidas, à internação, duas amostras de sangue venoso de todos os pacientes para realização de hemoculturas para bactérias aeróbias, em meio tríptico de soja⁴⁰. Também foi realizada punção torácica trans-parietal para coleta de líquido pleural nos casos suspeitos de derrame à clínica e radiologia^{31,32}. Quando positiva, o material obtido foi encaminhado, para realização de exame bacterioscópico direto e de cultura em meio tríptico de soja, segundo as técnicas já estabelecidas⁴⁰.

A análise estatística empregou o programa Epi-Info 6.0⁴¹. Foi empregado o teste do Qui-quadrado para comparação de proporções, e o teste exato de Fisher quando houvesse casela com algarismo inferior a 5. Foi empregado o teste t de Student para comparação de médias. Foi definido o nível de significância em 0,05.

Resultados

No período do estudo, de primeiro de maio a 31 de julho de 1996, foram internadas na Divisão de Pediatria 201 crianças, sendo 185 nas enfermarias e 16 na Unidade de Terapia Intensiva, dentro dos critérios seletivos pré-estabelecidos. Destes casos, 126 apresentavam doença do trato respiratório inferior (Grupo A), e 75 tinham outras patologias (Grupo B). Não foram incluídas 2 crianças que apresentavam, à internação, doença respiratória por período superior a 7 dias; um caso de atelectasia pulmonar e outro de bronquiectasia, em acordo com os critérios pré-estabelecidos para o protocolo.

Os diagnósticos das 126 crianças do grupo A, à internação, foram bronquiolite (25), bronquiolite e pneumonia (12), pneumonia (58), pneumonia e derrame pleural (8), pneumonia intersticial (6), criança chiadora (12) e bronquite aguda (5). Dezesesseis destes pacientes estavam em insuficiência respiratória³⁴. As crianças do grupo B tiveram como causa de internação distúrbios gastrointestinais (25), do sistema nervoso central (18), urinários (11), do tegumento (6), ósteo-articulares (5), endócrinos (5) e hematológicos (5). Algumas características clínicas das crianças dos grupos A e B estão colocadas na Tabela 1. No grupo A, foi constatada uma significativa predominância do sexo masculino e uma mediana das idades inferior ao grupo B. Foram comparadas as idades médias dos dois grupos, com a exclusão de dois valores aberrantes (12 e 13 anos) do grupo B; este, ainda assim, apresentou idade média significativamente maior que a verificada para o grupo A.

Foram isolados vírus nas vias aéreas em 71 (56,4%) das crianças do grupo A, enquanto foram reconhecidos apenas 3 (4,0%) casos no grupo B ($p < 0,001$). Apenas um agente viral foi isolado nos casos positivos. Os resultados

Tabela 1 - Características clínicas dos grupos A e B

Características	Grupo A	Grupo B	Total	p
Idade# em meses mediana	6 (0,5-59)	28(0,5-144)	14	-
Sexo M: F	82:44*	38:37	120:81	0,04
Cor- branca: negra	93:33	57:18	150:61	0,73
Peso >percentil 10	96	53	149	0,56
Total	126	75	201	

p< 0,05 para as médias de idade (mesmo excluídos 2 valores aberrantes, a maior, do grupo B)

* significativo, ()=intervalo, M=masculino, F=feminino

obtidos por isolamento celular e imunofluorescência direta foram coincidentes. Considerando somente as crianças com idade inferior a dois anos, foram encontrados 65 vírus em 107 casos do grupo A *versus* 2 entre 32 crianças do grupo B (p<0,05). Foi isolado o VRS em 66 crianças (52,4%) com DRI e em 2 pacientes (2,7%) com outras patologias (p<0,001). Os resultados do encontro de vírus nos dois grupos estão colocados na Tabela 2.

A elevada frequência de VRS detectada no grupo A permitiu a constituição e comparação de dois subgrupos- VRS+ nos casos positivos e VRS- nos casos negativos. Os 13 vírus VRS que foram tipados apresentavam epítipo do tipo A.

Os diagnósticos clínicos iniciais segundo a presença de VRS, nos subgrupos VRS+ e VRS-, estão colocados na Tabela 3.

Constata-se que o VRS foi encontrado na maior parte dos pacientes com bronquiolite (p<0,001), com pneumo-

nia intersticial (resultado não significativo) e em cerca de metade dos casos em que havia acometimento alveolar. Houve uma significativa redução no achado do vírus entre as crianças com pneumonia complicada por derrame pleural e entre as crianças com bronquite aguda (p< 0,05). A distribuição etária dos pacientes dos subgrupos VRS+ e VRS- está colocada na Tabela 4.

Constatou-se que 2/3 dos casos em que foi detectado o VRS tinham idade inferior a 6 meses, o que diferiu do subgrupo VRS-, em que este agente não foi encontrado (p< 0,01). A mediana de idade do subgrupo VRS+ foi de 3 meses e do subgrupo VRS- foi de 13 meses. A comparação das médias de idade dos subgrupos VRS+ e VRS-, respectivamente 3 e 14 meses, foram estatisticamente diversas (p<0,01).

Na Tabela 5 são comparadas algumas características clínicas dos subgrupos VRS+ e VRS- à internação, assim como alguns dados da evolução clínica.

Tabela 2 - Vírus detectados nas vias aéreas das crianças dos grupos A e B

Vírus	Grupo A		Grupo B		Total		p
	N°	(%)#	N°	(%) #	N°	(%)#	
VRS	66*	(52,4)	2*	(2,7)	68	(33,8)	<0,001
Adenovírus	4	(3,2)	1	(1,3)	5	(2,5)	0,42
Influenza	1	(0,8)	0	(0,0)	1	(0,5)	0,44
Não detectado	55	(43,6)	72*	(96,0)	127	(63,2)	<0,001
Total	126	(100,0)	75	(100,0)	201	(100,0)	

os percentuais referem-se às colunas

* significativo

Tabela 3 - Diagnósticos clínicos das crianças do grupo A segundo a presença de VRS

Vírus	Grupo A		Grupo B		Total		p
	Nº	(%)#	Nº	(%) #	Nº	(%)#	
Bronquiolite	21*	(84,0)	4	(16,0)	25	(100,0)	<0,001
Bronquiolite e pneumonia	5	(41,6)	7	(58,4)	12	(100,0)	0,43
Pneumonia/ broncopneumonia	28	(48,3)	30	(51,7)	58	(100,0)	0,39
Pneumonia intersticial	5	(83,3)	1	(16,7)	6	(100,0)	0,12
Pneumonia e derrame pleural	1*	(12,5)	7*	(87,5)	8	(100,0)	0,02
Criança chiadora	6	(50,0)	6	(50,0)	12	(100,0)	0,86
Bronquite aguda	0*	(0,0)	5*	(100,0)	5	(100,0)	0,02
Total	66		60		126		

Os percentuais referem-se às linhas- frequência de VRS para cada categoria de diagnóstico clínico

* significativo

Constata-se que as crianças do subgrupo VRS+ apresentaram, à internação, maior frequência de sibilos à propedêutica torácica, e tinham idade média inferior às do subgrupo VRS-, em que este agente viral não foi detectado.

Na evolução dos casos do grupo A dois pacientes com bronquiolite do subgrupo VRS+ apresentaram agravamento dos parâmetros gasométricos, sendo entubados por dois dias. Os oito casos com derrame pleural foram drenados sob vídeo-laparoscopia. A duração média da internação do grupo foi de 6 dias, semelhante nos subgrupos VRS+ e VRS-. Todos os casos tiveram alta hospitalar.

Os exames bacteriológicos positivos obtidos à hemocultura no grupo A foram 4 (3,2%). Três destes isolamentos foram feitos em crianças do subgrupo VRS- (4,8%): *Streptococcus pneumoniae* (1), *Haemophilus influenzae* (1) e *Salmonella arizonae* (1). No subgrupo VRS+ foi identificado um paciente (1,5%) com *Streptococcus pneumoniae*. Os resultados bacteriológicos obtidos a partir da cultura do líquido pleural de 8 pacientes foram negativos em sete, constituindo exceção uma das sete crianças do subgrupo VRS- (14,3%), em que foi isolado *Staphylococcus aureus*. O exame bacterioscópico não permitiu evidenciar outras infecções bacterianas.

Tabela 4 - Distribuição etária das crianças dos subgrupos VRS+ e VRS- (grupo A)

Faixa etária (em meses)	VRS+		VRS-		Total do grupo A		p
	Nº	(%)#	Nº	(%)#	Nº	(%)#	
De 0 a 1*	8*	(12,1)	1*	(1,7)	9	(7,0)	0,02
Entre 1 e 6*	36*	(54,6)	18*	(30,0)	54	(42,2)	0,005
De 6 a 24	21	(31,8)	23	(38,3)	45	(35,2)	0,33
> 24	1	(1,5)	18	(30,0)	20	(15,6)	<0,001
Total	66	(100,0)	60	(100,0)	126	(100,0)	

da coluna

* p<0,01 para a distribuição etária das crianças com idade inferior a 6 meses, nos dois subgrupos

Tabela 5 - Características clínicas e evolução das crianças dos subgrupos VRS+ e VRS-

Características Clínicas)	VRS+		VRS-		Total do grupo A		p
	Nº	(%)#	Nº	(%)#	Nº	(%)#	
Idade [†] – mediana (meses)	3		13		6		-
Tempo de internação médio (em dias)	5		7		6		0,38
Sexo masculino	42	(63,6)	40	(66,6)	82	(65,1)	0,72
Peso-percentil > 10	53	(80,3)	43	(71,6)	96	(76,2)	0,25
Sibilância	52*	(78,7)	20*	(33,3)	72	(57,1)	<0,001
Febre	12*	(18,2)	30*	(50,0)	42	(33,3)	<0,001
Insuficiência respiratória	55	(83,3)	55	(91,6)	110	(87,3)	0,36
Letalidade	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	-
Total	66	(100,0)	60	(100,0)	126	(100,0)	

† p < 0,01 para a média de idades dos dois subgrupos

* significativo

da coluna

Discussão

Foi elevado o percentual (56,4%) de agentes virais encontrado na via aérea de crianças internadas com doença do trato respiratório inferior (grupo A). Esse resultado, quando comparado àquele verificado no grupo controle, com apenas 4,0% de positividade, permite inferir que os vírus estão associados à patogenia desses quadros (ver Tabela 2)^{12,42}. Uma eventual ressalva a essa comparação poderia considerar a diferença de frequência nos dois grupos como decorrente da diversa idade das crianças (ver Tabela 1). Porém, essa ressalva pode ser afastada pela avaliação isolada das crianças com idade inferior a dois anos, dos grupos A e B, como consta dos resultados. Também entre esses subgrupos houve significativa diferença de isolamento viral. De fato, os vírus pesquisados são considerados nos países desenvolvidos como os patógenos responsáveis pela maior parte dos casos de bronquiolite e pneumonia infantil, diagnósticos predominantes no grupo de crianças avaliado^{8,13}. Pudemos constatar, no presente estudo, a importância dos vírus também nesta amostra de crianças de nível socioeconômico reduzido com patologia grave do trato respiratório inferior de País em desenvolvimento. Resultados similares foram por vezes observados em algumas outras populações de países em desenvolvimento e vêm corroborar a hipótese de que os agentes virais podem estar associados à patogenia da maior parte das infecções das vias aéreas inferiores independentemente das condições socioeconômicas da população^{25,26,28,43}.

A correlação verificada no presente estudo, e por outros autores, entre patologia da via aérea inferior e detecção de vírus, não permite, porém, a conclusão de que esses agentes são os únicos, ou mesmo se constituem os responsáveis diretos por todas as alterações presentes na via aérea inferior^{44,45}. As amostras de material foram coletadas na via aérea superior, como na quase totalidade dos estudos que avaliam infecções virais^{46,47}. Já observamos anteriormente, como alguns outros autores, a possível discrepância de resultados microbiológicos em materiais coletados simultaneamente na via aérea superior e inferior^{15,22}. Com alguma frequência, foram isolados vírus na via aérea superior, mas não na via aérea inferior. Nesses estudos os agentes mais frequentemente detectados na via aérea inferior, por punção pulmonar aspirativa, foram as bactérias aeróbias- *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*^{1,48,49}. Portanto, consideramos que conclusões definitivas sobre a etiopatogenia das infecções da via aérea inferior não podem ser estabelecidas do estudo atual, como de quase todos os outros que coletaram e analisaram, apenas, amostras de secreção da orofaringe^{50,51}. A pesquisa de bactérias aeróbias que procedemos através de culturas de sangue venoso têm reduzida sensibilidade para o diagnóstico de pneumonias bacterianas; e a análise do líquido pleural, geralmente mais sensível, somente é realizável em poucos casos^{19,52}. Pode ser considerado também como fator limitante para a interpretação dos resultados do presente estudo, a não avaliação dos denominados “agentes da pneumonia afebril do lac-

tente” - *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Ureaplasma urealyticum* e *Pneumocystis carinii*, como também do *Mycoplasma pneumoniae*^{53,54}. Esses microorganismos poderiam ter atuado como co-patógenos em alguns dos casos que atribuímos aos vírus pesquisados, como já verificado previamente^{53,55}.

Essas restrições metodológicas do presente estudo não devem, porém, sugerir, erroneamente, um questionamento a respeito da própria utilidade deste tipo de investigação. Não se pode perder de vista que significativas conclusões puderam ser obtidas. Constatamos que os agentes virais participam, no mínimo, como fatores desencadeantes de graves doenças da via aérea inferior, que necessitaram de internação hospitalar. Especificamente em relação aos quadros de bronquiolite, onde patógenos não virais são considerados raros, pudemos determinar o perfil dos vírus responsáveis pela doença na ampla maioria dos casos⁷. Deve ser observado que o encontro do VRS na via aérea superior, como observamos na maior parte dos casos com identificação viral, têm sido considerado por vários autores como critério suficiente para determinação da etiologia da infecção da via aérea inferior concomitante⁵⁶⁻⁵⁹. Ainda outro aspecto relevante constatado no presente estudo refere-se à reduzida faixa etária das crianças acometidas pelos agentes virais, situando neste grupo etário a eventual necessidade de exames diagnósticos, assim como de medidas terapêuticas ou profiláticas antivirais^{60,61}.

A taxa de isolamento de vírus nas infecções de vias aéreas inferiores depende da época do ano estudada^{29,62,63}. Optamos pela realização do presente estudo no outono e início de inverno, pico de ocorrência de doença respiratória no Estado de São Paulo^{3,29}. Nesse período do ano observamos, em pesquisa anterior, elevada frequência de infecções virais das crianças com DRI, associadas, na sua maior parte, ao VRS²⁹. Em outros países de clima tropical esse fato também é observado, enquanto nos climas temperados essas infecções virais das vias aéreas ocorrem essencialmente no inverno^{13,23,25}. O estudo de um período limitado do ano, como realizamos presentemente, pode induzir a viéses, pela variação sazonal de infecções virais. Relatamos anteriormente que a frequência de infecções virais das vias aéreas e o próprio percentual de crianças internadas por patologia respiratória estão significativamente reduzidos em outros períodos do ano, em nosso hospital²⁹.

Outro fator interveniente no percentual de isolamento viral de crianças com patologia do trato respiratório inferior está associado aos quadros clínicos avaliados, como pudemos observar (ver Tabela 3)^{4,8}. Nas pneumonias com derrame pleural os agentes virais foram encontrados em apenas um de sete casos, enquanto nas bronquiolites foram detectados na ampla maioria dos casos, observações já bem estabelecidas previamente^{7,52}. Também a fase evolutiva da doença tem importância na fração de casos com isolamento viral obtido, sendo o percentual

maior nos primeiros dias de infecção respiratória^{22,58}. Nesse aspecto, procuramos realizar a coleta de materiais já nas primeiras horas de internação, ao que atribuímos parcela da elevada fração de casos positivos que obtivemos.

A taxa de isolamento viral depende também de adequada padronização e técnica de coleta das amostras, assim como do transporte e processamento dos materiais, como as que foram adotadas^{37,38}. Isso foi constatado, indiretamente, pela perfeita correspondência de resultados entre os achados de cultura celular e da imunofluorescência direta. Estes dados, semelhantes a outros, constituem base para a indicação da imunofluorescência na clínica pediátrica, por constituir-se em método rápido para o diagnóstico das infecções virais em casos graves selecionados³⁹.

Quanto ao perfil dos vírus respiratórios encontrados, houve largo predomínio do VRS, detectado em cerca de metade das crianças com patologia da via respiratória inferior (ver Tabela 2). Esse resultado está de acordo com muitos outros obtidos em pesquisas realizadas em países desenvolvidos e em alguns de países em desenvolvimento, que consideram esse agente o principal patógeno viral da via aérea inferior em crianças^{5,8,24}. O subtipo de VRS encontrado em 13 crianças foi A, também preponderante na maior parte dos estudos, porém é reconhecida uma possível variação anual, quando pode prevalecer o subtipo B⁶⁴. Outros vírus como Adenovírus, Influenza e Parainfluenza foram isolados em percentuais reduzidos ou mesmo não foram detectados, em acordo com outros autores que pesquisaram infecções das vias aéreas inferiores^{4,14}. Deve-se restringir as conclusões relativas ao perfil viral observado ao grave tipo de acometimento respiratório das vias aéreas inferiores que investigamos, pois este pode diferir daquele verificado em crianças com infecções respiratórias menos graves, de pacientes ambulatoriais⁶⁵. Uma implicação decorrente da determinação do perfil viral refere-se ao possível uso de drogas anti-VRS, que têm sido avaliadas para o tratamento de quadros respiratórios graves, ainda que sem resultados conclusivos^{60,61,66}.

O encontro de elevado percentual de crianças infectadas pelo VRS levou-nos a agrupar e comparar estes casos (subgrupo VRS+) com os restantes (subgrupo VRS-), todos internados por graves patologias da via aérea inferior (ver tabela 4). Nosso objetivo foi verificar a possibilidade de caracterizar clinicamente a infecção pelo VRS na amostra que analisamos. Foi constatado, também no presente estudo, que as crianças internadas com patologia da via aérea inferior infectadas pelo VRS tinham poucos meses de idade, sendo algumas recém-nascidas^{63,67,68}. A quase totalidade dos casos, 98,5%, contava com menos de 2 anos de idade. Esses aspectos são da maior gravidade, considerado o potencial letal do agente nos pequenos lactentes e recém-nascidos, assim como pelas possíveis seqüelas, inclusive com hiperreatividade brônquica^{69,70}. A ação patogênica preferencial do VRS sobre os brônquios

pode ser observada a partir do encontro do agente em 72,2% das 72 crianças que apresentavam sibilos pulmonares difusos ou localizados (ver Tabela 5). Esse parâmetro clínico foi significativamente superior ao verificado no subgrupo VRS- (33,3%), porém o reduzido grau de especificidade limita sua utilização na prática pediátrica^{56,63}. De outra forma, têm maior significado clínico o elevado grau de associação verificado entre o encontro de VRS e o quadro de bronquiolite. Durante os surtos de VRS já havia sido observado previamente que o agente assume papel preponderante quanto à etiologia desse quadro clínico^{7,8}. Outro diagnóstico clínico, o de bronquite aguda, não foi constatado no subgrupo de doentes VRS+, porém esse resultado é compreensível à medida que essa categoria diagnóstica foi limitada no protocolo a crianças com idade superior a dois anos, faixa etária em que a incidência do vírus foi reduzida (ver Tabela 3).

Um aspecto que merece reflexão quanto ao subgrupo VRS- é o reduzido percentual de esclarecimento etiológico; foram detectadas outras infecções virais em 5 casos (ver Tabela 2) e 4 infecções bacterianas (duas associadas a derrames pleurais). Considerando que os agentes virais e bacterianos são os responsáveis pela ampla maioria dos acometimentos bronco-alveolares, mas só foram identificados em 15% das crianças do subgrupo VRS-, devemos considerar as possíveis explicações para tal ocorrência¹¹. A constatação de febre em metade dessas crianças e o diagnóstico de pneumonia do tipo alveolar em 73,3% dos casos (ver Tabela 5) nos conduzem à hipótese de haver uma etiologia infecciosa, para a maior parte desses pacientes^{19,22,54}. Apesar dessa indicação, é freqüente nos vários estudos etiológicos, de quadros supostamente infecciosos das vias aéreas inferiores, a ocorrência de uma parcela significativa de casos sem esclarecimento. De um terço à metade dos pacientes investigados ficam sem diagnóstico causal, como verificamos no presente estudo, em que a fração de casos sem esclarecimento foi de 40,5%¹⁵. Consideramos que parte desses casos poderia ter reconhecida uma etiologia bacteriana, se o método investigativo incluísse a punção pulmonar aspirativa transtorácica. Fizemos esse tipo de avaliação previamente, assim como outros, que obtiveram um percentual de detecção de bactérias no aspirado pulmonar três a quatro vezes maior, em relação aos resultados obtidos através da hemocultura^{19,20}. Outro fator que pode ter contribuído para reduzir os percentuais de detecção de bactérias foi a utilização de antimicrobianos por parte das crianças, no período pré-internação¹⁵. Na história de 19 pacientes do subgrupo VRS-, esse dado foi positivo. Outros motivos para o não esclarecimento etiológico de alguns dos casos do presente estudo devem-se à não investigação de potenciais patógenos - agentes da pneumonia afebril do lactente, *Mycoplasma pneumoniae*, alguns outros vírus e *Chlamydia pneumoniae*. Esses agentes foram, por vezes, associados a quadros respiratórios semelhantes aos do estudo atual^{11,54,71}.

Quanto à evolução das crianças com doença respiratória aguda do presente protocolo, a mediana do tempo de internação para o grupo A foi de 6 dias, não sendo discrepantes as médias dos subgrupos VRS+ e VRS-, como também foi verificado em outros locais^{6,9}. As complicações, derrame pleural e insuficiência respiratória, tiveram resolução favorável, como ocorre na maior parte desses casos, sob tratamento⁵². A letalidade foi nula, para o grupo A, sendo que outros autores situam essa taxa entre 1 e 3% dos pacientes com patologias infecciosas do trato respiratório inferior. Os mais suscetíveis à má evolução são os lactentes jovens, recém nascidos, pneumopatas e cardiopatas crônicos^{21,69,72}. No grupo estudado havia 8% de prematuros e 2 cardiopatas, porém a evolução desses casos também foi satisfatória. O resultado favorável que obtivemos não decorre de qualquer terapêutica diversa da que é realizada habitualmente para as afecções bronco-pulmonares. Nas bronquiolites nos limitamos ao fornecimento de oxigênio humidificado, soluções hidro-eletrolíticas e fisioterapia torácica⁷. Nas pneumonias utilizamos sempre antibióticos, optando preferencialmente pela penicilina (59 casos-70,2%)^{21,73}. A prescrição de antibióticos foi feita e mantida em todos os casos de pneumonia, independentemente dos resultados da pesquisa viral, pois considera-se possível, nestes casos, a infecção alveolar bacteriana concomitante^{44,45}. Certamente uma racionalização da prescrição antibiótica nesses casos seria recomendável, mas esbarra na dificuldade de avaliação não invasiva da presença de bactérias na via aérea inferior¹⁵.

Em conclusão os autores observaram que uma parcela significativa das patologias graves do trato respiratório inferior, internadas, está associada aos agentes virais. Nesses casos predominou largamente o VRS, como descrito para a população pediátrica de diferentes países^{13,28}. Esses achados indicam a necessidade de desenvolver medidas profiláticas e terapêuticas antivirais adequadas aos lactentes jovens, grupo mais acometido⁶⁶. Ressalvam os autores a possibilidade de que outros agentes infecciosos possam estar concomitantemente envolvidos na patogênese das doenças respiratórias estudadas, visto que a presente pesquisa limitou-se, essencialmente, à análise dos principais agentes virais.

Agradecimentos

Ao Centro de Controle e Prevenção de Doenças de Atlanta-EUA (CDC), pelas linhagens celulares NCI-H292 cedidas, e ao Dr. Eurico Arruda, da Escola de Medicina da Universidade da Virgínia - EUA, pela linhagem de células Hela-I. Ao Dr. David Beckman, da Chemicon International Inc., pelos kits de anticorpos monoclonais. Ao Sr. José Fausto de Moraes, pela análise estatística deste estudo.

Referências bibliográficas

1. Berman S. Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. *Rev Infect Dis* 1991; 13:454-62.
2. WHO. Management of childhood illness. Geneva: World Health Organization, 1995.
3. Ministério da Saúde do Brasil. Sistema de informação sobre mortalidade no período de 1979 a 1993. Dados de declarações de óbitos (em CD-ROM). Fundação Nacional de Saúde, Brasília, 1995.
4. Hemming VG. Viral respiratory disease in children: classification, etiology, epidemiology and risk factors. *J Pediatr* 1994; 124:13-6.
5. Bedoya VI, Abad V, Trujillo H. Frequency of Respiratory Syncytial Virus in hospitalized infants with lower respiratory tract infection in Colombia. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15: 1123-4.
6. Hall CB, Hall WJ, Speers DM. Clinical and physiologic manifestations of bronchiolitis and pneumonia: outcome of Respiratory Syncytial Virus. *Am J Dis Child* 1979; 133:798-802.
7. Bousso A, Terra CM, Martins FRP, Fernandes JC, Fernandes ICOF, Ejzenberg B *et al.* Bronquiolite- Revisão. *Rev Med HU-USP* 1996; 6:15-25.
8. Jeng MJ, Lemen RJ. Respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am Fam Physician* 1997; 55:1139-46.
9. Escobar AM, Martinez F, Ceruti E, Diaz A, Vicente M, Farias P. Etiologia de las infecciones agudas del tracto respiratorio bajo en lactentes hospitalizados. *Rev Chil Pediatr* 1988; 59:349-53.
10. Bale RJ. Creation of research program to determine the etiology and epidemiology of acute respiratory tract infections among children in developing countries. *Rev Infect Dis* 1990; 12:861-6.
11. Selwin BJ. The epidemiology of acute respiratory tract infection in young children: comparison of findings from several developing countries. *Rev Infect Dis* 1990; 12:870-88.
12. Kim HW, Arrobo JO, Brandt CD. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington DC. Importance of the virus in different respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection. *Am J Epidemiol* 1973; 98:216-25.
13. Gilchrist S, Torok TJ, Gary HE Jr, Alexander JP, Anderson LJ. National surveillance for respiratory syncytial virus, United States, 1985-1990. *J Infect Dis* 1994; 170:986-90.
14. Schutze GE, Jacobs RF. Lower respiratory tract infections of infants and children. In: Niederman MS, Sarosi G, Glassroth J, eds. *Respiratory Infections- A scientific basis for management*. St Louis: CV Mosby; 1994. p. 103-13.
15. Ejzenberg B. Ensaio- Considerações sobre a etiologia da pneumonia infantil. *Rev Paul Pediatría* 1995; 12:20-8.
16. Monto AS, Koopman JS, Bryan ER. The Tecumseh study of illness XIV. Occurrence of respiratory viruses, 1976-1981. *Am J Epidemiol* 1986; 124:359-66.
17. Abzug MJ, Beam AC, Gyorkos EA, Levin MJ. Viral pneumonia in the first month of life. *Pediatr Infect Dis J* 1990; 9:881-5.
18. Adcock PM, Stout GG, Hauck MA, Marshall GS. Effect of rapid viral diagnosis on the management of children hospitalized with lower respiratory tract infection. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16:842-6.
19. Ejzenberg B, Fernandes VO, Rodrigues Neto AJ, Baldacci ER, Grisi SJ, Belizzia Neto L. Pesquisa de etiologia bacteriana em 102 crianças internadas por pneumonia aguda. *Pediatr (S Paulo)* 1986; 8:99-106.
20. Shann F. Etiology of severe pneumonia in developing countries. *Pediatr Infect Dis J* 1986; 5:247-52.
21. Organización Panamericana de la Salud. Infecciones respiratorias agudas en los niños. Publicación Científica 493. Washington DC: OPAS; 1985.
22. Ejzenberg B, Fernandes VO, Rodrigues Neto AJ, Baldacci ER, Grisi SJ, Belizzia Neto L. Infecções por vírus, bactérias e *Mycoplasma pneumoniae* em 42 crianças internadas por pneumonia. *Pediatr (S Paulo)* 1986; 8:141-7.
23. Russi JC, Delfraro A, Arbiza JR *et al.* Antigenic characterization of respiratory syncytial virus associated with acute respiratory infections in Uruguayan children from 1985 to 1987. *J Clin Microbiol* 1989; 27:1464-6.
24. Ong SB, Lam KL. Viral agents of acute respiratory infections in young children in Kuala Lumpur. *Bull Wld Hlth Org* 1982; 60:137-40.
25. Avendano LF, Larranaga C, Palomino MA. Community and hospital acquired respiratory syncytial infections in Chile. *Pediatr Infect Dis J* 1991; 10:564-8.
26. Nascimento JP, Siqueira MM, Suttmoller F. Longitudinal study of acute respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1991; 33:287-96.
27. Takimoto S, Grandien M, Ishida MA. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, indirect immunofluorescence assay, and virus isolation for detection of respiratory viruses in nasopharyngeal secretions. *J Clin Microbiol* 1991; 29:470-4.
28. Weber MW, Dackour R, Usen S, Schneider G, Adegbola RA, Cane P *et al.* The clinical spectrum of respiratory syncytial virus disease in the Gambia. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17:224-30.
29. Hein N. Aspectos epidemiológicos da infecção por vírus respiratórios em crianças internadas. São Paulo, 1997. 100p. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
30. Simpson W, Hacking PM, Court SDM. The radiological findings in Respiratory Syncytial Virus infection in children. Part II. The correlation of radiological categories with clinical and virological findings. *Pediatr Radiol* 1974; 2:155-60.
31. Committee on pulmonary nomenclature of the American Thoracic Society. Reports from the ATS ad hoc committee on pulmonary nomenclature. *ATS News* 1977:3.
32. Gardner PS. How etiologic, pathologic, and clinical diagnosis can be made in a correlated fashion. *Pediatr Res* 1977; 11:254-61.
33. National Center for Health Statistics. NCHS Growth Charts, 1976. *Monthly Vital Stat Rep (Suppl)* 1976; 1-21.
34. Bown CJ, Bolk RA, Cern FB. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101:1644-55.
35. Frayha H, Castriciano S, Mahony J, Chernesky M. Nasopharyngeal swabs and nasopharyngeal aspirates equally effective for the diagnosis of viral respiratory diseases in hospitalized children. *J Clin Microbiol* 1989; 27:1387-9.

36. Waecker NJ, Shope TR, Weber PA, Buck ML, Domingo RC, Hooper DG. The Rhino Probe^R nasal curette for detecting Respiratory Syncytial Virus in children. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12:326-9.
37. Hall CB. Clinically useful method for the isolation of RSV. *J Infect Dis* 1975;131:1-10.
38. Barnes S, Leclair JM, Forman MS, Townsend TR, Laughlin GM, Charache P. Comparison of nasal brush and nasopharyngeal aspirate techniques in obtaining specimens for detection of respiratory syncytial virus antigen by immunofluorescence. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:598-601.
39. Trujillo H, Robledo J, Diaz FJ. Pruebas de laboratorio rápidas para orientar el diagnóstico y el tratamiento de la infección respiratoria aguda baja. *Rev Enf Infect Pediatr* 1993;26:145-51.
40. Ejzenberg B, Rodrigues JC, Vieira VSD, Brandileone MCC, Baldacci ER, Okay Y. Blood culture: specificity in childhood bacterial pneumonia. *Rev Inst Med trop São Paulo* 1995;37:541-2.
41. Dean AG, Dean JA, Coulombier R. Epi Info, version 6. A Word Processing, Database, and Statistics Program for Public Health.
42. Chanock RM, Kim HW, Vargosko AJ. Respiratory Syncytial Virus I. Virus recovery and other observations during 1960 outbreak of bronchiolitis, pneumonia and other minor respiratory diseases in children. *J Am Med Ass* 1961;176:647-53.
43. Suttmoller F, Ferro ZP, Asensi MD, Ferreira V, Mazzei IS, Cunha BL. Etiology of acute respiratory tract infections among children in a combined community and hospital study in Rio de Janeiro. *Clin Infect Dis* 1995; 20:854-60.
44. Glasgow L. Interaction of viruses and bacteria in host parasite relations. *N Engl J Med* 1972;228:498-505.
45. Korppi M, Leinonen M, Koskela M. Bacterial coinfection in children hospitalized with Respiratory Syncytial Virus infections. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:687-91.
46. Hall CB, Powell KR, MacDonald NE. Respiratory syncytial virus infection in children with compromised immune function. *N Engl J Med* 1986;315:81-77.
47. Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD. Risk factors for Respiratory Syncytial Virus-associated lower respiratory illnesses in the first year of life. *Am J Epidemiol* 1991;133:1135-51.
48. Ejzenberg B, Rodrigues Neto AJ, Baldacci ER, Melles CEA, Simonsen V, Pessoa GVA. Pneumonia por Haemophilus influenzae em crianças. Análise de 25 casos. *Pediatr (S Paulo)* 1986;3:131-4.
49. Hein N, Ejzenberg B, Lotufo JPB, Baldacci ER, Brandileone MC, Dias VS, Okay Y. Sorotipos de pneumococos isolados de crianças com pneumonia: implicação com a imunização específica anti-pneumocócica. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1995;50:280-3.
50. Hall CB, Powell KR, Gala CL. Does Respiratory Syncytial Virus predispose to bacterial infection? *Pediatr Res* 1986;310A (Abstract 913).
51. Hall CB, Powell KR, Schnabel KC, Goler CL, Pincus PH. Risk of secondary bacterial infection in infants hospitalized with Respiratory Syncytial Virus infection. *J Pediatr* 1988;113:266-71.
52. Cirino LMI, Otoch JP, Garcia AE, Pereira PRB, Ejzenberg B, Margarido NF et al. Etiologia dos derrames pleurais de má-evolução clínica. *Rev Med HU-USP* 1997;7:24-9.
53. Paisley JW, Lower BA, McIntosh K. Pathogens associated with lower respiratory tract infection in young children. *Pediatr Infect Dis J* 1984;3:14-9.
54. Ejzenberg B, Melles H, Melles C, Dias R, Baldacci ER, Okay Y. Aerobic bacteria, Chlamydia trachomatis, Pneumocystis carinii and Cytomegalovirus as agents of severe pneumonia in small infants. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1996;38:9-14.
55. Stagno S, Brasfield DM, Brown MB. Infant pneumonitis associated with Cytomegalovirus, Chlamydia trachomatis and Ureaplasma: a prospective study. *Pediatrics* 1981;68:322-9.
56. Coates HV, Chanock RM. Clinical significance of Respiratory Syncytial Virus. *Postgrad Med* 1964;35:460-5.
57. Rice RP, Lada F. A roentgenographic analysis of Respiratory Syncytial Virus pneumonia in infants. *Radiology* 1966;87:1021-6.
58. Hall CB, Douglas RG Jr, Geirman JM. Quantitative shedding patterns of Respiratory Syncytial Virus in infants. *J Infect Dis* 1975;132:151-6.
59. Anderson LJ, Parker RA, Strikas RL. Association between respiratory syncytial virus outbreaks and lower respiratory deaths of infants and young children. *J Infect Dis* 1990; 161:640-6.
60. Hall CB, Granoff DM, Gromisch DS, Halsey NA. Use of ribavirin in the treatment of Respiratory Syncytial Virus infections. *Pediatrics* 1993;29:501-4.
61. Smith RL, Fletcher JN, Thomas HM, Hart CA. Immunological responses to Respiratory Syncytial Virus infection in infancy. *Arch Dis Child* 1997;76:210-4.
62. Reilly CM, Stokes Jr. J, McClelland L. Studies of acute respiratory illness caused by Respiratory Syncytial Virus. Clinical and laboratory findings. *N Engl J Med* 1961; 1176-82.
63. Berglund B. Studies on Respiratory Syncytial Virus infection. *Acta Paediatr Scand* 1967;176(S):1-40.
64. Cane PA, Matthews DA, Pringle CR. Analysis of respiratory syncytial virus strain variation in successive epidemics in one city. *J Clin Microbiol* 1994; 32:1-4.
65. Arruda EN, Hayden FG, McAuliffe JF, Souza MA, Mota SB, McAuliffe MI et al. Acute respiratory viral infections in ambulatory children of urban northeast Brazil. *J Infect Dis* 1991;164:252-8.
66. Prober CJ, Wang ELE. Reducing the morbidity of lower respiratory tract infections caused by Respiratory Syncytial Virus: still no answer. *Pediatrics* 1997;99:472-5.
67. Berkovitch S. Acute respiratory illness in the premature nursery associated with Respiratory Syncytial Virus infections. *Pediatrics* 1964;34:753-60.
68. Ditchburn RK, McQuillin J, Gardner PS. Respiratory Syncytial Virus in hospital cross-infection. *Br Med J* 1971;3:671-3.
69. Garner PS, Turck DC, Aherne WA. Deaths associated with respiratory tract infection in childhood. *Br Med J* 1967; 4:316-20.
70. Ellis EF. Relationship between the allergic state and susceptibility to infectious airway disease. *Pediatr Res* 1977;11: 227-9.
71. Saikku P, Ruutu P, Leinonen M. Acute lower respiratory tract infection associated with chlamydial TWAR antibodies in Filipino children. *Pediatr Infect Dis J* 1988;158:1095-7.

72. MacDonald NE, Hall CB, Suffin SC. Respiratory Syncytial Virus infection in infants with congenital heart disease. *N Engl J Med* 1982;307:397-400.
73. Organización Panamericana de la Salud. Infecciones Respiratorias Agudas en las Americas. Magnitud, tendencia y avance en el control. Serie paltex para ejecutores de programas de salud. Washington DC: OPAS;1992. P. 117-31.

Endereço para correspondência:

Dra. Cristina Ryoka Miyao
Divisão de Pediatria do Hospital Universitário da USP
Av Prof. Lineu Prestes, 2565 - Cidade Universitária
São Paulo - SP - CEP 05508-900
Telefax: 11 212.8004 - Fone: 11 818.7757