



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

JOYCE FONTELES RIBEIRO

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DAS
INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS AGUDAS CAUSADAS
POR METAPNEUMOVIRUS HUMANO EM
CRIANÇAS ATENDIDAS NO HOSPITAL INFANTIL
ALBERT SABIN – FORTALEZA / CE**

FORTALEZA/CE

2008

JOYCE FONTELES RIBEIRO

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DAS
INFECCÕES RESPIRATÓRIAS AGUDAS CAUSADAS
POR METAPNEUMOVIRUS HUMANO EM
CRIANÇAS ATENDIDAS NO HOSPITAL INFANTIL
ALBERT SABIN – 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^ª. Dr^ª. Fernanda Edna Araújo Moura

FORTALEZA/CE

2008

JOYCE FONTELES RIBEIRO

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DAS INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS
AGUDAS CAUSADAS POR METAPNEUMOVÍRUS HUMANO EM CRIANÇAS
ATENDIDAS NO HOSPITAL INFANTIL ALBERT SABIN – 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.

Data da Defesa: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Dr. Edison Luiz Durigon
Instituto de Ciências Biológicas-Universidade de São Paulo - USP

Prof.Dr. Luís Carlos Rey
Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Jorge Luiz Nobre Rodrigues
Faculdade de Medicina-Universidade Federal do Ceará

Dr^a. Fernanda Edna Araújo Moura (Orientadora)
Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Ceará

À Deus por sempre iluminar e guiar meus caminhos;

Aos meus pais, por toda dedicação, orgulho, carinho e pela motivação constante.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Fernanda Edna Araújo Moura, minha orientadora, pelo grande incentivo na ampliação do meu saber, pela confiança depositada e por sua imensa dedicação e colaboração dispensada ao longo desse trabalho.

Ao Prof. Dr. José Júlio Costa Sidrim, coordenador do Mestrado em Microbiologia Médica, pela sua dedicação para o funcionamento desse mestrado.

Ao Prof. André Jalles Monteiro, do Departamento de Estatística da UFC, pela sua contribuição na análise estatística dos dados.

A todos os professores do mestrado, com os quais tive a oportunidade e o prazer de aprender.

Aos membros da banca: Prof. Dr. Edison Luiz Durigon, Prof.Dr. Luís Carlos Rey e Prof Dr. Jorge Luiz Nobre Rodrigues, por terem aceitado gentilmente a participar da avaliação desse trabalho.

À Dr^a. Divina Aparecida Oliveira Queiroz pelo fornecimento de células utilizadas nesse estudo.

Aos meus colegas de curso, Valeska Portela Lima, Cinthya Soares Cândido e Alexandre Rocha Matos Júnior, por todo apoio e companheirismo ao longo desses meses.

A todos os que fazem, ou fizeram parte do Laboratório de Virologia, pela participação e valiosa contribuição nesse estudo.

A Marta Maria de Vasconcelos, secretária do curso, por estar sempre disposta a ajudar, por sua dedicação e eficiência na resolução de etapas burocráticas.

Aos técnicos do Setor de Microbiologia, pelo auxílio concedido para a realização desse trabalho.

A todos os pediatras do HIAS, especialmente à Dr^a. Regina Cláudia Oliveira Abtibol e Dr^a. Elisabeth Barros Leal, por possibilitarem a realização da coleta das amostras e dados durante a consulta dos pacientes.

A todas as crianças e seus responsáveis que participaram desse trabalho e permitiram a coleta das amostras.

Ao Laboratório de Vírus Respiratórios da FIOCRUZ - Rio de Janeiro, na pessoa da Dr^a. Marilda M. Siqueira, pela parceria e fornecimento de reagentes.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

Aos meus familiares, especialmente meus irmãos Josy Fonteles Ribeiro e Joel Cícero Fonteles Ribeiro, pela torcida, carinho e apoio em todos os momentos.

“Superação é ter a humildade de aprender com o passado,
não se conformar com o presente e desafiar o futuro”

Hugo Bethlem

RESUMO

O metapneumovírus humano (MPVh) é um vírus que tem se destacado como um dos agentes mais freqüentes de infecções respiratórias agudas (IRA) virais na infância. Este estudo teve como objetivos: observar a freqüência das infecções causadas pelo MPVh em crianças atendidas por IRA no Hospital Infantil Albert Sabin, hospital pediátrico de referência do estado do Ceará, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007; descrever aspectos de sazonalidade dessas infecções relacionando-as com a ocorrência de chuvas e a circulação de outros vírus respiratórios; descrever as características clínico-epidemiológicas dos pacientes infectados pelo MPVh, comparando com os pacientes negativos e com os positivos para outros vírus e avaliar a técnica de IFI como método de diagnóstico para a detecção do MPVh. Amostras de secreção de nasofaringe foram coletadas de crianças com sintomas de IRA e submetidas à técnica de imunofluorescência indireta para detecção dos seguintes vírus respiratórios: MPVh, vírus sincicial respiratório (VSR), influenza A e B, adenovírus e parainfluenza 1, 2 e 3. Durante os 24 meses de estudo, foram colhidas amostras de 1276 crianças sendo detectado algum vírus respiratório em 380 (29,78%) amostras. O MPVh foi o segundo vírus respiratório mais encontrado representando um total de 8,69% de todas as amostras e de 29% dentre as amostras positivas para os vírus pesquisados. Não foi observado para o MPVh um padrão de sazonalidade nem correlação com período chuvoso. A maioria dos pacientes positivos para MPVh foram atendidos na emergência (89,2%). A média de idade dos pacientes positivos para o MPVh foi de 27 meses sendo significativamente superior que a das crianças infectadas pelo VSR (15 meses), adenovírus (14 meses) e vírus parainfluenza 3 (18 meses). Dentre os pacientes infectados pelo MPVh, 53,2% tiveram o diagnóstico de infecções das vias aéreas superiores e 46,7% tiveram o diagnóstico de infecções das vias aéreas inferiores. As infecções por MPVh apresentaram o mesmo espectro de infecções causadas pelos demais vírus pesquisados. O MPVh associou-se mais a casos de pneumonia que levaram à hospitalização das crianças infectadas do que outros vírus analisados. Mais da metade dos pacientes infectados pelo MPVh utilizaram o aerossol / salbutamol no seu tratamento (68,5%). A técnica de IFI mostrou-se bastante eficaz como método de diagnóstico para a detecção do MPVh nesse estudo.

Palavras-chave: infecções respiratórias agudas, metapneumovírus humano, epidemiologia.

ABSTRACT

The human metapneumovirus (hMPV) is a newly discovered virus that has been considered as one of the most common agents of acute respiratory infections (ARI) virus in childhood. The objectives of this study were: 1) to observe the frequency of infections caused by hMPV among children attending Hospital Infantil Albert Sabin, a major pediatric hospital in Ceará, from January 2006 to December 2007; 2) to describe aspects of seasonality of these infections relating them to the occurrence of rain and the circulation of other respiratory viruses, 3) to describe the clinical and epidemiological characteristics of patients infected by hMPV, compared with positive and negative patients for other viruses; 4) to evaluate the IFI assay as a method of diagnosis for the detection of hMPV. Nasopharyngeal aspirates were collected from children with symptoms of ARI and submitted to indirect immunofluorescence assays for the detection of the following respiratory viruses: hMPV, respiratory syncytial virus (RSV), influenza A and B, adenovirus and parainfluenza 1, 2 and 3. During the 24 months of study, samples were collected from 1276 and respiratory viruses were demonstrated in 380 (29.78%) samples. The hMPV was the second most frequently detected respiratory viruses representing a total of 8.69% of all samples and 29% among the samples positive for the virus analyzed. It was not observed for hMPV a pattern of seasonality or correlation with the rainy season. Most patients positive for hMPV were attended in the emergence (89.2%). The mean age of patients infected by hMPV was 27 months, which is significantly older than that for VSR (15 months), adenovirus (14 months) and parainfluenza virus 3 (18 months). Among patients infected by hMPV, 53.2% had a diagnosis of infections of the upper airways and 46.7% had a diagnosis of infections of the lower airways. The hMPV infections showed the same spectrum of infections caused by other viruses analyzed. The hMPV associated to more cases of pneumonia that led to the hospitalization of children infected than other viruses analyzed. More than half of these patients used the aerosol / salbutamol as conduct therapy (68.5%). The IFI assay proved to be quite effective as a method of diagnosis for the detection of hMPV in this study.

Key words: acute respiratory infections, human metapneumovirus, epidemiology

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.1 Infecções respiratórias agudas | 15 |
| 1.2 Infecções respiratórias agudas por MPVh | 16 |
| 1.3 Metapneumovírus | 16 |
| 1.3.1 Histórico | 16 |
| 1.3.2 Classificação | 17 |
| 1.3.3 Estrutura | 18 |
| 1.3.4 Grupos antigênicos e genômicos do MPVh..... | 21 |
| 1.3.5 Epidemiologia | 22 |
| 1.3.5.1 Prevalência | 22 |
| 1.3.5.2 Transmissão | 22 |
| 1.3.5.3 Sazonalidade | 23 |
| 1.3.5.4 Sexo | 23 |
| 1.3.5.5 Idade | 23 |
| 1.3.5.6 Mortalidade | 24 |
| 1.3.6 Co-infecções de MPVh com outros vírus respiratórios | 24 |
| 1.3.7 Fisiopatologia | 24 |
| 1.3.8 Resposta imunológica do hospedeiro | 25 |
| 1.3.9 Manifestações clínicas | 25 |
| 1.3.10 Métodos de diagnóstico | 26 |
| 1.3.10.1 Técnicas de biologia molecular | 26 |
| 1.3.10.2 Isolamento viral em cultura de células | 27 |
| 1.3.10.3 Técnicas de detecção de antígeno viral | 27 |
| 1.3.11 Profilaxia e Tratamento | 28 |
| 2 OBJETIVOS | 30 |
| 2.1 Objetivo geral | 30 |
| 2.2 Objetivos específicos | 30 |
| 3 CASUÍSTICA E MÉTODOS | 31 |
| 3.1 Descrição do estudo | 31 |
| 3.1.1 Local do Estudo | 31 |
| 3.1.2 Tipo de estudo | 31 |
| 3.1.3 População de estudo | 31 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2 Coleta de dados e material clínico | 31 |
| 3.2.1 Coleta do material clínico | 32 |
| 3.2.2 Entrevista e preenchimento da ficha epidemiológica | 32 |
| 3.2.3 Dados de pluviometria | 33 |
| 3.3 Processamento do material clínico | 33 |
| 3.4 Reação de imunofluorescência indireta (IFI) para pesquisa de sete vírus respiratórios | 33 |
| 3.5 Reação de imunofluorescência indireta (IFI) para detecção do MPVh | 34 |
| 3.5.1 Controle positivo e controle negativo da reação de IFI para detecção de MPVh | 35 |
| 3.6 Análise estatística dos dados | 35 |
| 3.7 Questões éticas | 36 |
| 4 RESULTADOS | 37 |
| 4.1 Caracterização da população estudada | 37 |
| 4.2 Frequência das IRAs virais | 39 |
| 4.3 As co-infecções entre MPVh e outros vírus | 40 |
| 4.4 Características epidemiológicas das IRAs por MPVh | 40 |
| 4.4.1 Distribuição mensal das IRAs por MPVh | 40 |
| 4.4.2 Correlação dos casos positivos para o MPVh com os casos totais de IRAs e com os casos positivos para os outros vírus pesquisados | 41 |
| 4.4.3 Relação entre as infecções por MPVh e os índices pluviométricos | 43 |
| 4.4.4 Sexo | 44 |
| 4.4.5 Idade | 44 |
| 4.4.6 Setor de atendimento dos pacientes | 45 |
| 4.4.7 Fatores de risco e co-morbidades | 46 |
| 4.5 Características clínicas das IRAs por MPVh | 47 |
| 4.5.1 Síndromes clínicas | 47 |
| 4.5.2 Sintomas e sinais | 48 |
| 4.5.3 Alterações ao exame físico | 49 |
| 4.5.4 Alterações ao raio-X de tórax | 50 |
| 4.5.5 Tratamento | 51 |
| 5 DISCUSSÃO | 53 |
| 6 CONCLUSÕES | 70 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 71 |
| ANEXOS | 84 |

| | |
|---|----|
| Anexo I – Termo de consentimento livre e esclarecido..... | 85 |
| Anexo II – Ficha epidemiológica..... | 86 |
| Anexo III – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Infantil Albert Sabin | 89 |
| Anexo IV- Soluções e reagentes utilizados | 90 |
| Anexo V –Imunofluorescência para pesquisa de sete vírus respiratórios (VSR, Adenovírus, influenza A e B, Parainfluenza 1, 2 e 3)..... | 91 |
| Anexo VI – Imunofluorescência para pesquisa de MPVh | 92 |
| Anexo VII- Fluxograma da metodologia empregada no estudo | 93 |
| Artigos para publicação..... | 94 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1 – Classificação dos membros da família <i>Paramyxoviridae</i> | 18 |
| FIGURA 2 – Metapneumovírus humano à microscopia eletrônica | 19 |
| FIGURA 3 – Representação esquemática do metapneumovírus humano | 20 |
| FIGURA 4 – Comparação entre o mapa genômico do metapneumovirus humano e do vírus sincicial respiratório | 21 |
| FIGURA 5 – Coleta de secreção de nasofaringe em criança atendida no Hospital Infantil Albert Sabin | 32 |
| FIGURA 6 – Amostras positivas e negativas para antígenos do metapneumovírus humano pela técnica de IFI..... | 35 |
| FIGURA 7 – Distribuição da população do estudo de acordo com o setor de atendimento | 37 |
| FIGURA 8 – Distribuição da população de estudo por idade e sexo | 38 |
| FIGURA 9 – Frequência de sintomas e sinais de infecções respiratórias agudas na população de estudo | 39 |
| FIGURA 10 – Distribuição mensal dos casos de infecção respiratória por metapneumovírus em crianças atendidas no Hospital Infantil Albert Sabin durante o período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007..... | 41 |
| FIGURA 11 – Distribuição mensal das infecções respiratórias por MPVh e o total de casos de infecções respiratórias em crianças atendidas no Hospital Infantil Albert Sabin durante o período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007..... | 42 |
| FIGURA 12 – Distribuição dos casos de infecção respiratória aguda causados pelo metapneumovírus (MPVh), vírus sincicial respiratório (VSR), influenza, adenovírus, vírus parainfluenza (PIV) e de casos negativos para todos os vírus pesquisados na população de estudo durante o período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007..... | 42 |
| FIGURA 13 – Distribuição mensal dos casos de infecção respiratória aguda na população total de estudo, nas crianças infectadas por metapneumovírus e dos índices pluviométricos durante o período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007..... | 43 |
| FIGURA 14 – Frequência de sinais e sintomas associados a infecções respiratórias agudas causadas pelo metapneumovírus..... | 49 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1 – Total de casos de infecções respiratórias agudas causadas pelos vírus pesquisados e o percentual dessas infecções na população do estudo e entre os vírus pesquisados..... | 40 |
| TABELA 2 – Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação ao sexo..... | 44 |
| TABELA 3 – Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação à idade em meses | 45 |
| TABELA 4 – Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação ao setor de atendimento | 46 |
| TABELA 5 - Número total e percentual de casos de infecção de vias aéreas superiores causadas pelo metapneumovírus humano ou por outros vírus, em relação aos outros diagnósticos estabelecidos | 47 |
| TABELA 6 - Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação à presença do diagnóstico de infecções de vias aéreas inferiores | 48 |
| TABELA 7 – Achados a ausculta pulmonar das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados..... | 50 |
| TABELA 8 – Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação à radiografia torácica..... | 51 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcM- anticorpos monoclonais

APV-C- pneumovírus aviário tipo C

CEP - Comitê de Ética e Pesquisa

DATASUS – Banco de dados do Sistema Único de Saúde

ECP- efeito citopático

ELISA - ensaio imunoenzimático de fase sólida

FUNCEME - Fundação Cearense de Meteorologia

MPVh - metapneumovírus humano

IFI - imunofluorescência indireta

HIAS - Hospital Infantil Albert Sabin

IRA - infecções respiratórias agudas

IVAI – infecções das vias aéreas inferiores

IVAS – infecções das vias aéreas superiores

MEM-E - Meio Essencial Mínimo com sais de Earle

OMS – Organização Mundial de Saúde

OPAS – Organização Pan-americana de Saúde

PBS- tampão salina fosfato

RNA – ácido ribonucléico

RPM- rotações por minuto

RT-PCR - reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa

UTI - unidades de terapia intensiva

VSR - vírus sincicial respiratório

1 INTRODUÇÃO

1.1 Infecções respiratórias agudas

As infecções respiratórias agudas (IRA) são as doenças infecciosas mais frequentes em seres humanos (KAFETZIS, 2004). As maiores incidências e complicações das IRA são observadas nas crianças sendo responsáveis por 30 a 50% das consultas pediátricas, e por 20 a 40% das hospitalizações infantis, em todo o mundo (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS, 2007).

Estima-se que aproximadamente 1,6 a 2,2 milhões de crianças no mundo morram a cada ano, em consequência de IRA, com 40% dessas mortes ocorrendo na África e cerca de 30% no Sudeste da Ásia (WILLIAMS et al., 2002). No continente americano, a taxa de mortalidade devido às IRA em crianças menores de cinco anos é de aproximadamente 6,4%, porém sua importância como causa de óbito difere de país para país. No Canadá e nos Estados Unidos da América as IRA são responsáveis por cerca de 2% das mortes de crianças de zero a cinco anos (WILLIAMS et al., 2002; OPAS, 2007). Nos países em desenvolvimento, as IRA representam uma causa importante de morbidade e são uma das principais causas de mortalidade (BENGUIGUI, 2003). Estima-se que nesses países as IRA são responsáveis por aproximadamente dois milhões de mortes anuais em menores de cinco anos. Cerca de 5-10% dessas mortes são devido à pneumonia (CENTRO DE CONTROLE DE DOENÇA E PREVENÇÃO-CDC, 2007). Em países como o Peru e a Guatemala, as IRA são responsáveis por cerca de 13,8% e 30,7% das mortes, respectivamente (WILLIAMS et al., 2002; OPAS, 2007).

Os principais fatores de risco para incidências mais elevadas de IRA, bem como para IRA de maior gravidade, descritos na literatura, são: fatores sociais (pobreza, moradia em condições de aglomeração), fatores ambientais (poluição atmosférica) e fatores relacionados à própria criança (baixo peso ao nascer, deficiência de micronutrientes e desnutrição) (CASHAT-CRUZ et al., 2005).

Os vírus são considerados os agentes mais frequentes das IRA seja como patógeno principal ou predispondo à infecções bacterianas secundárias (WILLIAMS et al., 2002; MONTO, 2004). Esses agentes têm grande variedade antigênica, distribuição universal e acometem pessoas em todas as faixas etárias, podendo causar várias síndromes clínicas, com acometimento tanto do trato respiratório superior, quanto inferior (MONTO, 2004).

No Brasil, alguns estudos de diferentes áreas geográficas têm revelado a importância dos vírus como causas de IRA (ARRUDA et al., 1991; NASCIMENTO et al., 1991 ; MIYAO et al., 1999; CRUZ et al., 1999; CUEVAS et al., 2003; MOURA et al., 2003 ; OLIVEIRA, et al., 2004; STRALIOTTO et al., 2004; SERAFINO et al., 2004; TSUCHIYA et al., 2005 ;

MOURA et al., 2006; COSTA et al., 2006; ALONSO et al., 2007; BELLEI et al., 2007; COELHO et al., 2007; DEBUR et al., 2007; THOMAZELLI et al., 2007).

Os agentes virais mais freqüentes associados à etiologia das IRA são: rinovírus, vírus sincicial respiratório (VSR), vírus influenza, vírus parainfluenza, adenovírus, enterovírus, coronavírus e metapneumovírus humano (MPVh). Um novo membro da família *Parvoviridae*, o bocavírus humano foi descrito recentemente como agente comum de IRA em crianças (STRALIOTTO et al., 2004; GERNA et al., 2005; MOURA et al., 2006; ORDÁS et al., 2006; ARDEN et al., 2006; MANOHA et al., 2007; CHUNG et al., 2007; PARODY et al., 2007; KLEINES et al., 2007; ANDERSON, 2007).

1.2 Infecções respiratórias agudas por MPVh

O MPVh é um patógeno responsável por uma significativa proporção de IRA em crianças e adultos. Essas infecções podem variar de leves ou mesmo assintomáticas, até infecções graves e algumas vezes fatais (VAN DEN HOOGEN et al., 2001; FALSEY et al., 2003; CARR, et al., 2005; NOYOLA et al., 2005; GERNA et al., 2005; BOIVIN et al., 2007; MÜLLER et al., 2007).

Apesar de acometer todas as faixas etárias, as infecções pelo MPVh ocorrem principalmente entre crianças menores de cinco anos (MULLINS et al., 2004; KIM et al., 2005; WOLF et al., 2006). Segundo alguns estudos, o MPVh ocupa posição de destaque como agente de IRA na infância, sendo um dos vírus respiratórios mais prevalentes nessa fase da vida, após o VSR (NOYOLA et al., 2005; GERNA et al., 2005; ORDÁS et al., 2006; WILLIAMS et al, 2006).

1.3 Metapneumovírus

1.3.1 Histórico

O primeiro relato do MPVh como agente de IRA ocorreu em 2001, na Holanda. Amostras de aspirado de nasofaringe coletadas de 28 crianças com IRA cujo agente não tinha sido identificado foram inoculadas em cultura de células. Desses pacientes, 27 eram menores de cinco anos e 13 eram recém nascidos de zero a 12 meses de idade. Os sintomas clínicos dessas crianças eram bastante similares às IRA causadas por VSR variando de problemas respiratórios leves a bronquiolite e pneumonia, muitas vezes acompanhados de febre alta, mialgia e vômitos. Alguns desses pacientes foram hospitalizados e necessitaram de ventilação mecânica (VAN DEN HOOGEN et al., 2001).

Após 10-14 dias de inoculação das amostras clínicas em células de rim de macaco (tMK), células de rim de macaco verde africano (células Vero), células de carcinoma de

pulmão (células A549) e células de rim de cão (células MDCK) observou-se um aparecimento lento de efeito citopático (ECP) cuja característica era bastante semelhante ao ECP produzido pelo VSR, com formação de sincícios característicos seguido pelo rápido rompimento das células e subsequente destacamento da placa de cultura. Os sobrenadantes de células tMK infectadas foram usados para análise em microscópio eletrônico que revelou a presença de partículas pleomórficas semelhantes aos paramixovírus, medindo cerca de 150-600nm. Posteriormente, o RNA foi isolado de sobrenadantes de células tMK infectadas para análise de reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR) usando “primers” específicos para paramixovírus conhecidos. A análise mostrou que o vírus não estava relacionado a nenhum vírus cujo “primers” haviam sido selecionados. A análise genética do vírus revelou que a organização genômica era mais semelhante ao pneumovírus aviário tipo C (APV-C) que o VSR humano. Baseado na seqüência e organização genômica, os vírus foram considerados um novo membro do gênero *Metapneumovirus* e nomeados como Metapneumovírus humano (MPVh) (VAN DEN HOOGEN et al., 2001).

1.3.2 Classificação

O MPVh pertence à ordem *Mononegavirales*, família *Paramyxoviridae*, subfamília *Pneumovirinae* e gênero *Metapneumovirus* (VAN DEN HOOGEN et al., 2001) (figura 1). Sua associação à subfamília *Pneumovirinae* e gênero *Metapneumovirus* deve-se à sua relação genética com o pneumovírus aviário. O MPVh é mais similar ao subtipo APV-C, compartilhando uma ordem idêntica de genes com 56%-88% de homologia a nível de ácido nucléico. De todos os vírus humanos, o MPVh é mais similar ao VSR (VAN DEN HOOGEN et al., 2002).

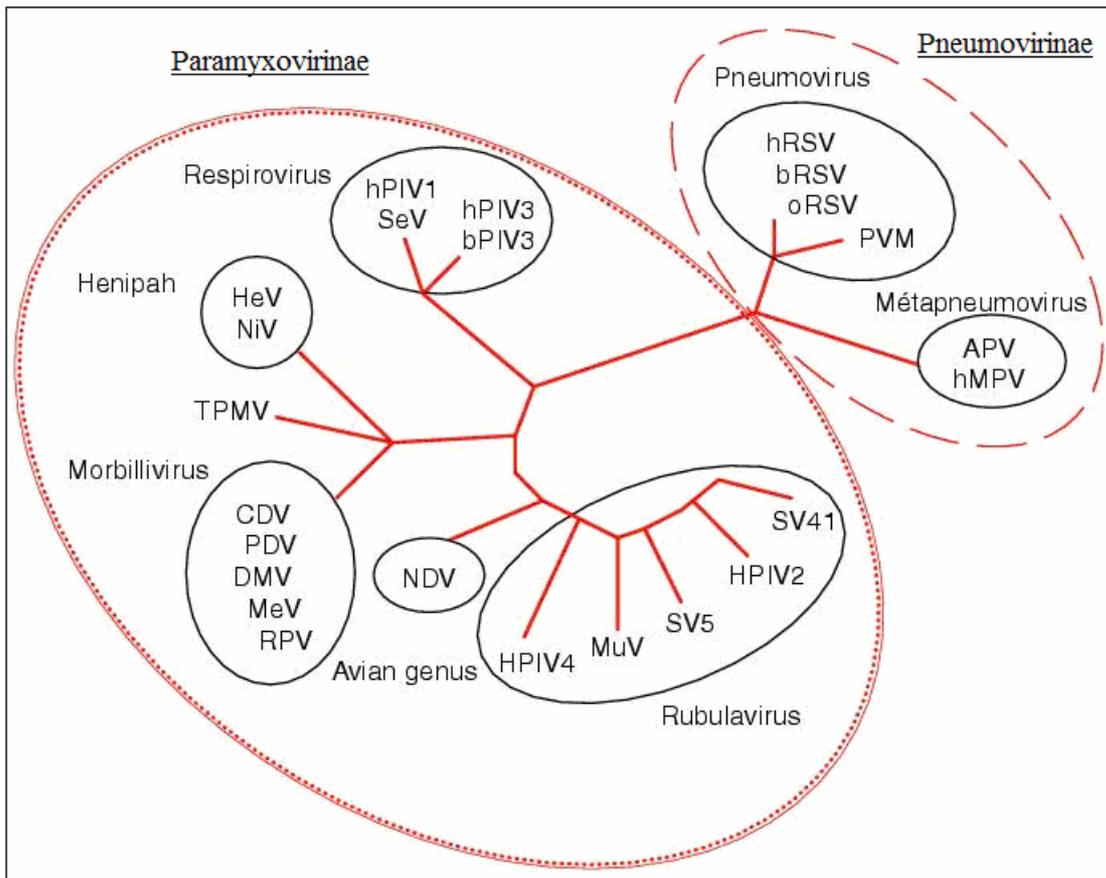


FIGURA 1 – Classificação dos membros da família *Paramyxoviridae*. Disponível em: <www.jle.com/.../51/article.md?fichier=images.htm>. Acesso em: 10 nov. 2007.

1.3.3 Estrutura

As partículas virais são pleomórficas, apresentando simetria esférica ou filamentosa com diâmetro variando entre 150 e 600 nanômetros. Seu vírion é composto de um nucleocapsídeo de simetria helicoidal envolto por um envelope contendo curtas espículas de glicoproteínas de superfície de 13nm a 17nm de comprimento (VAN DEN HOOGEN et al., 2001). A Figura 2 mostra a imagem do MPVh à microscopia eletrônica.

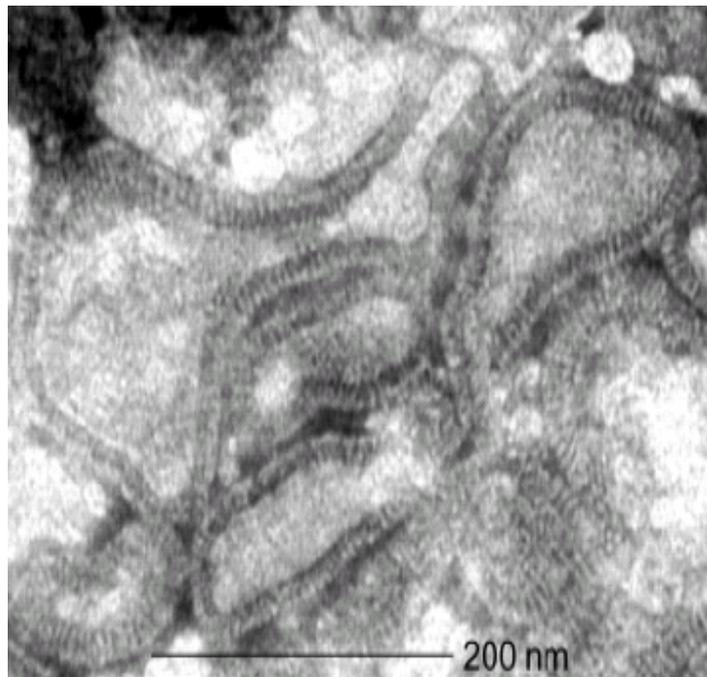


FIGURA 2 – Metapneumovírus humano à microscopia eletrônica (Fonte: VAN DEN HOOGEN et al., 2001).

O envelope viral consiste de dupla camada lipídica que tem origem na membrana citoplasmática da célula hospedeira e contém três glicoproteínas localizadas na superfície do envelope: a proteína de fusão (F), a proteína de ligação (G) e a pequena proteína hidrofóbica (SH). A proteína F é sintetizada como precursor inativo F_0 , que deve ser clivado proteoliticamente por uma protease extracelular, dando origem a duas subunidades (F1 e F2). Esta clivagem promove a fusão do envelope viral com a membrana da célula hospedeira, além da fusão entre uma célula infectada e uma célula adjacente resultando na formação de células gigantes multinucleadas, os sincícios. A glicoproteína G é altamente glicosilada e é responsável pela adsorção do vírus à célula hospedeira. A função da proteína SH permanece desconhecida. A proteína M (proteína de matriz) medeia a associação do nucleocapsídeo viral com as proteínas do envelope e as proteínas de membrana, M2-1 e M2-2, são proteínas regulatórias (VAN DEN HOOGEN et al., 2002; BIACCHESI et al., 2003).

O genoma viral é composto por uma fita de RNA linear, não segmentada, com polaridade negativa de aproximadamente 13kb. Associado ao genoma está a nucleoproteína (NP), que mantém a estrutura genômica ligando-se firmemente à molécula de RNA e, juntamente com a fosfoproteína (P) e proteína “large” (L), são responsáveis pela atividade de

RNA-polimerase RNA-dependente durante a replicação (VAN DEN HOOGEN et al., 2002). A estrutura do MPVh está representada esquematicamente na Figura 3.

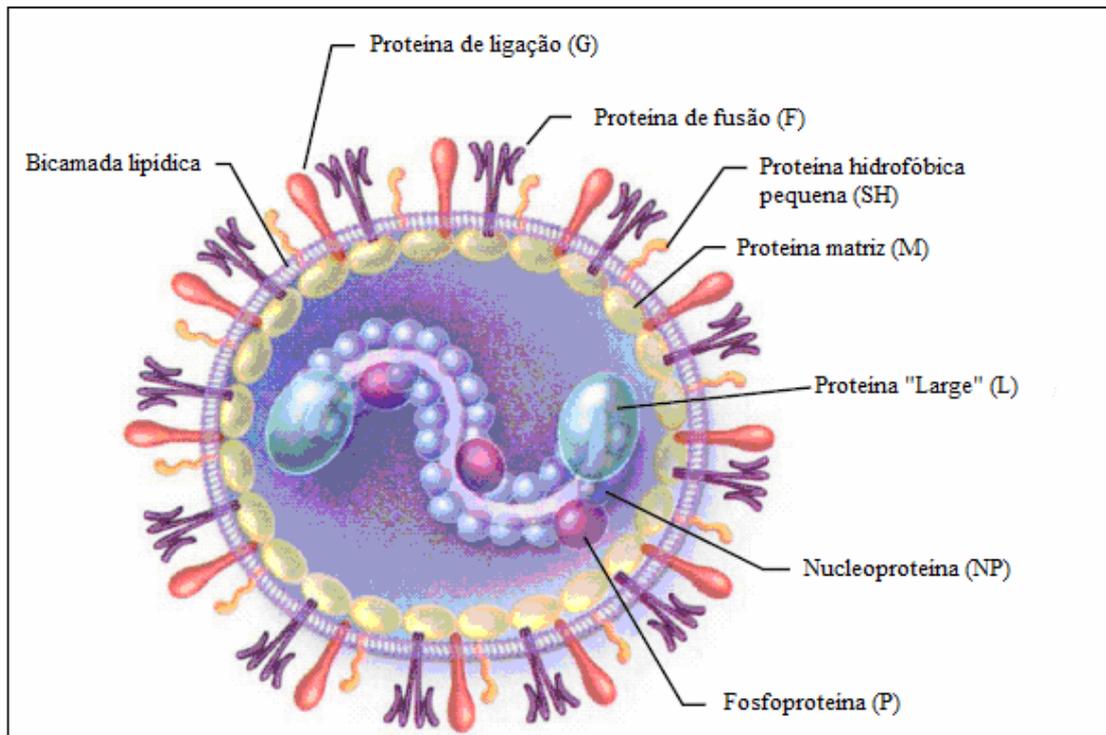


FIGURA 3 – Representação esquemática do metapneumovírus humano. Figura modificada a partir de: Disponível em: The New England Journal of Medicine <content.nejm.org/this_week/344/25/index.shtml>. Acesso em: 26 out. 2007.

O genoma do MPVh tem oito genes que codificam nove proteínas na ordem 3'-N-P-M-F-M2-SH-G-L-5' (o gene M2 codifica duas proteínas M2-1 e M2-2) (VAN DEN HOOGEN et al., 2002; BIACCHESI et al., 2003).

O VSR é o patógeno humano mais relacionado ao MPVh. O genoma do VSR contém dois genes não-estruturais, NS-1 e NS-2, na extremidade 3' seguido pelos genes N, P, M, SH, G, F, M2 e L na ordem 3'-NS1-NS2-N-P-M-SH-G-F-M2-L-5'. Em contraste, o genoma do MPVh tem genes na ordem 3'-N-P-M-F-M2-SH-G-L-5'. Além da ordem dos genes, a maior diferença encontrada entre os genomas de MPVh e VSR é a falta de dois genes não-estruturais, NS-1 e NS-2, na extremidade 3' do MPVh. Estes genes codificam uma atividade anti-interferon e a falta dos mesmos no MPVh em relação à sua patogenicidade é desconhecido. O gene F é o mais altamente conservado (33% de identidade a nível de aminoácido) entre MPVh e VSR. A proteína putativa G do MPVh é considerada menor que a

proteína G do VSR (236 versus 299 aminoácidos). O gene G é o mais variável de todos os genes do MPVh, similarmente ao gene G do VSR. O gene SH do MPVh codifica uma proteína (180 aminoácidos) que é maior que a proteína SH do VSR (64 aminoácidos) (VAN DEN HOOGEN et al., 2002; BIACCHESSI et al., 2003). A figura 4 mostra o mapa genômico do MPVh e VSR, respectivamente.

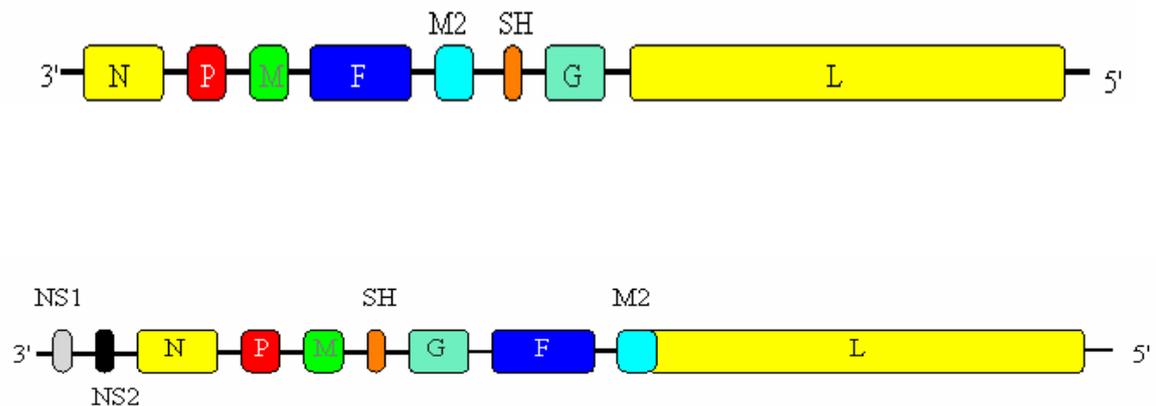


FIGURA 4 – Comparação entre o mapa genômico do MPVh e VSR. Disponível em: <<http://template.bio.warwick.ac.uk/staff/easton/IMAGES/Diagrams/Pneumogen.gif>>.

Acesso em: 25 out. 2007.

1.3.4 Grupos antigênicos e genômicos do MPVh

Existem duas linhagens genéticas de MPVh, A e B, com dois subtipos de cada linhagem (A1, A2, B1, B2) (BIACCHESSI et al., 2003; VAN DEN HOOGEN et al., 2004).

As proteínas SH e G apresentaram maior diversidade genética entre os subgrupos de MPVh (59 e 37% de identidade, respectivamente), enquanto que as proteínas do MPVh mais conservadas foram N, M, F, M2-1 e L (94% de identidade entre os subgrupos), seguido pela proteína P e M2-2 (85-89% de identidade) (BIACCHESSI et al., 2003).

Linhagens genéticas distintas do vírus têm sido identificadas em diversos países. Estudos têm demonstrado que as cepas de ambos os subgrupos de MPVh co-circulam a cada ano e que as cepas predominantes variam de local a local e de ano a ano (BASTIEN et al., 2003; GERNA et al., 2005; LUDEWICK et al., 2005; HUCK et al., 2006).

1.3.5 Epidemiologia

1.3.5.1 Prevalência

Desde a sua descoberta, o MPVh tem sido identificado em várias partes do mundo (BASTIEN et al., 2003; CUEVAS et al., 2003; MAGGI et al., 2003; LUCHSINGER et al., 2005; LUDEWICK et al., 2005; MANOHA et al., 2007). Esse patógeno é responsável por uma significativa proporção de IRA em crianças e adultos (BASTIEN et al., 2003; FALSEY, et al., 2003; CHAN, et al., 2003; NOYOLA et al., 2005; GERNA et al., 2005; CARR, et al., 2005; ORDÁS et al., 2006). As taxas de detecção de MPVh em crianças com IRA têm sido relatadas em diferentes locais, variando entre 1,5 a 59% enquanto que em adultos essas taxas de detecção variam entre 2,4% a 4,5% (FALSEY et al., 2003; BASTIEN et al., 2003; PEIRIS et al., 2003; MAGGI et al., 2003; KASHIWA et al., 2004; NOYOLA et al., 2005; LUCHSINGER et al., 2005; CARR et al., 2005; ORDÁS et al., 2006; MANOHA et al., 2007; REINA et al., 2007). No Brasil, alguns estudos mostram frequências de identificação do MPVh que variam entre 6.4% a 24% (CUEVAS et al., 2003; SERAFINO et al., 2004; DEBUR et al., 2007; THOMAZELLI et al., 2007).

O MPVh tem sido detectado em 5-20% das amostras clínicas de pacientes com IRA, negativos para outros vírus respiratórios por diversos métodos de diagnóstico (FREYMUTH et al., 2003; WILLIAMS et al., 2004; LUCHSINGER et al., 2005; NOYOLA et al., 2005; DEBUR et al., 2007). Entre crianças hospitalizadas com infecções das vias aéreas inferiores, a taxa de detecção de MPVh tem variado entre 6% a 19% em diferentes estudos (BOIVIN et al., 2003; LUDEWICK et al., 2005; KIM et al., 2005; SEMPLE et al., 2005; WOLF et al., 2006).

1.3.5.2 Transmissão

A transmissão do MPVh ocorre pela via respiratória através da inalação de gotículas eliminadas na fala, tosse ou espirros ou através do contato direto com secreções respiratórias contaminadas, que podem estar presentes em objetos contaminados ou nas mãos de pessoas infectadas (CROWE Jr., 2004). O MPVh tem sido detectado em secreções nasais, saliva e suor (LINSTOW et al., 2006). A transmissão em hospitais pediátricos tem sido relatada (ESPER et al., 2003; CHANO et al., 2005). Nesse tipo de transmissão, os pacientes devem ser isolados em quartos privativos quando há suspeita de infecção por MPVh, principalmente se forem crianças com fatores de risco para doença grave (ESPER et al., 2003; CHANO et al., 2005).

1.3.5.3 Sazonalidade

Assim como observado para o VSR e o vírus influenza, a distribuição sazonal do MPVh pode variar de acordo com o ano ou localização geográfica (VAN DEN HOOGEN et al., 2004).

Em países do hemisfério Norte, o MPVh circula predominantemente nos meses de inverno e primavera, e o pico de atividade muitas vezes coincide ou ocorre logo após aos picos de atividade do VSR e do vírus influenza (BASTIEN et al., 2003; MULLINS et al., 2004; BOUSCAMBERT-DUCHAMP et al., 2005; GERNA et al., 2005; WILLIAMS et al., 2006; MANOHA et al., 2007).

No hemisfério Sul, há uma grande variação na sazonalidade do vírus. Na Argentina e Chile a detecção de MPVh ocorre principalmente durante a primavera, diferindo do padrão de ocorrência de zonas temperadas do hemisfério Norte, em que o pico de MPVh ocorre principalmente nos meses frios (GALIANO et al., 2004; LUCHSINGER et al., 2005). Na Austrália, em um estudo realizado durante quatro anos, o MPVh foi detectado em todos os meses do ano, com picos de ocorrência de agosto a outubro (meses da primavera) (SLOOTS et al., 2006).

No Brasil, dados de diferentes estados ratificam essa variação. Em Sergipe, nordeste do Brasil, os casos de infecções por MPVh foram detectados durante o período epidêmico do VSR, apresentando uma associação com o período chuvoso (CUEVAS et al., 2003; SERAFINO et al., 2004). Este achado difere do padrão observado na região sul do Brasil onde o pico de atividade do MPVh está associado aos meses mais frios (DEBUR et al., 2007).

1.3.5.4 Sexo

O MPVh acomete crianças e adultos de ambos os sexos, porém as infecções em crianças são observadas mais frequentemente em crianças do sexo masculino. (BOIVIN et al., 2003; BASTIEN et al., 2003; CUEVAS et al., 2003; MULLINS et al., 2004; SERAFINO et al., 2004; NOYOLA et al., 2005; KIM et al., 2005 ; WILKESMANN et al., 2006; DEBUR et al., 2007).

1.3.5.5 Idade

Apesar de acometer pessoas em todas as faixas etárias, as infecções por MPVh são mais comuns na infância predominando em crianças menores de cinco anos (VAN DEN HOOGEN et al., 2001; WOLF et al., 2003; CUEVAS et al., 2003; MULLINS et al., 2004; LEUNG et al., 2005). Estudos de soroprevalência mostram que por volta dos cinco anos de idade, >90% das crianças foram infectadas por MPVh enquanto que em adultos a

soroprevalência de anticorpos específicos para MPVh é de aproximadamente 100% (VAN DEN HOOGEN et al., 2001; LEUNG et al., 2005).

Pacientes infectados por MPVh são ligeiramente mais velhos que os pacientes infectados pelo VSR (PEIRIS et al., 2003; MULLINS et al., 2004; LUCHSINGER et al., 2005; WOLF et al., 2006; ÓRDAS et al., 2006; MANOHA et al., 2007).

Diversos estudos têm relatado casos de IRA por MPVh em idosos. Esses pacientes geralmente apresentam IRA graves necessitando de hospitalização (FALSEY et al., 2003; BASTIEN et al., 2003; CARR et al., 2005; VAN DEN HOOGEN, 2007).

1.3.5.6 Mortalidade

Alguns estudos têm demonstrado que pacientes imunocomprometidos, idosos e crianças menores de dois anos de idade representam um grupo de maior risco para infecções graves por MPVh (PELLETIER et al., 2002; CANE et al., 2003; VAN DEN HOOGEN et al., 2004; BOIVIN et al., 2007). Casos de mortalidade por MPVh têm sido detectado em pacientes com leucemia linfoblástica aguda e em pacientes com doenças hematológicas (PELLETIER et al., 2002; CANE et al., 2003; WILLIAMS et al., 2005).

1.3.6 Co-infecções de MPVh com outros vírus respiratórios

Uma distribuição sazonal semelhante pode resultar em co-infecção do MPVh com outros vírus respiratórios (CUEVAS et al., 2003; GERNA et al., 2005). O MPVh tem sido frequentemente detectado em co-infecções com outros vírus respiratórios. Estudos têm relatado casos de co-infecção entre MPVh e VSR com taxas variando de 0,5 a 70% (CUEVAS et al., 2003; GREENSILL et al., 2003; GERNA et al., 2005; AL-SONBOLI et al., 2006; WOLF et al., 2006; MANOHA et al., 2007). Casos de co-infecção com MPVh e outros vírus respiratórios como vírus influenza A e B, vírus parainfluenza, rinovírus, adenovírus e coronavírus também têm sido descritos em alguns estudos (CHAN, et al., 2003; PEIRIS et al., 2003; GERNA et al., 2005; WOLF et al., 2006;; MANOHA et al., 2007; KAIDA et al., 2007).

1.3.7 Fisiopatologia

O período de incubação do MPVh varia de cinco a seis dias (LINSTOW et al., 2006). O MPVh replica-se nas células epiteliais do trato respiratório podendo esta replicação ficar limitada às células do trato respiratório superior, ou através de transmissão célula a célula, disseminar-se para áreas do trato respiratório inferior como os alvéolos. O MPVh pode persistir nos pulmões até 60 dias após a infecção e seu genoma pode ser detectado em até 180

dias ou mais, apesar da presença de anticorpos neutralizantes. Esse achado sugere a possibilidade de infecção latente pelo MPVh (ALVAREZ et al., 2004; VARGAS et al., 2004).

As células infectadas pelo MPVh podem apresentar inclusões citoplasmáticas eosinofílicas e formação de células gigantes multinucleadas. Os achados histopatológicos nos pulmões de pacientes positivos para MPVh mostram necrose de células epiteliais, infiltração peribronquiolar por linfócitos e aumento da produção de muco. Infiltrados de células mononucleares foram observados dois dias após a infecção, atingindo pico no quarto dia. 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 (ALVAREZ et al., 2004; VARGAS et al., 2004).

1.3.8 Resposta imunológica do hospedeiro

A recuperação da infecção pelo MPVh é mediada pelas respostas imunes humoral e celular. Estudos têm mostrado que anticorpos específicos para MPVh foram detectados no 14º dia após infecção com pico no 28º dia, permanecendo alto durante todo o tempo da infecção por MPVh (ALVAREZ et al., 2004). A resposta humoral controla apenas parcialmente a infecção. Crianças maiores que dois anos apresentam títulos de anticorpos neutralizantes mais elevados que aquelas entre seis e 24 meses, sugerindo que as reinfecções ocorrem frequentemente apesar da presença de anticorpos circulantes (VAN DEN HOOGEN et al., 2001).

Mecanismos de defesa inatos como recrutamento de macrófagos, ativação do sistema complemento e as células “natural killer” (NK) também desempenham um papel importante no combate a uma infecção por MPVh. Um estudo comparando a infecção por MPVh e VSR em ratos mostrou que o MPVh causa doença mais grave associada com níveis altos de citocinas e uma resposta mais forte de células NK, quando comparada à infecção por VSR nesses animais. Em relação à resposta imune celular, o estudo mostrou que não houve diferenças no recrutamento de linfócitos T entre as duas infecções virais (HUCK et al., 2007).

1.3.9 Manifestações clínicas

As manifestações clínicas apresentadas por pacientes infectados pelo MPVh variam de acordo com a síndrome clínica diagnosticada, podendo ser também comum a várias síndromes. O MPVh tem sido associado à infecções do trato respiratório superior (IVAS) e inferior (IVAI) (BOIVIN et al., 2003; MAGGI et al., 2003; KIM et al., 2005; WILLIAMS et

al., 2006; WILKESMANN et al., 2006; ÓRDAS et al., 2006). Os sintomas mais comuns associados às IRA pelo MPVh incluem: dispnéia, febre, tosse, coriza e sibilos (PEIRIS et al., 2003; KIM et al., 2005; NOYOLA et al., 2005; WILLIAMS et al., 2006; WOLF et al., 2006). Outros sintomas relatados são: diarreia, vômitos, conjuntivite e otite média (PEIRIS et al., 2003; NOYOLA et al., 2005; WILLIAMS et al., 2006; WOLF et al., 2006).

Estudos têm demonstrado que 1,1-4,1% de indivíduos assintomáticos são positivos para MPVh, indicando a possibilidade desses vírus causarem infecções inaparentes (FALSEY et al., 2003; WILLIAMS et al., 2004).

A maioria das infecções causadas pelo MPVh tem sido associadas às IVAI (FREYMUTH et al., 2003; BOIVIN et al., 2003; BOUSCAMBERT-DUCHAMP et al., 2005; KIM et al., 2005). O diagnóstico mais comum em pacientes infectados pelo MPVh são bronquiolite, pneumonia e bronquite (BOIVIN et al., 2003; MULLINS et al., 2004; KIM et al., 2005; WOLF et al., 2006; DEBUR et al., 2007). Alguns estudos têm mostrado a associação do MPVh com asma, doenças neurológicas e doença pulmonar obstrutiva crônica (VAN DEN HOOGEN et al., 2003; PEIRIS et al., 2003; WILLIAMS et al., 2004; HAMELIN et al., 2005; WILLIAMS et al., 2005; WILKESMAN et al., 2006; KAIDA et al., 2006; HATA et al., 2007; SCHILDGEN et al., 2007).

1.3.10 Métodos de diagnóstico

1.3.10.1 Técnicas de biologia molecular

A técnica de RT-PCR tem sido considerada o método de escolha para o diagnóstico do MPVh (BOIVIN et al., 2003; PEIRIS et al., 2003; GREENSILL et al., 2003; GERNA et al., 2005; CARR et al., 2005; WOLF et al., 2006). Muitos trabalhos têm utilizado os genes L, N ou F para amplificação, por serem os genes mais conservados entre os subgrupos de MPVh. Devido à existência de dois grupos antigênicos de MPVh mostrando significativa variabilidade genética, esse vírus pode não ser detectado quando “primers” inapropriados são usados (MACKAY et al., 2003; CÔTÉ et al., 2003). As taxas de detecção de MPVh utilizando a técnica de RT-PCR têm variado nos diferentes estudos entre 2,4% a 59% (PEIRIS et al., 2003; BOIVIN et al., 2003; MULLINS et al., 2004; KASHIWA et al., 2004; CARR et al., 2005; INGRAM et al., 2006; WOLF et al., 2006).

A RT-PCR em tempo real, uma nova técnica molecular, tem sido bastante utilizada para detectar e quantificar o MPVh em espécimes respiratórios, com taxas de detecção variando entre 6,4% a 9,7% nos diferentes estudos (MACKAY et al., 2003; BOUSCAMBERT-DUCHAMP et al., 2005; KUYPERS et al., 2005; PABBARAJU et al., 2007). O uso dessa técnica tem melhorado o diagnóstico de infecções por MPVh por ser mais

rápida, sensível e específica que a RT-PCR convencional (MACKAY et al., 2003; CÔTÉ et al., 2003; MAERTZDORF et al., 2004; KUYPERS et al., 2005; PABBARAJU et al., 2007). A sensibilidade de detecção do MPVh pela técnica de RT-PCR varia de acordo com o “primer” escolhido. Um estudo comparando protocolos dessa técnica de RT-PCR em tempo real para cinco genes diferentes de MPVh, mostrou que as taxas de sensibilidade da RT-PCR em tempo real para os genes M, F, P e L, foram de 70, 63,3, 50 e 89,6%, respectivamente, quando comparadas com o gene N (CÔTÉ et al., 2003).

1.3.10.2 Isolamento viral em cultura de células

O isolamento viral em cultivo celular não tem sido muito utilizado para a detecção do MPVh pois o vírus replica-se lentamente em cultura de células, não cresce eficientemente em linhagens de células tradicionalmente usadas para isolamento viral e não tem atividade hemaglutinante. O isolamento do MPVh é restrito a um número limitado de células e requer meio contendo tripsina para propagação. Estudos têm mostrado que o MPVh cresce com dificuldade em células Vero, A549, tMK, MDCK e células de fibroblasto humano (MRC-5) (VAN DEN HOOGEN et al., 2001; BOIVIN et al., 2002; PERET et al., 2002). Em vários estudos, o MPVh tem apresentado bom crescimento em células de rim de macaco rhesus (LLC-MK2) e células de carcinoma de laringe (HEp-2), sendo as primeiras células preferencialmente usadas quando se deseja isolar o MPVh (PERET et al., 2002; BOIVIN et al., 2002; CHAN et al., 2003; LANDRY et al., 2005; PERCIVALLE et al., 2005; REINA et al., 2007).

O tempo de observação do ECP tem variado nos diversos estudos entre 10 a 22 dias (VAN DEN HOOGEN et al., 2001; BOIVIN et al., 2002; CHAN et al., 2003). Em “shell vial culture”, o tempo de detecção viral ocorre de dois a cinco dias após inoculação (LANDRY et al., 2005; PERCIVALLE et al., 2005; REINA et al., 2007). As características do ECP variam, com algumas cepas induzindo a formação de sincícios semelhante ao VSR e outras tornando as células pequenas, arredondadas e refringentes (VAN DEN HOOGEN et al., 2001; BOIVIN et al., 2002; CHAN et al., 2003; PERCIVALLE et al., 2005; REINA et al., 2007). A confirmação da infecção por MPVh se dá pela técnica de imunofluorescência utilizando anticorpos específicos para MPVh ou através da técnica de RT-PCR (BOIVIN et al., 2002; PERCIVALLE et al., 2005; REINA et al., 2007).

1.3.10.3 Técnicas de detecção de antígeno viral

A imunofluorescência e o ensaio imunoenzimático de fase sólida (ELISA) são testes rápidos para detecção de antígenos em secreções nasais. A imunofluorescência é um método

relativamente barato e simples de ser executado, permitindo um resultado em aproximadamente duas horas. A rapidez nos resultados é importante para o diagnóstico de vírus respiratórios uma vez que eles têm um período curto de incubação e as epidemias espalham-se rapidamente (LIPSON, 2002). Essa técnica tem como limitação a necessidade de um microscopista bem treinado capaz de reconhecer a presença de células positivas. A subjetividade na interpretação dos resultados, em casos onde esse especialista não existe, é um risco para a segurança dos resultados.

A imunofluorescência indireta (IFI) tem sido bastante utilizada para detectar vírus respiratórios (OLIVEIRA et al., 2004; STRALIOTTO et al., 2004; EBIHARA et al., 2005; COSTA et al., 2006; MOURA et al., 2006; WOLF et al., 2006; FENWICK et al., 2007). Entretanto, o uso desse método para a detecção do MPVh não tem sido muito utilizado, pois anticorpos monoclonais para esse vírus foram desenvolvidos apenas recentemente (PERCIVALLE et al., 2005; EBIHARA et al., 2005; LANDRY et al., 2005; FENWICK et al., 2007). A sensibilidade da imunofluorescência para o MPVh, quando comparada à técnica de RT-PCR tem variado, nos diferentes estudos, entre 73 a 96% e a especificidade tem-se mostrado uniformemente elevada entre 94 e 98% (PERCIVALLE et al., 2005; EBIHARA et al., 2005; INGRAM et al., 2006).

Um estudo utilizando a técnica de ELISA detectou antígenos de MPVh em cultura de células infectadas por MPVh (WYDE et al., 2003). Entretanto, não há estudos de detecção de antígenos de MPVh por ELISA em amostras clínicas. Só recentemente foi disponibilizado um kit comercial de ELISA para o MPVh “V6HMPV” (Biotrin International, Dublin, Ireland).

1.3.11 Profilaxia e Tratamento

Diversos pesquisadores vêm tentando desenvolver vacinas contra o MPVh, porém, até o momento não há vacina comercialmente disponível para uso. Algumas estratégias de vacinas vêm sendo investigadas em modelos animais. Um recombinante vivo do vírus parainfluenza humano que contém o gene F do MPVh tem induzido à produção de anticorpos específicos para MPVh (SKIADOPOULOS et al., 2004). Um estudo demonstrou que um quimérico parainfluenza 3 bovino/humano, expressando o gene F do MPVh, induziu a produção de anticorpos neutralizantes contra o vírus parainfluenza e o MPVh (TANG et al., 2005). Também têm sido relatados estudos com vacinas obtidas de MPVh recombinantes atenuados, faltando os genes G, SH ou M2 ou ambos os genes G e SH (BIACCHESSI et al., 2004; BIACCHESSI et al., 2005). Recombinantes de MPVh gerados pela substituição dos genes N ou P com os genes correspondentes do APV-C, mostrou-se imunogênico (PHAM et al., 2005).

A prevenção da transmissão hospitalar da infecção por MPVh requer a utilização de medidas como a lavagem rigorosa das mãos e o uso de máscara cirúrgica pelos profissionais de saúde que estão em contato próximo com os pacientes (ESPER et al., 2003; CHANO et al., 2005).

Não há um tratamento específico disponível para o MPVh. Um estudo comparando a atividade antiviral da ribavirina e da imunoglobulina intravenosa (IVIG) contra MPVh e VSR em cultura de células mostrou que os compostos apresentaram atividade inibitória contra o MPVh (WYDE et al., 2003). A ribavirina intravenosa foi descrita em um estudo isolado com um paciente imunocomprometido apresentando pneumonia, com melhoramento e subsequente recuperação do mesmo após tratamento com essa droga (RAZA et al., 2007). Em outro estudo, duas drogas antivirais (ribavirina e o NMSO3) foram testadas e inibiram significativamente a replicação dos sorotipos 1 e 2 do MPVh em cultura de células (WYDE et al., 2004).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- ✓ Descrever o perfil epidemiológico e clínico das infecções respiratórias causadas pelo MPVh em crianças atendidas no HIAS, na cidade de Fortaleza – CE, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Observar a frequência das infecções causadas pelo MPVh em crianças atendidas por IRA no HIAS;
- ✓ Descrever aspectos de sazonalidade das infecções por MPVh relacionando-as com a ocorrência de chuvas e a circulação de outros vírus respiratórios;
- ✓ Descrever as características epidemiológicas dos pacientes infectados pelo MPVh, em comparação com os pacientes negativos e com os positivos para outros vírus;
- ✓ Descrever aspectos clínicos (sintomas, sinais e diagnóstico) das IRA por MPVh.
- ✓ Avaliar a técnica de IFI como método de diagnóstico para detecção do MPVh.

3 CASUÍSTICA 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, a uma altitude média de 21 metros. A cidade de Fortaleza apresenta clima tropical, com temperatura média anual de 27°C e umidade relativa média do ar de 77%, e possui uma população de 2.141.402 habitantes, em uma área territorial de 313,14 km², de acordo com os dados do censo populacional de 2000 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

Os pacientes do estudo foram selecionados no HIAS, em Fortaleza. O HIAS é o hospital pediátrico de referência do estado do Ceará, realizando em média, 613 internações mensais e cerca de 7700 atendimentos ambulatoriais e 4800 atendimentos de emergência por mês. Possui 252 leitos distribuídos em seis blocos de enfermarias e quatro unidades de terapia intensiva (UTIs).

3.1.2 Tipo de estudo

Este foi um estudo do tipo observacional, analítico, transversal, realizado por um período de 24 meses, entre janeiro de 2006 e dezembro de 2007.

3.1.3 População de estudo

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

- ✓ Crianças e adolescentes (0-16 anos de idade) atendidas no serviço de emergência ou enfermarias 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 clínico

A coleta dos dados e dos espécimes clínicos para análise ficou sob responsabilidade da mestranda e de estudantes de Medicina e Enfermagem que participam do Laboratório de Virologia. Esta coleta ocorreu durante os dias úteis, pela manhã e / ou à tarde, durante o período de estudo.

3.2.1 Coleta do material clínico

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). Caso não fosse obtido material suficiente (cerca de 2 mL), este procedimento era repetido na outra narina (figura 5). Após a coleta, a sonda e a seringa eram guardadas na embalagem plástica da seringa, identificadas com o nome da criança e acondicionadas em isopor contendo gelo seco reciclável. Em um prazo de até quatro 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 5 – Coleta de secreção de nasofaringe em criança atendida no HIAS.

3.2.2 Entrevista e preenchimento da ficha epidemiológica.

O responsável pela criança era informado sobre os objetivos do trabalho e os procedimentos necessários para a realização da coleta. 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 e diagnóstico clínico da criança eram obtidos junto

ao médico responsável pelo atendimento, ou através das fichas de atendimento e revisão dos prontuários.

3.2.3 Dados de pluviometria

A média mensal do índice pluviométrico na cidade de Fortaleza foi obtida através da Fundação Cearense de Meteorologia (FUNCEME).

3.3 Processamento do material clínico

No máximo 24 horas após a coleta, o aspirado de nasofaringe era transferido em um tubo de centrífuga de poliestireno com capacidade de 15 mL, contendo 2 mL de Meio Essencial Mínimo com sais de Earle (MEM-E), adicionado de penicilina-estreptomicina (10.000U/mL de penicilina e 10.000µg/mL de estreptomicina), L-glutamina a 2% e bicarbonato de sódio a 7,5%. A seguir, a amostra era homogeneizada por meio de movimentos de aspiração e ejeção, com pipeta Pasteur acoplada a uma pêra de borracha, para facilitar a quebra do muco e permitir a liberação das células presentes na secreção. Uma alíquota de aproximadamente 1 mL do material diluído era, então, colocada em criotubos para ser armazenada em “freezer” a -70°C para estudos posteriores. O conteúdo restante do material diluído era centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante era armazenado em “freezer” a -70°C, para estudos posteriores. O sedimento era diluído em tampão salina fosfato (PBS), em volume variável de acordo com o volume do sedimento e distribuído em três lâminas de imunofluorescência, sendo uma para triagem de casos positivos e negativos, outra para identificação do vírus em casos considerados positivos pela triagem, e uma de reserva (AnexoV- A). A secagem das lâminas ocorria na estufa a 37°C, e a fixação era feita com acetona a 4°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 pesquisa de sete vírus respiratórios

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

Na lâmina de triagem, eram adicionados em um dos poços 13 µL de um “pool” de anticorpos monoclonais contra todos os vírus identificados pelo “kit”, e, em outro, 13 µL de anticorpo de camundongo normal, que servia como controle negativo da reação. As lâminas

eram incubadas em câmara úmida, a 37°C, por 30 minutos. Em seguida, elas eram lavadas com PBS-Tween por cinco minutos, e submetidas à secagem na estufa. O segundo anticorpo (anticorpo de cabra anti-IgG de camundongo conjugado à fluoresceína) era, então, adicionado a cada orifício. As lâminas eram novamente incubadas em câmara úmida a 37°C por 30 minutos e, em seguida, lavadas em PBS-Tween por cinco minutos em local protegido da luz. Após a secagem das lâminas em estufa, era adicionado o óleo de montagem e as lâminas eram recobertas com lamínulas e observadas em um microscópio de imunofluorescência da marca Olympus, modelo BX-41 (Anexo V-B). Considerava-se como resultado positivo a presença de fluorescência no citoplasma ou núcleo das células do aparelho respiratório.

As amostras positivas na etapa de triagem eram submetidas a uma nova IFI, para a identificação específica do vírus respiratório presente na amostra. Nessa etapa, utilizava-se uma das lâminas específicas, adicionando-se, em cada um dos poços, 13 µL de anticorpos monoclonais específicos contra cada um dos sete vírus pesquisados. No oitavo poço da lâmina, era realizado o controle negativo da reação, com anticorpo de camundongo normal. A metodologia utilizada seguia as mesmas fases descritas na etapa de triagem. As amostras eram, então, consideradas positivas quando apresentassem células epiteliais com fluorescência intracitoplasmática e ou nuclear no orifício onde foram adicionados os anticorpos monoclonais correspondentes (Anexo V-C).

3.5 Reação de imunofluorescência indireta (IFI) para detecção do MPVh

Para a detecção do MPVh, as amostras eram novamente submetidas à reação de IFI. Para isso, eram utilizadas as lâminas reservas que estavam estocadas a -20°C. Adicionava-se 8 µL do anticorpo monoclonal de camundongo anti-MPVh da Chemicon na diluição de 1:80. As lâminas eram incubadas em câmara úmida, a 37°C, por 30 minutos, em seguida, elas eram lavadas com PBS-Tween por cinco minutos, e submetidas à secagem na estufa. Posteriormente, 8 µL do segundo anticorpo (anticorpo de coelho anti-IgG de camundongo conjugado à fluoresceína - Chemicon) na diluição de 1:40 com 0,001% de Azul de Evans era, então, adicionado ao orifício. As lâminas eram novamente incubadas em câmara úmida a 37°C por 30 minutos e, em seguida, lavadas em PBS-Tween por cinco minutos em local protegido da luz. Após a secagem das lâminas em estufa, era adicionado o óleo de montagem e as lâminas eram recobertas com lamínulas e observadas em um microscópio de imunofluorescência da marca Olympus, modelo BX-41 (Anexo VI-B). Amostras eram consideradas apropriadas se houvesse pelo menos 100 células epiteliais por spot. A presença de fluorescência no citoplasma de pelo menos uma célula foi definida como resultado positivo (figura 6).

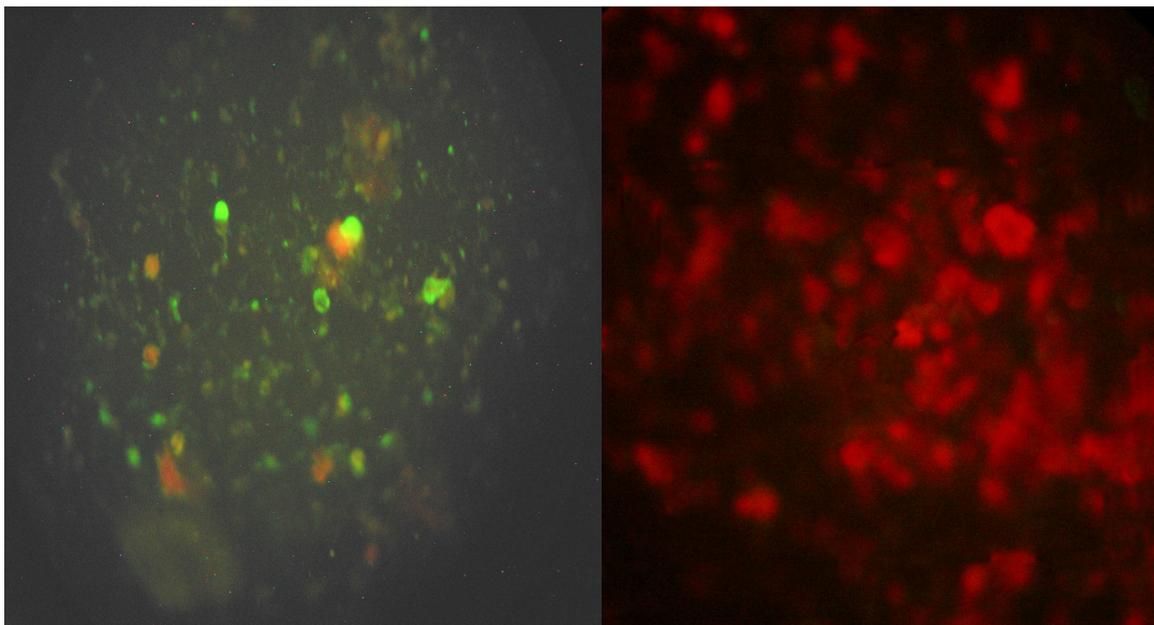


FIGURA 6 – Amostras positivas (à esquerda) e negativas (à direita) para antígenos MPVh pela técnica de IFI.

3.5.1 Controle positivo e controle negativo da reação de IFI para detecção de MPVh

Células LLC-MK2 gentilmente doadas pela Dra. Divina Aparecida Oliveira Queiroz inoculadas com amostras clínicas de pacientes infectados por MPVh (determinação por RT-PCR) e células LLC-MK2 não inoculadas foram utilizadas como controle positivo e controle negativo para as reações de IFI para MPVh. Células LLC-MK2 inoculadas com amostras positivas de pacientes infectados por MPVh foram acompanhadas por até 17 dias após a inoculação da amostra clínica, período onde foi evidenciado a presença de ECP do MPVh, a formação de sincício em diversos campos da monocamada. A evidenciação desse efeito levou a raspagem da monocamada, após a retirada do meio nutritivo de células. As células da monocamada foram utilizadas para preparação de lâminas e usadas como controle positivo. Como controle negativo foram utilizadas células LLC-MK2 não inoculadas seguidas por 21 dias, quando então eram raspadas e processadas para preparação de lâminas e usadas como controle negativo. O uso de lâmina de controle positivo e negativo era feito para cada 12 amostras a serem testadas para presença de MPVh (Anexo VI-A).

3.6 Análise estatística dos dados

Para fins de análise estatística, foram definidos como casos positivos para MPVh aqueles onde apenas esse vírus foi detectado e aqueles onde observou-se co-infecção de MPVh com o vírus parainfluenza 3 devido ao reduzido número de casos dessa co-infecção.

Também com essa finalidade, foram definidos como co-infecção apenas os casos onde foram detectados MPVh e VSR.

Foram aplicados testes comparativos entre o grupo de pacientes positivos para MPVh, o grupo de pacientes negativos para os diversos vírus pesquisados e os grupos de pacientes positivos para os seguintes vírus: VSR, adenovírus, influenza A e B, parainfluenza 1 e 3 e infecção simultânea entre VSR e MPVh. Foram utilizados: em relação às variáveis qualitativas, o teste Qui-quadrado de Pearson, para comparação dos casos positivos em uma análise geral e o teste Exato de Fisher, para a comparação dos casos positivos de MPVh e os demais casos positivos ou com o grupo de negativos para os vírus analisados e em relação às variáveis quantitativas, ANOVA, para comparação dos casos positivos em uma análise geral e o teste t-Student, para a comparação dos casos positivos de MPVh e os demais casos positivos ou com o grupo de negativos para os vírus analisados. Para mensurar a correlação de monotonicidade entre variáveis quantitativas foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Foram considerados significativos valores de p menores que 0,05.

3.7 Questões éticas

Este estudo recebeu parecer favorável do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do HIAS em 29 de maio de 2007 (Ofício nº 18/07), e é complementar a estudo anterior, que recebeu parecer favorável do CEP em 27 de março de 2006 (Ofício nº 42/06) (Anexo III).

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização da população estudada

Durante o período de realização desse estudo, isto é, de janeiro de 2006 a dezembro de 2007 foram incluídas 1276 crianças na população de estudo. Em relação ao dois anos de estudo, 653 (51,17%) crianças foram atendidas no HIAS durante o ano de 2006 e 623 (48,82%) no ano de 2007.

Com relação ao setor de atendimento dos pacientes, 1145 crianças (89,94%) foram atendidas na emergência (pronto-atendimento), 36 (2,82%) na sala de observação e 92 (7,22%) nas enfermarias ou UTIs (figura 7). Em três fichas, não havia a informação sobre o setor de atendimento dos pacientes.

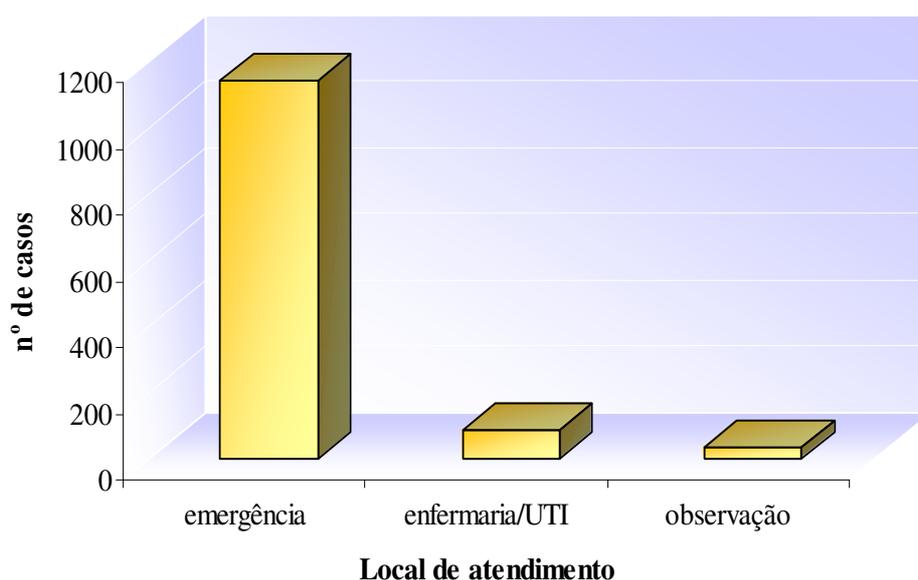


FIGURA 7 – Distribuição da população do estudo de acordo com o setor de atendimento.

Em relação ao sexo dos pacientes, foi observada uma predominância de crianças do sexo masculino (56,1%) em relação às do sexo feminino. Esta informação não estava disponível em três fichas. Utilizando-se o teste Qui-quadrado de Pearson, observamos que o percentual de pacientes do sexo masculino foi significativamente superior ao percentual dos pacientes do sexo feminino ($p = 0,0000$).

Com relação à faixa etária dos pacientes, a idade mínima observada foi de um dia e a máxima de 204 meses. A faixa etária predominante da população de estudo foi de 7 a 12 meses de idade (30,47%). A idade média para as crianças do sexo masculino foi de 21 meses, e para as do sexo feminino, de 24 meses. Utilizando-se o teste t-Student, podemos observar

que não houve diferença, estatisticamente significativa, nas idades das crianças quando comparado entre os sexos ($p=0,0762$) (figura 8).

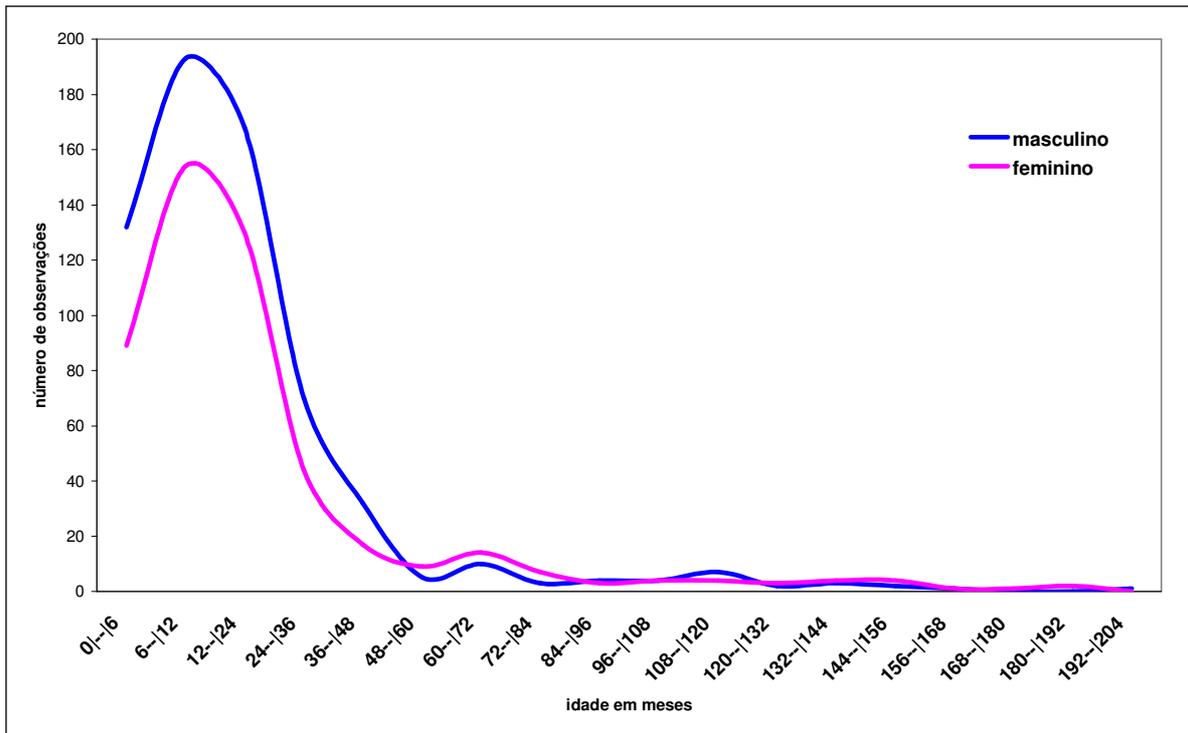


FIGURA 8 – Distribuição da população por idade e sexo.

Com relação à procedência dos pacientes, 1128 crianças (89,5%) moravam em Fortaleza, e 133 crianças (10,5%) procediam de outras cidades. Esta informação não estava disponível em 15 fichas.

A informação sobre se a criança freqüentava creche ou escola estava disponível em 1259 casos. A maioria das crianças incluídas no estudo (78,39%) não freqüentava creche nem escola.

Um total de 1108 crianças incluídas no estudo foi amamentada (88,49%), mas apenas 43,13% delas foram amamentadas por seis meses ou mais. Cerca de 31% das crianças mamaram por menos de seis meses e aproximadamente 11% não mamaram. Esta informação não estava disponível em 24 fichas.

Quanto à situação vacinal, a maioria das crianças do estudo estava com a vacinação em dia (91,35%). Esta informação não estava disponível em 39 fichas.

Com relação à presença de co-morbidades, 68,49% das crianças eram previamente saudáveis, isto é, não apresentavam doenças de base. Entre as co-morbidades observadas, as mais freqüentes foram: asma (158 casos), prematuridade (130 casos), cardiopatia (22 casos),

doença neurológica (15 casos), doença do refluxo gastro-esofágico (12 casos), pneumopatia (6 casos) e imunossupressão (3 casos).

Os sintomas e sinais de IRA mais frequentemente relatados foram: tosse (presente em 92,47% dos casos), coriza (87,46%), febre (78,05%), obstrução nasal (75,54%) e dispnéia (66,61%). Esses e outros sintomas e sinais de IRA manifestados pelas crianças incluídas no estudo são apresentados na figura 9.

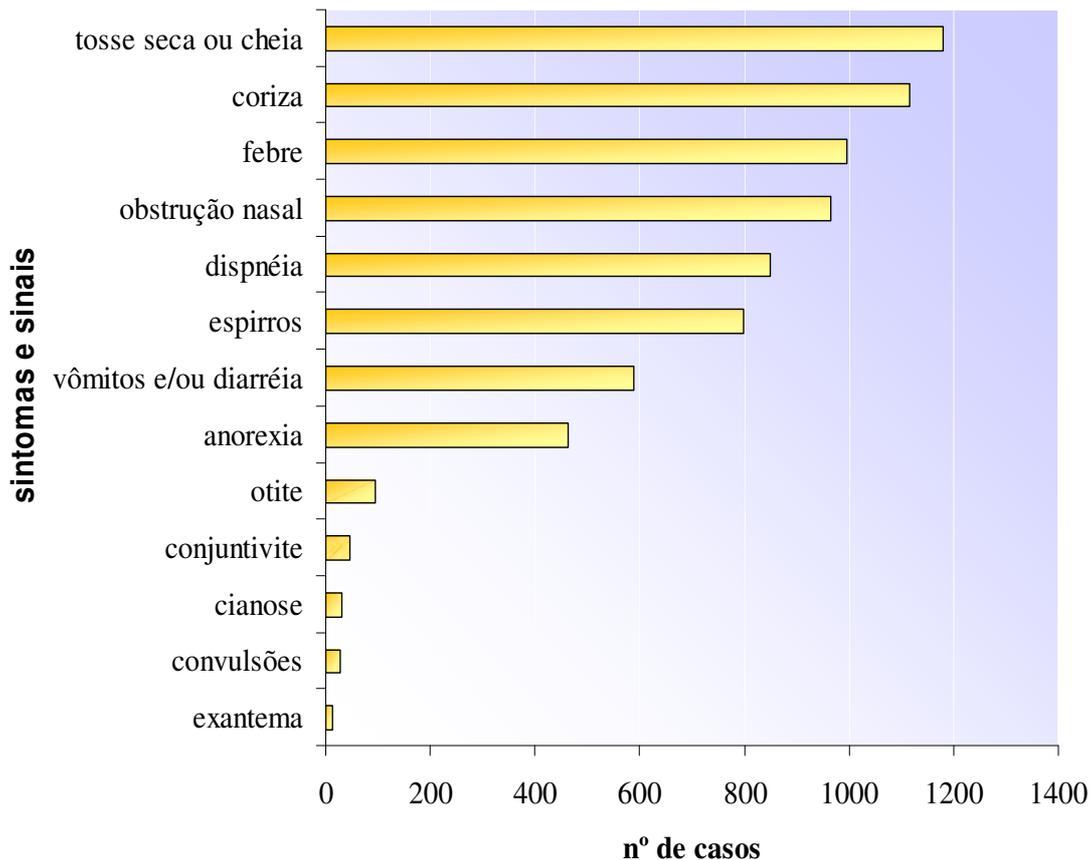


FIGURA 9 – Frequência de sinais e sintomas associados a infecções respiratórias agudas na população de estudo.

4.2 Frequência das IRAs virais

Das 1276 amostras coletadas durante o período de estudo, 380 (29,78%) foram positivas para pelo menos um dos vírus pesquisados. Na tabela 1 são apresentados o total de casos relacionados a cada vírus analisado e o percentual relativo dentro da população de estudo bem como o percentual encontrado quando considerados somente os casos positivos para vírus. Nenhum caso de infecção pelo vírus parainfluenza 2 foi detectado no período de estudo. O MPVh foi, portanto, o segundo vírus mais detectado nos dois anos de estudo, sempre após o VSR.

TABELA 1 – Total de casos de infecções respiratórias agudas causadas pelos vírus pesquisados e o percentual dessas infecções na população do estudo e entre os vírus pesquisados.

| Vírus | n | % população total | % casos positivos |
|-----------------|-----|-------------------|-------------------|
| VSR | 159 | 12,46 | 42,62 |
| MPVh | 111 | 8,69 | 29,75 |
| Influenza A | 49 | 3,84 | 13,13 |
| Parainfluenza 3 | 35 | 2,74 | 9,38 |
| Adenovírus | 08 | 0,62 | 2,14 |
| Influenza B | 07 | 0,54 | 1,87 |
| Parainfluenza 1 | 04 | 0,31 | 1,07 |
| TOTAL | 373 | 100 | 100 |

Vírus sincicial respiratório (VSR); metapneumovírus humano (MPVh).

4.3 As co-infecções entre MPVh e outros vírus

O MPVh esteve presente em associação com outros vírus em 10 casos, sendo sete casos com VSR e três casos com o vírus parainfluenza 3.

4.4 Características epidemiológicas das IRAs por MPVh

4.4.1 Distribuição mensal das IRAs por MPVh

Casos de infecção pelo MPVh foram observados de abril a dezembro de 2006 e, de janeiro a dezembro de 2007. A análise da distribuição temporal de infecções por MPVh mostrou que, em 2006, a maioria do número de casos dessas infecções (66,6%) foi observada nos meses de abril, maio e junho. Já em 2007, o MPVh foi detectado durante todos os meses do ano com pequenas variações de quantidade nos diversos meses. A distribuição mensal dos casos de infecções por MPVh no período de estudo é apresentada na Figura 10.

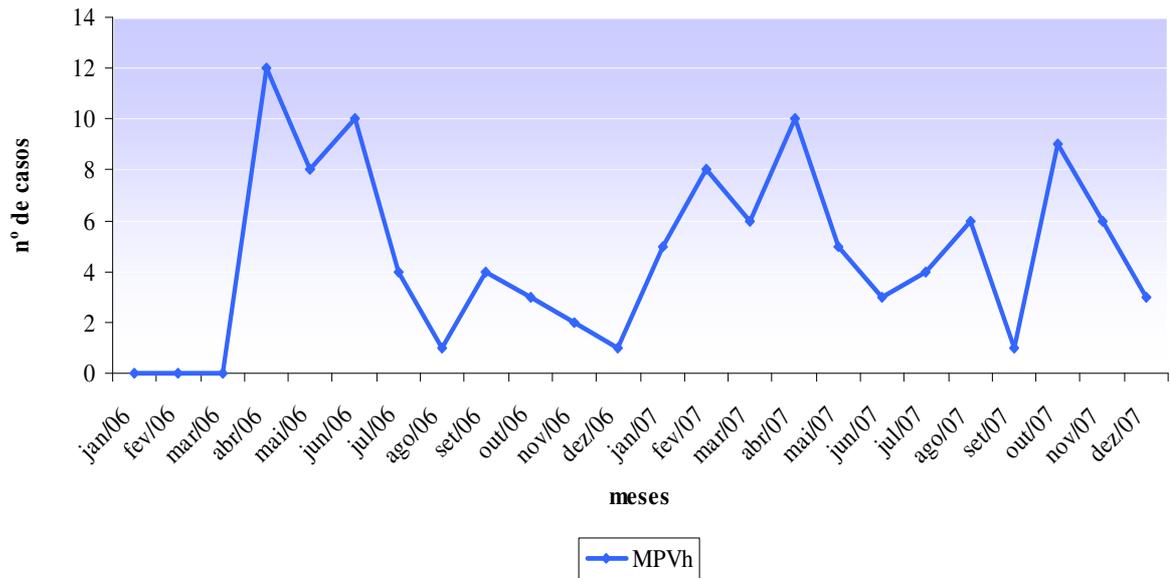


FIGURA 10 – Distribuição mensal dos casos de infecção respiratória por metapneumovírus humano (MPVh) em crianças atendidas no Hospital Infantil Albert Sabin durante o período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007.

4.4.2 Correlação dos casos positivos para o MPVh com os casos totais de IRAs e com os casos positivos para os outros vírus pesquisados

Utilizando o coeficiente de correlação de Spearman, foi observada uma correlação positiva entre a frequência de casos positivos para MPVh e o total de IRA do estudo ($p=0,0218$), ou seja, um aumento da frequência de casos positivos para MPVh acompanhando o aumento do número total de casos de IRA (figura 11).

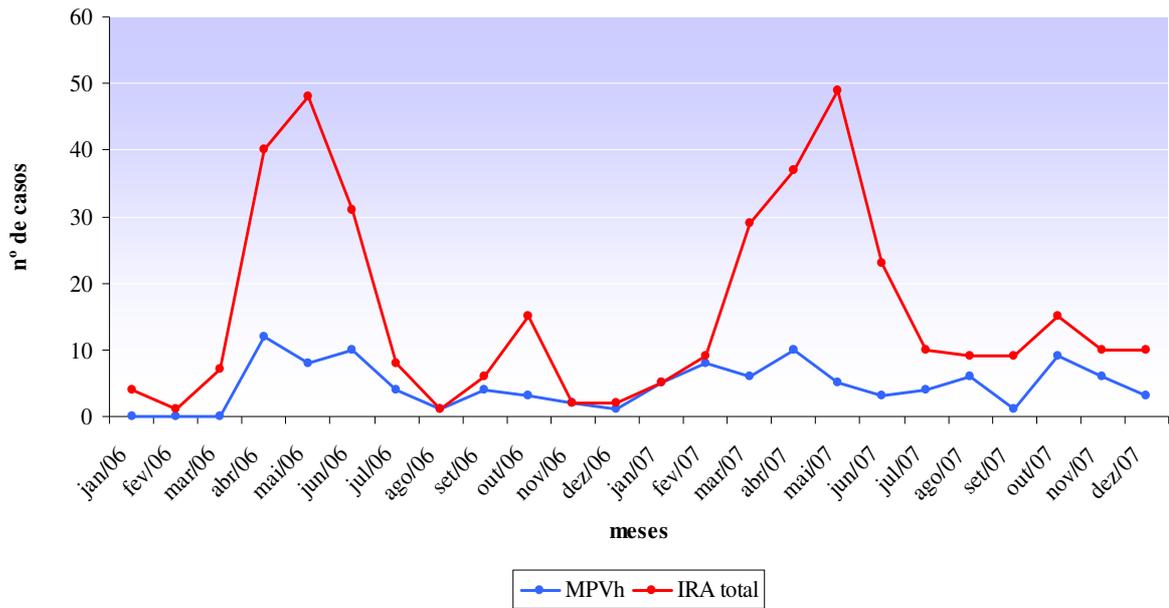


FIGURA 11 – Distribuição mensal das infecções respiratórias por metapneumovírus humano (MPVh) e o total de casos de infecções respiratórias (IRA) em crianças atendidas no Hospital Infantil Albert Sabin durante o período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007.

Também foi feita a comparação entre as freqüências mensais de casos positivos para MPVh e os casos negativos, bem como para os outros vírus investigados por meio do coeficiente de correlação de Spearman. Observou-se uma correlação positiva entre a freqüência de casos positivos para MPVh e casos positivos por VSR ($p=0,0103$) e co-infecção entre VSR e MPVh ($p=0,0479$), não havendo relação significativa com o total de casos negativos ($p=0,3172$), assim como os demais casos analisados (figura 12).

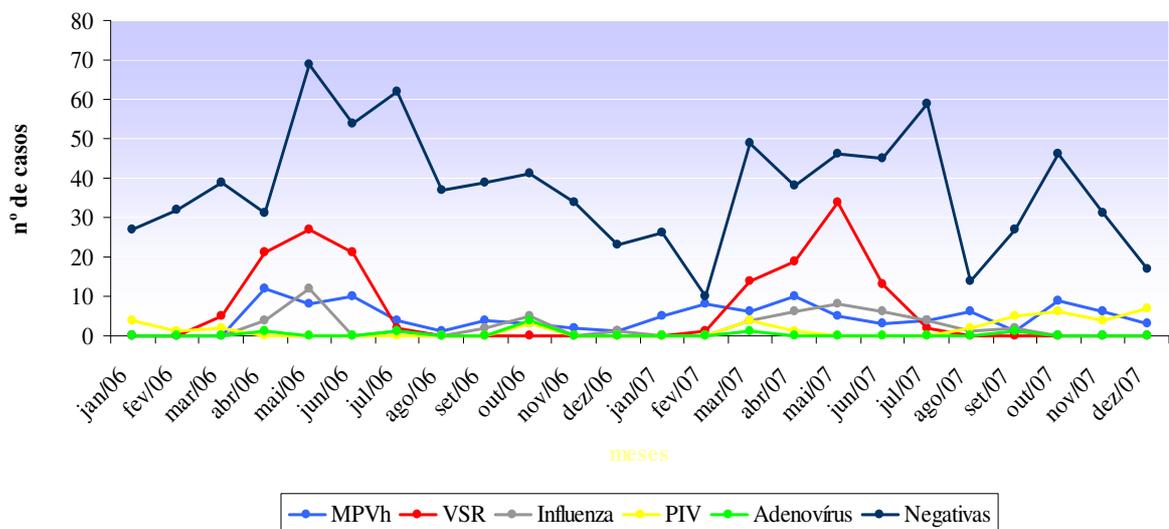


FIGURA 12 – Distribuição dos casos de infecção respiratória aguda causados pelo metapneumovírus humano (MPVh), vírus sincicial respiratório (VSR), influenza, adenovírus,

vírus parainfluenza (PIV) e de casos negativos para todos os vírus pesquisados na população de estudo durante o período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007.

4.4.3 Relação entre as infecções por MPVh e os índices pluviométricos

Foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearmann para testar a relação entre os índices pluviométricos na cidade de Fortaleza e o número total de casos de IRA, sendo verificada uma correlação positiva estatisticamente significativa ($p=0,0033$). Assim, podemos verificar que houve uma associação entre o período chuvoso e o aumento da frequência de casos de IRA. Contudo, não foi observada correlação positiva entre os índices pluviométricos e o número de casos positivos para MPVh ($p=0,0570$). A Figura 13 mostra a distribuição do total de casos de IRA, dos casos de MPVh e dos índices pluviométricos em Fortaleza.

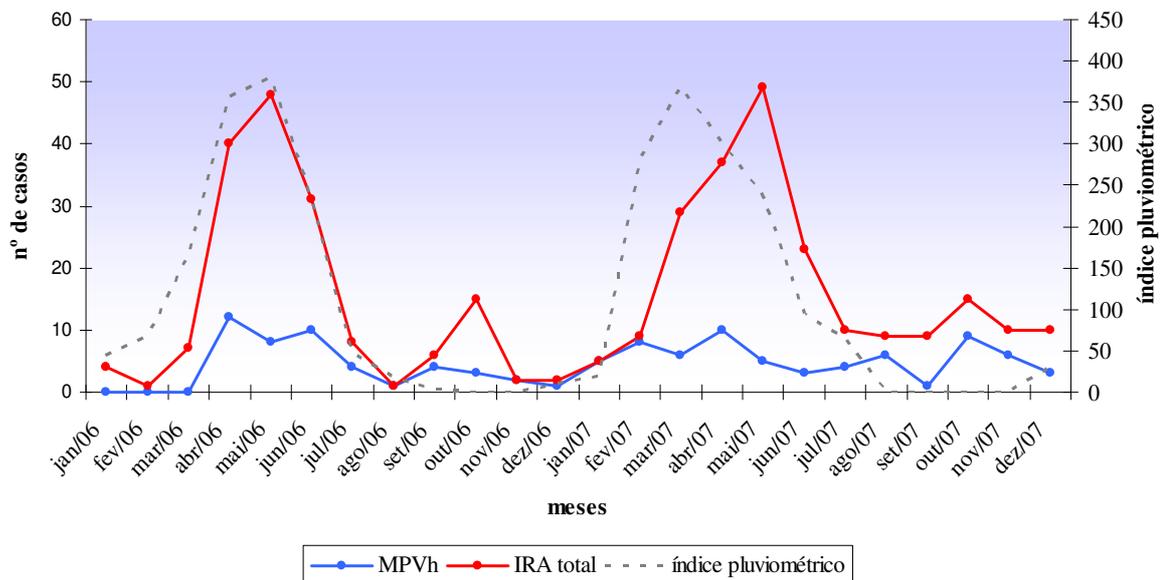


FIGURA 13 – Distribuição mensal dos casos de infecção respiratória aguda (IRA) na população total de estudo, nas crianças infectadas por metapneumovírus humano (MPVh) e dos índices pluviométricos durante o período de janeiro de 2006 a dezembro de 2007.

Na análise estatística dos dados a seguir, foram realizadas comparações entre os casos positivos para MPVh e os casos negativos para os vírus pesquisados. Também foram feitas comparações entre os casos positivos para MPVh e os casos positivos para VSR, influenza A, influenza B, adenovírus, parainfluenza 1, parainfluenza 3 e para a infecção simultânea por MPVh e VSR.

4.4.4 Sexo

Houve mais infecções pelo MPVh em crianças do sexo masculino (60,9%) do que em crianças do sexo feminino (39,1%). Contudo, utilizando o teste Qui-quadrado de Pearson, nenhuma relação estatisticamente significativa foi encontrada quando se comparou os casos negativos e os casos positivos para os diversos vírus pesquisados em relação ao sexo dos pacientes ($p=0,9092$) (tabela 2).

TABELA 2 – Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação ao sexo.

| Vírus | Masculino | | Feminino | | Total |
|----------------------|-----------|------|----------|------|-------|
| | n | % | n | % | |
| MPVh | 67 | 60,9 | 43 | 39,1 | 110 |
| Negativos | 497 | 55,6 | 397 | 44,4 | 894 |
| VSR | 89 | 56 | 70 | 44 | 159 |
| Adenovírus | 6 | 75 | 2 | 25 | 8 |
| Influenza A | 26 | 53,1 | 23 | 46,9 | 49 |
| Influenza B | 4 | 57,1 | 3 | 42,9 | 7 |
| Parainfluenza 1 | 3 | 75 | 1 | 25 | 4 |
| Parainfluenza 3 | 18 | 51,4 | 17 | 48,6 | 35 |
| Co-infecção VSR-MPVh | 4 | 57,1 | 3 | 42,9 | 7 |
| Total | 714 | 56,1 | 559 | 43,9 | 1273 |

Vírus sincicial respiratório (VSR); metapneumovírus humano (MPVh).

4.4.5 Idade

O MPVh foi detectado em pacientes com idade mínima de um dia e máxima de 192 meses, havendo um predomínio de crianças entre 7 a 12 meses, que corresponderam a 32,65% dos pacientes. Utilizando-se o teste t-Student para comparação de médias, observou-se que a idade média dos pacientes positivos para o MPVh (27 meses) foi significativamente superior à idade média dos pacientes positivos para VSR (15 meses) ($p=0,0017$), adenovírus (14 meses) ($p=0,0033$) e parainfluenza 3 (18 meses) ($p=0,0298$). Não foi observada diferença, estatisticamente significativa, entre as idades dos casos positivos para MPVh e os demais grupos analisados ($p=0,2190$) (tabela 3).

TABELA 3 – Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação à idade em meses.

| Vírus | N | mediana | mínimo | máximo | p-value |
|----------------------|-----|---------|--------|--------|---------|
| MPVh | 111 | 12 | 1 | 192 | -- |
| Negativos | 896 | 14 | 0 | 192 | 0,2190 |
| VSR | 159 | 11,5 | 5 | 132 | 0,0017 |
| Adenovírus | 8 | 10 | 7 | 24 | 0,0033 |
| Influenza A | 49 | 12 | 2 | 204 | 0,7405 |
| Influenza B | 7 | 14 | 3 | 108 | 0,7017 |
| Parainfluenza 1 | 4 | 24 | 24 | 44 | 0,8825 |
| Parainfluenza 3 | 35 | 13,5 | 1 | 48 | 0,0298 |
| Co-infecção VSR-MPVh | 7 | 15 | 1 | 36 | 0,3927 |

Vírus sincicial respiratório (VSR); metapneumovírus humano (MPVh).

4.4.6 Setor de atendimento dos pacientes

Com relação ao setor de atendimento, a maioria dos pacientes positivos para MPVh (89,2%) foi atendida na emergência. Utilizando o teste Qui-quadrado de Pearson, não observamos correlação, estatisticamente significativa, entre o grupo de pacientes positivos para MPVh e os demais grupos analisados em relação a essa variável ($p=0,7444$) (tabela 4).

TABELA 4 – Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação ao setor de atendimento.

| Vírus | Emergência | | Observação | | Enfermaria / UTI | | total |
|-----------------|------------|------|------------|-----|------------------|------|-------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| MPVh | 99 | 89,2 | 2 | 1,8 | 10 | 9,0 | 111 |
| Negativos | 798 | 89,4 | 25 | 2,8 | 70 | 7,8 | 893 |
| VSR | 145 | 91,2 | 7 | 4,4 | 7 | 4,4 | 159 |
| Adenovírus | 8 | 100 | -- | -- | -- | -- | 8 |
| Influenza A | 45 | 91,8 | 2 | 4,1 | 2 | 4,1 | 49 |
| Influenza B | 7 | 100 | -- | -- | -- | -- | 7 |
| Parainfluenza 1 | 3 | 75 | -- | -- | 1 | 25 | 4 |
| Parainfluenza 3 | 34 | 97,1 | -- | -- | 1 | 2,9 | 35 |
| Co-infecção | 6 | 85,7 | -- | -- | 1 | 14,3 | 7 |
| VSR-MPVh | | | | | | | |
| Total | 1145 | 89,9 | 36 | 2,8 | 92 | 7,2 | 1273 |

*Vírus sincicial respiratório (VSR); metapneumovírus humano (MPVh).

4.4.7 Fatores de risco e co-morbidades

A maioria das crianças infectadas por MPVh (73 pacientes; 65,76%) eram previamente saudáveis, isto é, sem co-morbidades. Entre as co-morbidades observadas, as mais frequentes foram: prematuridade (12 casos), asma (8 casos), doença neurológica (4 casos), cardiopatia (2 casos), pneumopatia (2 casos), imunossupressão (1 caso) e doença do refluxo gastro-esofágico (1 caso). Utilizando o teste Exato de Fisher, foi evidenciado um maior número de casos de pacientes positivos para MPVh com doença neurológica em relação aos pacientes negativos para os demais vírus pesquisados, não havendo diferença significativa nas demais comparações ($p=0,0250$).

Não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa entre os percentuais de casos positivos para MPVh e os diversos grupos analisados, com relação aos seguintes fatores de risco pesquisados: aglomeração familiar ($p=0,6574$), frequência à creche / escola ($p=0,2109$), ausência de aleitamento materno ($p=0,1114$), presença de IRA na família ($p=0,0970$) e fumantes no domicílio ($p=0,6515$).

4.5 Características clínicas das IRAs por MPVh

4.5.1 Síndromes clínicas

As IVAS constituíram a síndrome clínica mais frequentemente diagnosticada (53,2%) nos pacientes positivos para MPVh. Os diagnósticos clínicos de asma, pneumonia, bronquiolite e bronquite também foram identificados nesses pacientes, embora em menor percentual. A tabela 5 mostra a comparação das amostras positivas para o MPVh com as negativas e com as positivas para os demais vírus em relação à presença do diagnóstico de IVAS.

Utilizando-se o teste Exato de Fisher observou-se uma maior presença de IVAS nos pacientes positivos para MPVh quando comparados com os pacientes positivos para VSR ($p=0,0331$). Não foi observada diferença, estatisticamente significativa, entre os pacientes positivos para MPVh e os diversos grupos analisados.

TABELA 5 – Número total e percentual de casos de infecção de vias aéreas superiores causadas pelo metapneumovírus humano ou por outros vírus, em relação aos outros diagnósticos estabelecidos.

| Vírus | Diagnóstico de IVAS | | Outros diagnósticos | | Total |
|-----------------|---------------------|-------|---------------------|-------|-------|
| | n | % | n | % | |
| MPVh | 58 | 53,2 | 51 | 46,78 | 109 |
| Negativos | 479 | 54,6 | 399 | 45,44 | 878 |
| VSR | 62 | 39,5 | 95 | 60,5 | 157 |
| Adenovírus | 4 | 50 | 4 | 50,0 | 8 |
| Influenza A | 28 | 57,1 | 21 | 42,85 | 49 |
| Influenza B | 3 | 42,9 | 4 | 57,14 | 7 |
| Parainfluenza 1 | 2 | 50 | 2 | 50,0 | 4 |
| Parainfluenza 3 | 17 | 51,5 | 16 | 48,48 | 33 |
| Co-infecção | 3 | 42,9 | 4 | 57,14 | 7 |
| VSR-MPVh | | | | | |
| Total | 656 | 52,4% | 596 | 47,6 | 1252 |

*Vírus sincicial respiratório (VSR); metapneumovírus humano (MPVh); Infecções de vias aéreas superiores (IVAS).

Em relação às IVAI, foi evidenciada diferença estatisticamente significativa na comparação entre MPVh e VSR com relação a presença de bronquiolite, sendo observada

uma menor presença desse diagnóstico nos casos positivos para MPVh do que nos casos positivos para VSR ($p=0,0401$). Nos demais diagnósticos de IVAI, não foram observadas diferenças, estatisticamente significativas, entre o grupo de pacientes positivos para MPVh e os demais grupos analisados (tabela 6).

TABELA 6 - Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação à presença do diagnóstico de infecções de vias aéreas inferiores.

| Vírus | Bronquiolite | Pneumonia | Asma | Bronquite | LTB | total |
|-----------------|--------------|-----------|------|-----------|-----|-------|
| MPVh | 6 | 17 | 21 | 5 | -- | 49 |
| Negativos | 70 | 141 | 168 | 13 | 1 | 393 |
| VSR | 21 | 27 | 45 | 1 | -- | 94 |
| Adenovírus | 1 | 1 | 1 | -- | -- | 3 |
| Influenza A | 4 | 5 | 9 | 3 | -- | 21 |
| Influenza B | -- | 2 | 2 | -- | -- | 4 |
| Parainfluenza 1 | -- | -- | 1 | -- | 1 | 2 |
| Parainfluenza 3 | 2 | 7 | 5 | -- | 1 | 15 |
| Co-infecção | 2 | 2 | -- | -- | -- | 4 |
| VSR-MPVh | | | | | | |
| Total | 106 | 202 | 252 | 22 | 3 | 585 |

Vírus sincicial respiratório (VSR); metapneumovírus humano (MPVh); Laringotraqueobronquite (LTB).

4.5.2 Sintomas e sinais

Os principais sinais e sintomas apresentados pelos pacientes infectados por MPVh foram: tosse (90,9%), coriza (85%), febre (77,5%), obstrução nasal (73,0%) e dispnéia (63,1%). Outros sintomas como: espirros, anorexia, vômitos, diarreia, otite, cianose, conjuntivite, convulsões e exantema também foram identificados em menor percentual conforme demonstrado na figura 14.

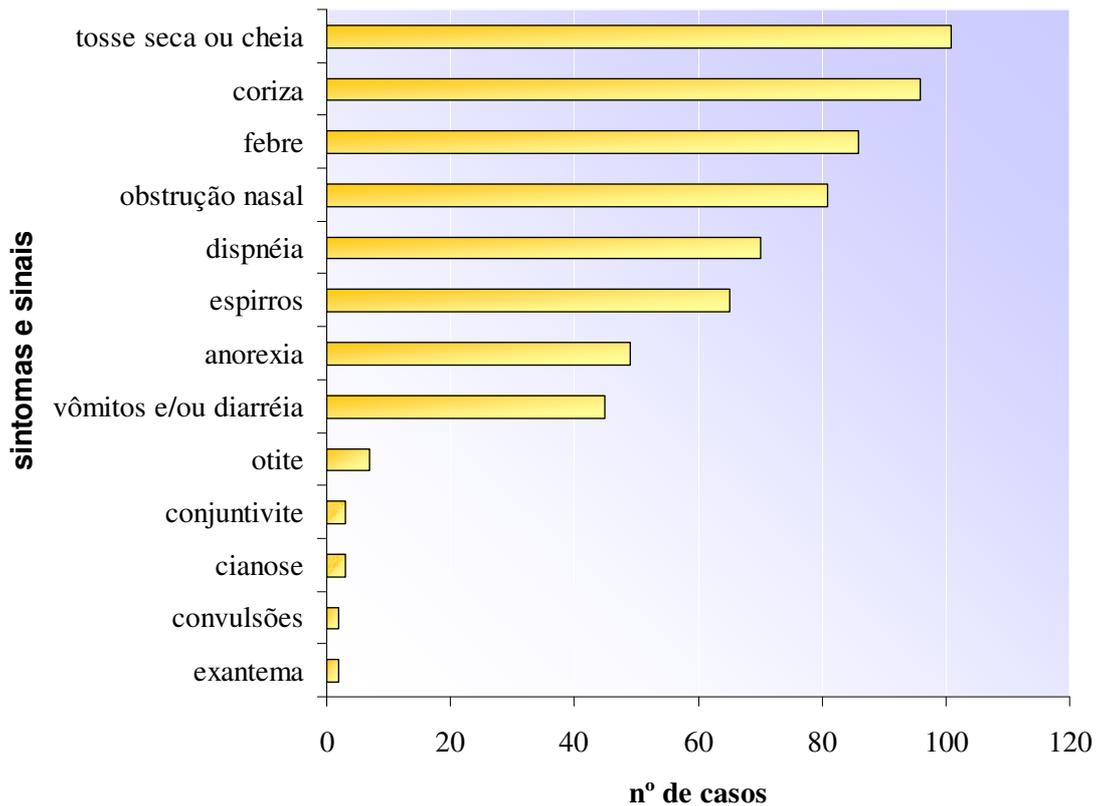


FIGURA 14 – Frequência de sinais e sintomas associados a infecções respiratórias agudas causadas pelo metapneumovírus humano.

Ao utilizar o teste Exato de Fisher, observou-se uma menor presença de conjuntivite nos pacientes positivos para MPVh quando comparados com os pacientes positivos para adenovírus ($p=0,0359$) e para o vírus parainfluenza 3 ($p=0,0196$).

Utilizando-se o teste Qui-quadrado de Pearson, não foram observadas diferenças, estatisticamente significativas, entre os percentuais de casos positivos para MPVh e os demais casos analisados, com relação aos seguintes sinais e sintomas pesquisados: coriza ($p=0,3854$), espirros ($p=0,3559$), tosse ($p=0,0530$), dispnéia ($p=0,0883$), febre ($p=0,1186$), otite ($p=0,6699$), vômitos e/ou diarreia ($p=0,0857$), convulsões ($p=0,3472$), exantema ($p=0,9770$).

4.5.3 Alterações ao exame físico

Em relação à ausculta pulmonar, os pacientes infectados pelo MPVh em sua maioria (54,8%) apresentaram sibilos e/ou roncosp na ausculta pulmonar. Já a presença de tiragem foi observada em 20,7% desses pacientes.

Observou-se, pelo teste Exato de Fisher, uma menor presença de tiragem nos pacientes positivos para MPVh em relação aos pacientes positivos para o vírus parainfluenza 3 ($p=0,0022$), não havendo diferença significativa nos demais casos.

Utilizando o teste Qui-quadrado de Pearson, podemos dizer que a ausculta pulmonar de pacientes positivos para MPVh não mostrou diferença estatística significativa daquela observada em pacientes negativos e pacientes positivos para os outros vírus pesquisados ($p=0,2915$) (tabela 7).

TABELA 7 – Achados a ausculta pulmonar das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados.

| Vírus | Ausculta | | Alt. 1 | | Alt.2 | | Alt.3 | | Outros | |
|-----------------|----------|------|--------|------|-------|------|-------|------|--------|-----|
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| MPVh | 32 | 30 | 57 | 54,8 | 8 | 7,7 | 6 | 5,8 | 1 | 1 |
| Negativos | 250 | 29 | 473 | 54,9 | 48 | 5,6 | 77 | 8,9 | 14 | 1,6 |
| VSR | 33 | 21 | 89 | 56,7 | 19 | 12,1 | 16 | 10,2 | -- | -- |
| Adenovírus | 2 | 28,6 | 5 | 71,4 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| Influenza A | 19 | 39,6 | 24 | 50 | 1 | 2,1 | 3 | 6,3 | 1 | 2,1 |
| Influenza B | 3 | 50 | 3 | 50 | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| Parainfluenza 1 | 1 | 25 | 2 | 50 | -- | -- | 1 | 25 | -- | -- |
| Parainfluenza 3 | 6 | 18,8 | 21 | 65, | 1 | 3,1 | 4 | 12,5 | -- | -- |
| co-infecção | 1 | 14,3 | 4 | 57,1 | 2 | 28,6 | -- | -- | -- | -- |
| VSR-MPVh | | | | | | | | | | |
| Total | 347 | 28,3 | 678 | 55,3 | 79 | 6,4 | 107 | 8,7 | 16 | 1,3 |

Vírus sincicial respiratório (VSR); metapneumovírus humano (MPVh); presença de sibilos e ou roncos (Alt.1); presença de estertores (Alt.2); presença de roncos e ou sibilos + estertores (Alt.3).

4.5.4 Alterações ao raio-X de tórax

A radiografia torácica não apresentou alterações em metade dos pacientes positivos para MPVh, para os quais foi solicitado esse exame. Quando presentes, as alterações mais freqüentes observadas nos pacientes infectados por esse vírus foram: infiltrado intersticial (26,1%), condensação (15,2%) e hiperinsuflação (6,5%). Utilizando-se o teste Qui-quadrado de Pearson, observou-se que não houve diferença estatisticamente com relação à presença dessas entre os pacientes positivos para MPVh e os demais grupos analisados ($p=0,9062$).

TABELA 8 - Distribuição das crianças incluídas no estudo com e sem infecção pelos vírus analisados, com relação à radiografia torácica.

| Vírus | Normal | | condensação | | infiltrado intersticial | | hiperinsuflação | | Outros | |
|-----------------|--------|------|-------------|------|-------------------------|------|-----------------|------|--------|-----|
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| MPVh | 23 | 50 | 7 | 15,2 | 12 | 26,1 | 3 | 6,5 | 1 | 2,2 |
| Negativos | 178 | 49,7 | 50 | 14 | 94 | 26,3 | 25 | 7,0 | 11 | 3,1 |
| VSR | 28 | 44,4 | 8 | 12,7 | 14 | 22,2 | 9 | 14,3 | 4 | 6,3 |
| Adenovírus | 3 | 75 | -- | -- | 1 | 25 | -- | -- | -- | -- |
| Influenza A | 13 | 65 | 1 | 5,0 | 5 | 25 | -- | -- | 1 | 5,0 |
| Influenza B | 1 | 33,3 | -- | -- | 2 | 66,7 | -- | -- | -- | -- |
| Parainfluenza 1 | 1 | 100 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| Parainfluenza 3 | 10 | 55,6 | 2 | 11,1 | 5 | 27,8 | 1 | 5,6 | -- | -- |
| co-infecção | | | | | | | | | | |
| VSR-MPVh | 2 | 40 | 2 | 40 | -- | -- | 1 | 20 | -- | -- |
| Total | 259 | 50 | 70 | 13,5 | 133 | 25,7 | 39 | 7,5 | 17 | 3,3 |

Vírus sincicial respiratório (VSR); metapneumovírus humano (MPVh).

4.5.5 Tratamento

Com relação ao tratamento instituído pelo médico foi analisado o uso de antibióticos, corticóides, aerossol e / ou salbutamol e oxigenioterapia. A maioria dos pacientes positivos para MPVh não utilizaram nem antibióticos (83,8%), nem corticóides (75,7%) para tratamento.

Com relação ao uso de aerossol e / ou salbutamol, mais da metade dos pacientes positivos para MPVh fez uso dessa terapêutica (68,5%). Utilizando-se o teste Exato de Fisher, observou-se que o percentual de pacientes positivos para MPVh que foi tratado com aerossol e / ou salbutamol foi inferior ao percentual dos pacientes positivos para VSR, sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p=0,0008$). Não foram observadas diferenças significativas nas demais comparações.

Utilizando-se o teste Qui-quadrado de Pearson verificou-se que o percentual de utilização de antibióticos pelos pacientes positivos para MPVh não apresentou diferença estatisticamente significativa dos pacientes negativos para os vírus investigados, assim como dos pacientes positivos para os vírus analisados ($p=0,4613$). Também não foi verificada

diferença estatisticamente significativa entre esses pacientes em relação ao uso de corticóides para tratamento ($p=0,0503$).

Em relação ao tratamento com oxigênio suplementar, 8 (7,2%) pacientes positivos para o MPVh utilizaram oxigenioterapia. Não foram observadas diferenças, estatisticamente significativas, entre os pacientes positivos para MPVh e os demais grupos analisados ($p=0,1662$).

5. DISCUSSÃO

Na América Latina, dados da OPAS/OMS referentes à incidência e prevalência das IRA demonstram ser esta a causa principal de consulta ambulatorial pediátrica, chegando a representar 40 a 60% dos motivos de consulta neste grupo (OPAS, 2007). O total de crianças incluídas nesse estudo ressalta a importância das IRA como problema de saúde, com impacto especial sobre a população infantil. As 1276 crianças incluídas nesses 24 meses de estudo representam, no entanto, apenas uma pequena fração do total de crianças com IRA na cidade de Fortaleza naquele período, uma vez que foram atendidas em um hospital de nível terciário, onde, através de uma triagem rigorosa, apenas pacientes com uma história que justificasse atendimento de emergência ou que necessitassem de hospitalização davam entrada pelo serviço de emergência, onde os membros da equipe desse estudo se posicionavam na maior parte do tempo da visita ao hospital. Devido a essa seleção criteriosa, a maioria dos responsáveis por crianças com IRA consideradas leves são orientados a procurar atendimento ambulatorial em postos de saúde. Outros aspectos limitantes do número de crianças incluídas no estudo em relação à frequência do “problema” investigado (IRA) foram o número de dias de coleta, que limitava-se aos dias úteis da semana e a realização da coleta durante os turnos da manhã e da tarde. A falta de pessoal para atividade em finais de semana, feriados e durante a noite justifica a periodicidade em que a coleta de amostras foi realizada. Mesmo com esses problemas operacionais, pode-se alcançar uma média mensal de inclusão de 56,5 crianças, que é bem superior aquela sugerida pelo Ministério da Saúde do Brasil que recomenda uma coleta de cinco amostras semanais por unidade sentinela (resultando em um total de 20 a 25 amostras por mês) no caso da vigilância de influenza. Sabendo-se que a vigilância de influenza em Fortaleza é realizada de fato em apenas uma unidade sentinela (o HIAS), podemos dessa forma, considerar, o número de coletas desse estudo, mais próximo da realidade da frequência em que as IRA acontecem em Fortaleza.

As IRA na infância representam um importante problema de saúde pública mundial, em virtude de sua elevada incidência observada principalmente nos países em desenvolvimento e subdesenvolvidos (WILLIAMS et al., 2002; OPAS, 2007). Estima-se que as IRA são responsáveis por cerca de dois milhões de mortes anuais em crianças, sendo a pneumonia a principal causa de morte nos primeiros cinco anos de vida (CDC, 2007). Fatores de risco como pobreza, desnutrição e poluição atmosférica estão relacionados a uma maior frequência, gravidade e tempo de duração de IRA nas crianças (CASHAT-CRUZ et al., 2005).

As taxas de mortalidade infantil por IRA têm decrescido em quase todo mundo devido à existência de estratégias e intervenções bem-sucedidas utilizadas para reduzir os danos causados pelas IRA bem como para melhorar as práticas de assistência e cuidado das crianças

que sofrem dessas doenças. Apesar do decréscimo observado na mortalidade por IRA, os valores ainda permanecem elevados em diversos países e as IRA continuam sendo um importante problema de saúde pública mundial ocupando a primeira posição como causa mais comum de morbidade e mortalidade infantil, especialmente nos primeiros anos de vida (WILLIAMS et al., 2002).

O perfil de mortalidade da população brasileira tem passado por transformações, destacando-se a queda dos óbitos infantis e a redução relativa de óbitos por doenças infecciosas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). Segundo dados fornecidos pelo DATASUS, as IRA, no Brasil, representam a quarta principal causa de morte, sendo que o país vem apresentando, de um modo geral, um declínio nas taxas de mortalidade infantil por IRA desde 1998. Dentre as regiões brasileiras, a região Sudeste e Centro-oeste apresentam a maior taxa de mortalidade infantil por IRA (59%), seguida da região Nordeste (53%), Norte (52%) e Sul (50%). Entre as capitais nordestinas, a porcentagem de óbitos por IRA é maior em Aracaju (1,79%) e menor em Maceió (0,69%). Em Fortaleza, os dados mostram que a cidade ocupa a sétima posição na taxa de mortalidade infantil por IRA (0,88%) sendo a pneumonia a principal causa de morte entre crianças (DATAUS, 2007).

Muitos casos de IRA são causados ou precipitados pelos vírus. Devido a importância dos vírus como agentes mais frequentes de IRA na infância, os estudos sobre IRA de etiologia viral tem-se tornado cada vez mais frequentes no Brasil (NASCIMENTO et al., 1991; MIYAO et al., 1999; MOTTA et al., 2000; AZEVEDO et al., 2003; RABONI et al., 2003; STRALIOTTO et al., 2004; OLIVEIRA, et al., 2004; PITREZ et al., 2005; TSUCHIYA et al., 2005; COSTA et al., 2006; MOTTA et al., 2006; ALONSO et al., 2007; BELLEI et al., 2007; COELHO et al., 2007; DEBUR et al., 2007; THOMAZELLI et al., 2007; MOURA et al., 2007). Na região Nordeste, dados sobre IRA virais eram oriundos de apenas um estudo realizado em meados da década de 80 na cidade de Fortaleza e publicado no início da década de 90 (ARRUDA et al., 1991). A partir de 2001 houve um aumento significativo de estudos sobre o tema, publicados na forma de artigos científicos, teses e dissertações, o que tem contribuído para um maior conhecimento regional das IRA virais, e de modo especial aquelas que ocorrem em crianças de Fortaleza (MOURA, 2001; MOURA et al., 2002; MOURA et al., 2003; SOUZA et al., 2003; CUEVAS et al., 2003; MOURA et al., 2004; SERAFINO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004; NUNES, 2004; MARTINS, 2005; MOURA et al., 2006; NUNES; MOURA, 2006; FÉ, 2007; MESQUITA, 2007).

O MPVh é um dos vírus respiratórios mais recentemente descobertos. Embora esse vírus cause IRA em pessoas de todas as faixas etárias, ele tem se destacado como um dos agentes mais frequentes de IRA virais na infância. Atualmente publicações sobre o MPVh

procedentes de todos os continentes estão disponíveis em grande número (CUEVAS et al., 2003; PEIRIS et al., 2003; WILLIAMS et al., 2006; MADHI et al., 2007; HEIKKINEN et al., 2008). No Brasil, apenas quatro trabalhos envolvendo o MPVh foram realizados desde a descrição desse vírus em 2001. Os dois primeiros estudos sobre o tema no Brasil, referem-se à MPVh circulantes na cidade de Aracaju e os dois últimos a MPVh circulantes em Curitiba e São Paulo (CUEVAS et al., 2003; SERAFINO et al., 2004; THOMAZELLI et al., 2007; DEBUR et al., 2007).

Apesar de não se tratar de um estudo pioneiro sobre MPVh no Brasil ou mesmo na região Nordeste, o presente estudo apresenta características que o diferenciam dos demais já publicados, o que poderá fornecer informações adicionais sobre aspectos epidemiológicos e clínicos locais desse vírus. Mesmo não podendo ser considerado um estudo de longa duração, o período de estudo analisado apresenta características que fortalecem os dados epidemiológicos nele apresentado em relação às informações de outros estudos brasileiros, pois a coleção de dados nesse estudo ocorreu durante um período de 24 meses consecutivos. Um estudo de vigilância de oito diferentes vírus respiratórios (entre eles o MPVh) em casos de IRA infantis realizado na cidade de São Paulo, apresentou dados da análise de um período de um ano (THOMAZELLI et al., 2007). Dois estudos realizados em Aracaju analisaram a participação do MPVh apenas durante dois meses do ano, e os meses escolhidos eram aqueles considerados pelos autores do trabalho como o de ocorrência do período epidêmico de VSR, um critério muito utilizado por diversos autores para limitar o período de estudo e poder obter um número razoável de casos associados ao MPVh, pois como já está bem estabelecido, esses vírus circulam simultaneamente em vários locais. Embora não existam trabalhos publicados sobre a epidemiologia do VSR naquela cidade, a interpretação de que os meses de abril e maio correspondiam ao período epidêmico de VSR foi baseada na observação de que nesse período inicia-se a estação chuvosa o que está diretamente relacionado ao período de maior ocorrência de bronquiolite (CUEVAS et al., 2003; SERAFINO et al., 2004). Por sua vez, o estudo realizado em Curitiba foi realizado com amostras clínicas coletadas apenas nos meses de março a setembro dos anos de 2000, 2001 e 2002. A seleção desses meses dentro dos três anos analisados baseou-se no conhecimento prévio de que a maioria das IRA naquela cidade ocorrem nesses meses (DEBUR et al., 2007).

Outro aspecto que diferencia esse estudo da maioria dos estudos realizados sobre MPVh e de todos já publicados sobre MPVh circulantes no Brasil é a utilização da IFI como método de identificação desse vírus nas amostras clínicas.

O percentual de infecções pelo MPVh nesse estudo (8,69%) foi considerado intermediário ao observado na maioria dos estudos citados na literatura (BOIVIN et al., 2003;

MAGGI et al., 2003; BASTIEN et al., 2003; CUEVAS et al., 2003; SERAFINO et al., 2004; MULLINS et al., 2004; LUCHSINGER et al., 2005; SEMPLE et al., 2005; NOYOLA et al., 2005; KIM et al., 2005; WOLF et al., 2006; AL-SONBOLI et al., 2006; MANOHA et al., 2007; DEBUR et al., 2007; THOMAZELLI et al., 2007). Contudo, as taxas mínimas e máximas de detecção desse vírus são de 1.5% e 59% conforme foi verificado após uma revisão ampla dos estudos já publicados (KASHIWA et al., 2004; REINA et al., 2007). As diferenças encontradas nas taxas de identificação do MPVh, assim como de outros agentes, em diversos estudos, podem ser influenciadas por uma série de fatores como: tipo de população selecionada, período de estudo e metodologias empregadas para o diagnóstico.

No presente estudo, o MPVh foi o segundo vírus respiratório mais frequentemente detectado, sendo o VSR o primeiro. Essa mesma ordem de frequência de detecção do MPVh em relação ao VSR tem sido relatada em diversos estudos (NOYOLA et al., 2005; ORDÁS et al., 2006; FOULONGNE et al., 2006; THOMAZELLI et al., 2007; MADHI et al., 2007). Contudo em alguns estudos, a detecção de MPVh tem superado a de VSR (DOLLNER et al., 2004; KASHIWA et al., 2004; KIM et al., 2005; WANG et al., 2006).

Pelo número crescente de estudos que descrevem dados de prevalência de IRA pelo MPVh torna-se cada vez mais evidente a importância desse vírus como agente dessas infecções. A inclusão do MPVh como mais um vírus a ser pesquisado em casos de IRA em crianças atendidas no HIAS levou a uma mudança na ordem de frequência dos vírus pesquisados. De 2001 a 2005, os dois vírus mais prevalentes nessas infecções eram sempre o VSR e o influenza A. Em 2006 e 2007, a segunda posição passou a ser assumida pelo MPVh.

A maioria dos estudos sobre MPVh utiliza técnicas de biologia molecular como a RT-PCR com suas variantes para sua detecção, seja na pesquisa direta em amostras clínicas ou para confirmação de isolamento viral em culturas de células (LANDRY et al., 2005; THOMAZELLI et al., 2007; HEIKKINEN et al., 2008).

Com a produção de anticorpos policlonais e monoclonais contra o MPVh, começaram a ser publicados os primeiros estudos sobre a utilização de imunofluorescência para o diagnóstico de infecções pelo MPVh. Desde 2005 existem anticorpos monoclonais (AcM) disponíveis para comercialização. Um deles é o AcM 8510 da Chemicon International (Temucula, CA) utilizado nesse estudo e o segundo é D³ MPV da Diagnostic Hybrids (Athens, OH). A princípio, a utilização de AcM na imunofluorescência nesses estudos restringia-se à confirmação de isolamento de MPVh em culturas celulares inoculadas com as amostras clínicas (ISHIGURO et al., 2005; LANDRY et al., 2005). A partir de 2005 começaram a ser publicados os artigos onde a detecção de MPVh por IFI era feita diretamente

na amostra clínica (EBIHARA et al., 2005; PERCIVALLE et al., 2005; FENWICK et al., 2007; MANOHA et al., 2008).

A imunofluorescência é um método diagnóstico, amplamente utilizado em laboratórios clínicos para diagnóstico de infecções respiratórias virais. Na realidade, em muitos laboratórios com recursos financeiros escassos, essa técnica é a única realizada com esta finalidade. Além do mais, a rapidez de execução desse método permite que o resultado da análise de amostras chegue mais rapidamente ao clínico, permitindo assim que medidas terapêuticas e profiláticas possam ser adotadas. Por sua vez, a RT-PCR também considerada um método diagnóstico rápido, pode levar até seis horas para detecção do material genético viral. A realização de imunofluorescência direta reduz consideravelmente o tempo de realização da IFI podendo ser realizada em 20 minutos. A utilização da imunofluorescência direta para detecção de antígenos do MPVh em aspirados nasofaríngeos e na confirmação de isolamento do MPVh em células LLC-MK2 foi relatada em estudo realizado na Itália, onde MPVh foi detectado em 18 das 40 amostras clínicas analisadas (PERCIVALLE et al., 2005). O diagnóstico rápido de infecções pelo MPVh tornou-se uma realidade inicialmente com a comercialização de AcM a serem utilizados em IFI e pela disponibilidade de um “kit” comercial para pesquisa de MPVh por imunofluorescência direta.

No presente estudo utilizamos a IFI, por ser esta, a técnica empregada para diagnóstico de outras IRAs virais desde a implantação do laboratório em 2001. Nosso estudo é o primeiro, no Brasil, a utilizar a técnica de IFI no diagnóstico de IRA por MPVh. Sabe-se que a experiência do “microscopista” é uma das exigências para que se possa executar bem a técnica de IFI. Ao utilizarmos essa técnica em 987 amostras negativas para os outros vírus analisados no estudo, um total de 111 amostras apresentaram-se como positivas para MPVh, reduzindo dessa maneira o número de casos de IRA onde o agente etiológico do quadro de IRA permanecia desconhecido. Assim sendo, a análise de um total de 3711 amostras clínicas por essa técnica em nosso laboratório ao longo de sete anos, nos garante uma boa experiência em relação a sua execução e interpretação dos resultados da mesma. A subjetividade é um dos problemas relacionados à execução da técnica de imunofluorescência. Um dos primeiros estudos que avaliava o emprego de AcM para MPVh na IFI, ressaltou esses aspectos ao citar que mesmo após treinamento de dois técnicos para reconhecimento de células fluorescentes positivas para MPVh, a leitura da lâminas resultou em interpretação diferente. Enquanto um técnico concluiu que 80% das amostras analisadas eram positivas para MPVh o outro considerou positivas apenas 67% das amostras analisadas (LANDRY et al., 2005). Outro problema detectado nesse mesmo estudo foi a presença de fluorescência inespecífica na maioria das amostras analisadas, com somente quatro amostras sendo consideradas realmente

positivas. Vários padrões de fluorescência de células infectadas pelo MPVh têm sido descritos, entre eles o granular, o difuso e o filamentosos (EBIHARA et al., 2005; LANDRY et al., 2005; PERCIVALLE et al., 2005). Pelo aspecto desses padrões apresentados nos estudos onde eles foram vistos, parece haver mais um problema associado à subjetividade da interpretação, com uma dificuldade de definição entre o que realmente é fluorescência celular e coloração inespecífica. Apenas os padrões definidos como difuso ou granular foram considerados como fluorescência na nossa avaliação, e isso pode ter contribuído para um menor número de amostras consideradas positivas em comparação ao número verificado em dois outros estudos (EBIHARA et al., 2005; PERCIVALLE et al., 2005).

Nesse estudo, devido aos custos, não foi possível fazer uma análise comparativa de técnicas para detecção de MPVh, no sentido de descrever a sensibilidade do método empregado em relação ao mais comumente utilizado que é a RT-PCR. Sabe-se, no entanto, por resultados de estudos onde essa análise foi realizada, que a IFI apresenta menor sensibilidade que a RT-PCR. Nos dois primeiros estudos, onde a realização de IFI com o uso de AcM foi realizada diretamente em amostras clínicas a sensibilidade da IFI em relação à RT-PCR variou de 73.3% a 73.9% (EBIHARA et al., 2005; PERCIVALLE et al., 2005). A especificidade da IFI nesses mesmos estudos em relação à RT-PCR variou entre 94.1% e 97%. Em um estudo mais recente foram analisadas a “capacidade” do AcM utilizado em detectar MPVh assim como a aplicabilidade da IFI como método de triagem de casos positivos para esse vírus. A utilização da IFI em 1386 amostras analisadas resultou na detecção de 43 amostras positivas para o MPVh. A RT-PCR, inicialmente utilizada apenas nas amostras positivas pela IFI, confirmou o resultado da IFI em 41 amostras. As duas amostras negativas por RT-PCR foram posteriormente inoculadas em células Vero e LLC-MK2 havendo replicação viral nessas células. O isolamento de MPVh dessas duas amostras foi confirmado tanto por RT-PCR quanto por IFI (MANOHA et al., 2008). A realização de RT-PCR em mais 204 amostras negativas por IFI confirmou esse resultado. Infelizmente, no estudo citado 1139 amostras não foram submetidas à RT-PCR, o que impossibilitou comparar sensibilidade e especificidade da IFI em relação à RT-PCR. No entanto, os autores do referido estudo interpretaram que os resultados obtidos no mesmo indicaram que a sensibilidade da IFI foi de 100%, assim como o valor preditivo negativo. Outro estudo, realizado recentemente, mostra sensibilidade semelhante entre RT-PCR e IFI quando se utiliza na IFI um anticorpo policlonal para MPVh (INGRAM et al., 2006). Variações na sensibilidade da IFI para MPVh, podem ser decorrentes do emprego de anticorpos mono ou policlonais. A sensibilidade da IFI empregando um pool de AcM para MPVh foi de 96.6% tendo como padrão ouro os resultados obtidos na IFI que empregava o mesmo anticorpo policlonal utilizado por Ingram et al (2006).

(FENWICK et al., 2007). Os resultados da avaliação do uso da imunofluorescência como método diagnóstico de infecções por MPVh apresentados nos poucos estudos existentes sobre o assunto são bem divergentes, com altas taxas de detecção desse vírus nos estudos iniciais embora os mesmos tenham apresentadas taxas de sensibilidade menores em comparação à RT-PCR. Por sua vez os estudos mais recentes sugerem que a sensibilidade desse método tem aumentado consideravelmente em relação à RT-PCR embora a taxa de detecção de MPVh nos mesmos tenham sido bem inferiores aos inicialmente publicados. Duas explicações são sugeridas para essa melhoria na sensibilidade da imunofluorescência para detecção de MPVh. A primeira é a utilização de AcM que reconhecem proteínas mais conservadas do MPVh, como a proteína N (MANOHA et al., 2008). A segunda é a que esses anticorpos apresentam reatividade cruzada para todos os subgrupos já identificados de MPVh.

Apesar de reproduzirmos nesse estudo a mesma técnica com o mesmo AcM anti-MPVh empregado por Ebihara et al (2005), apenas 8,69% das nossas amostras foram positivas para MPVh, um percentual bem inferior relatado no estudo citado onde 25% das amostras testadas por essa técnica foram positivas para esse vírus. A utilização de 48 amostras coletadas em um período considerado de alta circulação de VSR, sendo todas previamente definidas como negativas para o VSR e influenza, pode ter sido um fator a elevar as chances de detecção de MPVh naquele conjunto de amostras. Sabe-se por diversos estudos que os padrões de sazonalidade do VSR e do MPVh em vários locais são semelhantes, havendo comumente o relato de co-circulação desses dois vírus em vários locais, inclusive no Japão (EBIHARA et al., 2004; VAN DEN HOOGEN et al., 2004; SARASINI et al., 2006). Quando analisamos esse aspecto no nosso estudo observamos que 75.5% e 54.5% dos MPVh detectados circularam durante os períodos epidêmicos de VSR de 2006 e 2007, respectivamente, tornando bem evidente que se são utilizadas amostras coletadas nesse período, maiores são as chances de se detectar a circulação de MPVh. Um segundo estudo sobre a utilização de imunofluorescência para detecção de MPVh, mostrou uma taxa de detecção de 45% de MPVh nas amostras analisadas. Nesse estudo, contudo, o conjunto das amostras analisadas era constituído de amostras já selecionadas como positivas para MPVh por RT-PCR. A utilização da imunofluorescência direta para MPVh confirmou a presença desse vírus em 18 das 40 amostras positivas por RT-PCR (PERCIVALLE et al., 2005).

Analisando criteriosamente o resultado da utilização da imunofluorescência como método de detecção de MPVh nas amostras analisadas nesse estudo, podemos observar que o percentual de infecções por MPVh identificado foi mais aproximado daqueles relatados nos estudos publicados mais recentemente, onde essas taxas foram de 3.1% e 5% (FENWICK et al., 2007; MANOHA et al., 2008). A análise de um maior número de amostras, coletadas

durante um período maior de estudo, que é uma característica comum a esses três estudos, pode mostrar de uma maneira mais próxima da “realidade”, a frequência em que ocorrem as infecções pelo MPVh, diferente das taxas citadas nos dois primeiros estudos (25% e 45%), onde há uma clara “seleção” das amostras analisadas (EBIHARA et al., 2005).

Alguns vírus respiratórios apresentam um padrão de sazonalidade bem característico, com ocorrência regular geralmente restrita a alguns períodos do ano. Isso fica bem evidente para o VSR e o vírus influenza, cujos períodos epidêmicos estão bem relacionados a períodos de inverno em países de clima temperado e a períodos chuvosos em países de clima tropical. Por outro lado, o adenovírus geralmente circula em diversos meses do ano, sempre em frequência inferior a do VSR e influenza, sem qualquer associação com fatores climáticos. Analisando a distribuição das infecções causadas por MPVh na nossa população de estudo podemos observar que as mesmas distribuíram-se na maioria dos meses dos dois anos de estudo. Apenas nos três primeiros meses de 2006 nenhum caso de infecção pelo MPVh foi identificada. Essa característica de circulação do MPVh na cidade de Fortaleza, difere consideravelmente da apresentada pelo VSR, com o qual o MPVh, compartilha muitas características comuns, e entre elas a sazonalidade, como já relatado em diversos estudos (VAN DEN HOOGEN et al., 2004; HAMELIN et al., 2005). A principal diferença na circulação do MPVh em relação ao VSR em Fortaleza está na ocorrência de casos ao longo dos diversos meses do ano, enquanto a circulação do VSR restringe-se a alguns meses do ano com picos associados à estação chuvosa (MOURA et al., 2006). A revisão dos dados existentes no laboratório onde esse estudo foi realizado sobre ocorrência de VSR em sete anos consecutivos na cidade de Fortaleza mostra que os períodos epidêmicos desse vírus duram entre cinco e seis meses, chegando ao seu final em julho ou agosto, sem que nenhum caso de infecção por esse vírus tenha sido detectada nos meses restantes dos diversos anos de estudo. Contudo, a ocorrência do período epidêmico de VSR pode ser considerada um ponto de referência para a vigilância do MPVh. Muitos estudos têm descrito que a circulação do MPVh ocorre durante o ano todo, com picos de atividade que coincidem ou ocorrem logo após ao período epidêmico do VSR e do vírus influenza (BASTIEN et al., 2003; CUEVAS et al., 2003; BOUSCAMBERT-DUCHAMP et al., 2005; WILLIAMS et al., 2006). Somente nesse estudo, analisando a totalidade dos casos associados ao MPVh podemos verificar que 63% desses casos ocorrem durante os períodos epidêmicos de VSR. A circulação de MPVh na maior parte do ano, não é uma característica exclusiva do nosso estudo. A revisão da literatura sobre o padrão de circulação de MPVh em estudos realizados na Austrália, Estados Unidos, Itália e África do Sul, onde as infecções por MPVh foram analisadas por um período de tempo maior, mostrou que as infecções por esse vírus distribuem-se nos diversos meses do ano, com

picos de atividade variável (MAGGI et al., 2003; LUDEWICK et al., 2005; SLOOTS et al., 2006; WILLIAMS et al., 2006). Diferente do que se tem observado sobre a circulação do VSR e do vírus influenza em Fortaleza não podemos, baseados nos resultados desse estudo, estabelecer qualquer associação entre a ocorrência de MPVh e a estação chuvosa. Também não se pode estabelecer qualquer relação entre a ocorrência do MPVh com a estação seca como já foi demonstrada para o parainfluenza 3 em Fortaleza (FÉ, 2007). Embora as infecções por adenovírus em Fortaleza possam ocorrer em qualquer mês do ano, assim como observado para o MPVh, diferenciam-se destas por serem menos frequentes e ausentes em muitos meses (MESQUITA, 2007). Baseado em dados de diversos estudos podemos verificar que a circulação de MPVh não ocorre tão regularmente como a circulação de outros vírus, especialmente o VSR e influenza. Isso se aplica também ao pico da atividade do MPVh, conforme descrito em vários estudos, onde há uma grande variabilidade no período de pico de circulação do MPVh (MAGGI et al., 2003; SERAFINO et al., 2004; SLOOTS et al., 2006). Enquanto que em Fortaleza no ano de 2006, o MPVh circulou com um pico de atividade bem evidente nos meses de abril a junho, em 2007 a distribuição mensal dos casos de infecção por MPVh foi mais uniforme, sem que se pudesse estabelecer um pico claro de ocorrência.

Diversos estudos realizados em países de clima temperado têm mostrado que as epidemias por MPVh normalmente ocorrem no inverno, podendo ir do final do outono até o início da primavera. (GALLIANO et al., 2004; MULLINS et al., 2004; KIM et al., 2005; LUCHSINGER et al., 2005; BOUSCAMPBERT-DUCHAMP et al., 2005; SLOOTS et al., 2006).

Apesar de analisarmos as IRA durante um período de curta duração, esse estudo permitiu que se verificasse de modo mais contínuo a ocorrência de MPVh do que já realizado em outros estudos nacionais. Infelizmente, todos os quatro estudos sobre MPVh procedentes de outras cidade brasileiras, ou são de menor duração ou apresentam a análise de um período específico dentro de alguns anos. Por exemplo, os dados sobre a circulação de MPVh na cidade de São Paulo são relacionados a um período de um ano de estudo. Em Curitiba, embora tenha sido analisada a circulação de MPVh em três anos consecutivos, foram incluídos apenas casos de IRA que aconteceram entre março e setembro de cada um desses anos (DEBUR et al., 2007). Nos estudos realizados na cidade de Aracaju, foram analisados apenas casos de IRA ocorridos nos meses de abril e maio (CUEVAS et al., 2003; SERAFINO et al., 2004). A seleção desses meses teve como base o início da estação chuvosa que se relaciona ao aumento do número de casos de bronquiólite, que caracteriza por sua vez o período de ocorrência de VSR. Em São Paulo as infecções por MPVh foram verificadas nas estações de outono, inverno e primavera (THOMAZELLI et al., 2007). Em Fortaleza, a

principal variação climática correlaciona-se a ocorrência de chuvas, que ocorre nos primeiros meses do ano, durando entre três e cinco meses, ocorrendo geralmente entre fevereiro e julho. A ocorrência das quatro estações do ano é verificada bem claramente nas regiões sul e sudeste do Brasil, enquanto em Fortaleza costuma-se dividir o ano em estação chuvosa e seca. Comparando a distribuição dos casos de IRA por MPVh em 2006 à distribuição das infecções por MPVh em São Paulo durante o ano de 2003, houve uma semelhança em termos de distribuição mensal dos casos, já que em ambos os estudos, o MPVh foi detectado de abril a dezembro (THOMAZELLI et al., 2007). Em Curitiba a circulação de MPVh foi associada a períodos de temperaturas mais baixas, verificadas nas estações de inverno e primavera (DEBUR et al., 2007).

Casos de co-infecção entre o MPVh e outros vírus respiratórios têm sido observados em diversos estudos, sendo o VSR o vírus mais comumente presente nesses casos. Além do VSR, já foram relatados em diversos estudos casos de co-infecção do MPVh com vírus influenza A e B, adenovírus, rinovírus citomegalovírus e enterovírus (CHAN, et al., 2003; PEIRIS et al., 2003; DOLNNER et al., 2004; GERNA et al., 2005; WOLF et al., 2006;; MANOHA et al., 2007; KAIDA et al., 2007). O MPVh e o VSR compartilham de características clínicas e epidemiológicas comuns, muitas vezes, circulando em épocas do ano muito próximas e, às vezes, até iguais. Essa similaridade de padrões sazonais entre o MPVh e o VSR pode explicar os casos frequentes de co-infecção entre esses dois vírus. Na literatura são citadas taxas de co-infecção com esses vírus que variam de 0,5 a 70% das co-infecções onde MPVh está presente (CUEVAS et al., 2003; GREENSILL et al., 2003; GERNA et al., 2005; AL-SONBOLI et al., 2006; WOLF et al., 2006; MANOHA et al., 2007). Alguns estudos têm relatado que a co-infecção por MPVh e VSR pode contribuir para o aumento da gravidade da doença. Em um estudo no Reino Unido, 70% das crianças com bronquiolite grave, infectadas pelo VSR, estavam co-infectadas com o MPVh, sugerindo que casos de co-infecção entre o MPVh e o VSR são comuns e que esses dois vírus juntos podem contribuir para um aumento na gravidade da doença (GREENSILL et al., 2003). De maneira semelhante, em outro estudo do Reino Unido, a co-infecção entre MPVh e VSR foi mais frequente em crianças com doença grave que foram admitidas em UTIs necessitando de ventilação mecânica (SEMPLE et al., 2005). Em nosso estudo, não foi realizada uma avaliação de casos conforme a gravidade. Dessa forma não foi possível verificar se havia quadros mais graves em pacientes com infecção simples por um desses vírus ou nos casos de co-infecção. Podemos apenas relatar que dos pacientes infectados por MPVh que necessitaram de hospitalização, dois receberam atendimento na unidade semi-intensiva, dois na UTI e a maioria, isto é, seis pacientes foram atendidos em enfermarias comuns. O único paciente que

tinha esse tipo de co-infecção também foi atendido em enfermaria comum. Contudo, existem estudos que analisaram a correlação entre co-infecção VSR-MPVh e não se verificou nenhuma associação das mesmas com a maior gravidade dos casos (WOLF et al., 2006; AL-SONBOLI et al., 2006; WILKESMAN et al., 2006).

No presente estudo, a maioria das crianças infectadas pelo MPVh eram do sexo masculino (60,9%). De modo semelhante, esse predomínio de crianças positivas para o MPVh do sexo masculino em relação ao sexo feminino também tem sido observado em outros estudos (BOIVIN et al., 2003; BASTIEN et al., 2003; CUEVAS et al., 2003; MULLINS et al., 2004; SERAFINO et al., 2004; NOYOLA et al., 2005; KIM et al., 2005; WILKESMANN et al., 2006; DEBUR et al., 2007). Em contraste, em um estudo tailandês, a maioria das crianças infectadas pelo MPVh eram do sexo feminino (64%) (WANG et al., 2006).

Com relação à idade, observou-se que a faixa etária predominantemente relacionada às de crianças infectadas pelo MPVh, era a situada entre os 7 a 12 meses, que corresponderam a 32,65% dos pacientes. Dados publicados confirmam nossos achados nesse aspecto, uma vez que mostram uma maior prevalência do MPVh em crianças nos primeiros anos de vida, principalmente entre 6 e 24 meses (CUEVAS et al., 2003; MULLINS et al., 2004). À semelhança de outros trabalhos, observou-se que crianças infectadas por MPVh foram significativamente mais velhas que àquelas infectadas pelo VSR (PEIRIS et al., 2003; MULLINS et al., 2004; LUCHSINGER et al., 2005; WOLF et al., 2006; MORROW et al., 2006; ORDÁS et al., 2006; MANOHA et al., 2007). Alguns estudos propõem que essa diferença pode estar associada à existência de um tempo de duração maior de imunidade materna para o MPVh quando comparado ao VSR ou talvez esteja relacionada à patogênese do MPVh em crianças mais velhas (MULLINS et al., 2004; ORDÁS et al., 2006). Analisando os casos de infecção por MPVh em crianças hospitalizadas podemos verificar que 80% das crianças nessa situação tinham idade menor ou igual a sete meses. Outros estudos mostram que infecções por MPVh em crianças hospitalizadas foram mais frequentes naquelas com idade entre a mesma faixa etária encontrada nas crianças atendidas nas enfermarias do HIAS (BOIVIN et al., 2003; VAN DEN HOOGEN et al., 2003).

A prematuridade foi a co-morbidade mais frequentemente detectada em pacientes positivos para MPVh (10,8%) o que está em acordo com o observado em vários estudos, onde esse fator de risco é encontrado em taxas que variam de 12% a 34% (DOLLNER et al., 2004; ROBINSON et al., 2005). A presença desse fator de risco tem sido relacionada a complicações ou manifestações de infecções mais graves nos pacientes infectados por MPVh e outros vírus (KNEYBER et al., 1998; JOFRÉ et al., 2007). Uma dessas complicações é a presença de apnéia isolada ou do complexo apnéia-bradicardia cujas taxas de detecção variam

entre 2% a 6% em pacientes infectados por MPVh nascidos a termo e que chegam a 40% em casos de prematuros infectados por esse vírus (DOLLNER et al., 2004; SCHILDGEN et al., 2006; WILKESMANN et al., 2006). Nesse estudo não houve relato de apnéia entre os pacientes infectados pelo MPVh durante a realização da anamnese em pacientes atendidos na emergência, mas essa complicação foi observada em três pacientes que necessitaram de ventilação mecânica.

A asma foi a segunda co-morbidade mais freqüente nos pacientes infectados pelo MPVh, sendo diagnosticada como causa de atendimento em 19,3% dos pacientes infectados pelo MPVh. A alta freqüência de asma em pacientes infectados pelo MPVh também foi observada em um estudo americano, onde a asma foi considerada a doença associada mais freqüente nesses pacientes (MULLINS et al., 2004). Estudos mostram que aproximadamente 80% dos casos de exacerbação de asma em crianças são devido aos vírus, e que a maioria dessas exarcebações são associadas aos rinovírus (GERN et al., 2000; RAWLINSON et al., 2003). O papel do MPVh em exacerbação de asma ainda permanece controversa. Alguns estudos têm apontado que o MPVh pode induzir exacerbação de asma em crianças, assim como observado para o VSR e o rinovírus (PEIRIS et al., 2003; MULLINS et al., 2004; WOLF et al., 2006). Em contraste, um estudo australiano mostrou que o rinovírus foi significativamente associado com exarcebações de asma em crianças, mas outros vírus, incluindo o MPVh, não apresentaram nenhuma associação (RAWLINSON et al., 2003).

De um modo geral, os sintomas clínicos das infecções causadas por MPVh são comparáveis aqueles apresentados pelo VSR e outros vírus, sendo impossível diferenciar essas infecções virais baseando-se apenas nas manifestações clínicas. Assim como observado no presente estudo, dados da literatura mostram um mesmo perfil de sintomas nos pacientes infectados pelo MPVh sendo a febre, tosse, coriza, obstrução nasal e dispnéia os sintomas mais frequentemente relatados (BASTIEN et al., 2003; BOIVIN et al., 2003; MULLINS et al., 2004; KIM et al., 2005; WOLF et al., 2006; WILKESMANN et al., 2006). A conjuntivite esteve presente em um percentual bastante menor de pacientes infectados pelo MPVh (2,7%) que em pacientes infectados pelo adenovírus (25%). Diversos estudos confirmam a importância do adenovírus como agente causador de conjuntivite sendo esse sintoma frequentemente detectado em pacientes infectados por esse vírus (FARNG et al., 2002; DALMÁS et al., 2003; CHUANG et al., 2003; CHEN et al., 2004; ROCHOLL et al., 2004; DOMINGUEZ et al., 2005; MESQUITA, 2007).

A otite média aguda tem sido descrita como uma das complicações mais freqüentes da infecção respiratória alta por MPVh. A taxa de pacientes com otite média aguda observada no presente estudo, cerca de 6%, foi inferior às encontradas em outros trabalhos que obtiveram

taxas de detecção de 8 a 23% (FREYMUTH et al., 2003; WILKESMANN et al., 2006; MANOHA et al., 2007). Williams et al. (2006) detectaram um percentual alto (50%) de crianças infectadas pelo MPVh com IVAS que apresentavam otite média aguda

Apesar dos sintomas respiratórios serem as manifestações clínicas mais comuns da infecção por MPVh, estudos têm associado o MPVh com doenças neurológicas. Alterações neurológicas também são vistas durante quadros de infecção por MPVh. A única manifestação de envolvimento neurológico vista entre as crianças incluídas nesse estudo foi a convulsão febril que foi relatada na história clínica de dois pacientes. A detecção de RNA de MPVh no cérebro e tecidos pulmonares de um garoto de 14 meses de idade que morreu de encefalite na Alemanha foi relatada recentemente (SCHILDGEN et al., 2005). No Japão, um estudo também detectou o MPVh em amostras respiratórias de uma garota de um ano de idade com encefalite sugerindo que o MPVh pode ter tido um papel na indução de encefalite (KAIDA et al., 2006). Outro caso fatal de encefalite possivelmente associado ao MPVh foi detectado no Japão em uma garota com seis meses de idade (HATA et al., 2007).

As infecções por MPVh manifestaram-se com sintomas e sinais que afetaram tanto o trato respiratório superior como inferior. O diagnóstico predominante de IVAS em crianças infectadas pelo MPVh desse estudo, correspondeu a 53,2% dos casos. Essa predominância pode ser explicada pelo tipo de população desse estudo cuja maioria era crianças atendidas na emergência e retornavam após a consulta para seus lares. Apenas três das crianças infectadas pelo MPVh apresentaram IVAS durante a internação por outra causa, o que caracterizou casos de infecção hospitalar por esse vírus. Por realizarmos um estudo contínuo de IRA virais desde 2001 em crianças atendidas no HIAS temos observado que não é comum que o clínico que presta o atendimento às crianças defina qual o tipo de IVAS que está sendo diagnosticado em cada caso, e isso é comum na prática médica. A grande diversidade de diagnósticos associados a quadros de IVAS (gripes, resfriados comuns, rinofaringites, faringites, amigdalites, faringoamigdalites, laringites, sinusites, otites, etc.) em comparação com os diagnósticos específicos de IVAI (pneumonias, bronquiolites, asma em sua maioria) e o tipo de atendimento que se presta em um serviço de emergência, resulta em uma dificuldade maior de conhecimento no que se refere ao papel desse e de outros vírus em síndromes que acometem essa região do trato respiratório superior. Um estudo retrospectivo que analisou a participação de MPVh em casos de IVAS diagnosticados ao longo de 20 anos nos Estados Unidos, detectou RNA do MPVh em 118 (5%) de 2384 amostras analisadas (WILLIAMS et al., 2006). Um achado importante relatado nesse estudo foi a detecção de otite média aguda em 50% desses casos, um fato não observado nas crianças de Fortaleza, onde apenas sete casos de otite foram diagnosticados (6%), ou seja uma taxa inferior às citadas em outros

estudos, onde a presença de otite média aguda foi relatada em 8 a 50% (BOIVIN et al., 2003; FREYMUTH et al., 2003; WILKESMANN et al., 2006; MANOHA et al., 2007).

A maioria dos estudos publicados sobre MPVh logo após sua descrição inicial analisava predominantemente a participação do MPVh em casos de infecções respiratórias baixas. Embora já se tenha discutido aqui o papel do MPVh em casos de infecções respiratórias altas, muitos estudos sobre esses vírus têm como população de estudo apenas crianças com infecções respiratórias baixas (FREYMUTH et al., 2003; KASHIWA et al., 2004; LUDEWICK et al., 2005). No nosso estudo, embora as IVAS tenham predominado, 46% dos casos de IRA foram diagnosticados como IVAI. Alguns estudos têm mostrado que o MPVh, assim como observado para o VSR, é responsável por uma significativa proporção de IVAI em crianças hospitalizadas. No presente estudo, embora não tenha existido uma diferença estatística significativa entre o número de crianças hospitalizadas por infecções baixas causadas pelo MPVh ou pelo VSR, o MPVh superou o VSR como agente desses casos. Um recente estudo, realizado na Itália, avaliou o impacto da infecção por MPVh em crianças hospitalizadas menores de dois anos e demonstrou a presença do vírus em 25% das crianças (MAGGI et al., 2003). Essa alta taxa encontrada pode estar associada à faixa etária utilizada nesse estudo uma vez que outros estudos mostram que infecções por MPVh em crianças hospitalizadas e infecções graves ocorrem mais frequentemente em crianças menores de dois anos (AL-SONBOLI et al., 2006; ORDÁS et al., 2006). Um estudo realizado no Yemen que avaliou a gravidade de IRA causadas por VSR e MPVh em crianças menores de dois anos hospitalizadas mostrou que os casos mais graves associados ao MPVh eram vistos em crianças com idade média de 5,7 meses (AL-SONBOLI et al., 2006).

Asma, pneumonia e bronquiolite foram os diagnósticos mais comuns apresentados pelos pacientes positivos para o MPVh em casos de IVAI sendo esses diagnósticos estabelecidos em 42,8%, 34,6%, 12,2% dos casos, respectivamente. A associação do MPVh com diagnóstico de asma tem sido descrita em vários estudos (ESPER et al., 2003; FREYMUTH et al., 2003; PEIRIS et al., 2003; VAN DEN HOOGEN et al., 2003). A frequência de asma ou de exacerbação de asma tem sido comparada entre viroses respiratórias. A observação que a infecção pelo MPVh leva a essa quadros mais frequentemente que o VSR e menos frequentemente em quadros associados ao rinovírus foi relatada em alguns estudos (PEIRIS et al., 2003; VAN DEN HOOGEN et al., 2003; VAN DEN HOOGEN et al., 2004; BOSIS et al., 2005).

Sabe-se que o VSR é considerado o agente etiológico mais comum de bronquiolite viral aguda, no entanto, com a descoberta do MPVh muitos estudos têm mostrado que este é o principal diagnóstico relacionado a IVAI causadas por esse vírus (ESPER et al., 2003;

FREYMUTH et al., 2003; BOIVIN et al., 2003; DOLNNER et al., 2004; NOYOLA et al., 2005). Nesse e outros estudos, entretanto, observa-se que a pneumonia foi diagnosticada mais freqüentemente que a bronquiolite quando associada ao MPVh (MAGGI et al., 2003; PEIRIS et al., 2003; KIM et al., 2005; LUCHSINGER et al., 2005). A importância do MPVh como agente de pneumonias pode ser ressaltada pela observação de que esse vírus superou o VSR e o influenza A como agente de pneumonias. Isso já havia sido relatado em um estudo realizado em Israel (WOLF et al., 2006). As pneumonias por MPVh em crianças atendidas no HIAS foram 3,4 vezes mais freqüentes do que aquelas causadas pelo vírus influenza, um vírus reconhecido como agente de pneumonias tanto em crianças quanto em idosos. Isso certamente é uma informação importante, pois se compararmos o influenza e o MPVh em seus padrões de circulação em Fortaleza, teremos que dar uma importância ainda maior ao MPVh, uma vez que, enquanto o vírus influenza tem períodos epidêmicos bem definidos e geralmente curtos, o MPVh circula ao longo de todo ano, com uma freqüência bem superior a do vírus influenza (MARTINS, 2005). Devemos lembrar que seis dos 17 casos de pneumonia associados ao MPVh ocorreram em pacientes hospitalizados. Buscamos enfatizar a importância de se estabelecer laboratorialmente o diagnóstico etiológico e o papel do MPVh como agente de bronquiolite ou pneumonia pois de um modo geral é comum se pensar primeiro em bactéria como agente de pneumonia, sendo ainda os vírus subestimados como seus agentes. O diagnóstico de pneumonia bacteriana que se estabelece somente pela clínica ou por achados de testes laboratoriais inespecíficos como o hemograma ou ainda por imagens radiológicas (geralmente os únicos métodos diagnósticos disponíveis ou utilizados pelos médicos na maioria dos hospitais do nosso país) leva imediatamente ao uso de terapia antimicrobiana devido a essa interpretação, que muitas vezes não é confirmada quando se realizam testes laboratoriais como o utilizado nesse estudo.

Dentre os pacientes positivos para MPVh que realizaram raios-X de tórax, 50% apresentaram alterações radiológicas sendo o infiltrado intersticial e a condensação pulmonar as alterações mais freqüentemente observadas. Estudos anteriores obtiveram taxas de alterações radiológicas que variaram de 68 a 87% (PEIRIS et al., 2003; MULLINS et al., 2004; KIM et al., 2005; WOLF et al., 2006). As alterações radiológicas apresentadas pelos pacientes infectados pelo MPVh têm variado nos diferentes estudos. Ao comparar crianças internadas em hospital israelita infectadas pelo MPVh, VSR e influenza A e naquelas co-infectadas por MPVh foi observado que a freqüência de alterações radiológicas eram semelhantes entre os quatro grupos analisados, embora a atelectasia tenha sido a alteração radiológica mais freqüentemente observada entre pacientes positivos para MPVh que entre pacientes positivos para VSR ou influenza A (WOLF et al., 2006). Já em um estudo

americano, as principais alterações radiológicas encontradas em pacientes infectados pelo MPVh foram a infiltração intersticial e a hiperinsulflação, embora sem que houvesse diferença significativa na presença dessas alterações quando se comparou pacientes com infecção por MPVh ou VSR (MULLINS et al., 2004).

O uso de aerossol e/ou salbutamol foi a conduta terapêutica mais aplicada aos pacientes infectados pelo MPVh (68,5%), embora em percentuais inferiores aos pacientes positivos para o VSR (86,2%). Esse achado é condizente com um estudo na Alemanha que detectou um percentual menor de pacientes infectados pelo MPVh que utilizaram salbutamol no tratamento quando comparados aos pacientes infectados pelo VSR (WILKESMANN et al., 2006).

A taxa de pacientes positivos para MPVh que receberam prescrição de antibiótico em nosso estudo (16%) foi inferior ao percentual encontrado em um estudo em Israel (94%), onde a antibioticoterapia foi mais utilizada em pacientes positivos para MPVh que os pacientes positivos para VSR (WOLF et al., 2006). Assim como observado para o uso de antibióticos, também não foram encontradas diferenças significativas entre os casos positivos para MPVh e os negativos, e para os demais vírus para a terapêutica com corticóides e com oxigênio. Da mesma forma, em um estudo americano, a proporção de crianças recebendo oxigênio no tratamento foi similar entre os grupos de pacientes positivos para MPVh e VSR (MANOHA et al., 2007). O percentual de pacientes positivos para MPVh que necessitaram de tratamento com oxigênio suplementar (7,2%) foi inferior ao encontrado em outros estudos que detectaram percentuais mais altos que variaram entre 40 a 79% dos casos (NOYOLA et al., 2005; WILKESMANN et al., 2006; MANOHA et al., 2007; DEBUR et al., 2007).

A quantidade de informações disponíveis sobre o MPVh no Brasil ainda é pequena, principalmente com relação à epidemiologia, patogenia e aspectos clínicos. O presente trabalho confirma a importância do MPVh como agente etiológico de IRA infantil e fornece os dados iniciais sobre a epidemiologia e aspectos clínicos das IRA a eles associadas em Fortaleza. Este estudo amplia, portanto, o conhecimento sobre a participação desse vírus como agente de IRA infantil em um país onde ainda são escassas as publicações sobre o tema e traz como um dos seus mais relevantes resultados a apresentação do MPVh como o segundo principal agente dessas infecções na população estudada, sendo superado apenas pelo VSR. A continuidade desse estudo permitirá que outros aspectos sejam analisados como a gravidade dos casos a ele associados; epidemiologia molecular e diversidade genômica de MPVh circulantes. O emprego da IFI nesse estudo como método diagnóstico das infecções por MPVh diretamente em amostras clínicas é pioneiro no Brasil e América Latina.

A publicação dessa dissertação e do artigo científico dela derivado tem como finalidade gerar informações para divulgação da importância do MPVh como agente de IRA infantis locais principalmente para a comunidade científica e para os profissionais de saúde pois a realização do diagnóstico etiológico de IRA virais através do apoio do diagnóstico laboratorial permitirá a adoção de condutas terapêuticas mais adequadas, como por exemplo o uso racional de antibióticos, a utilização de antivirais específicos para cada caso, além de facilitar que medidas preventivas sejam adotadas também a nível da gestão pública.

6 CONCLUSÕES

- ✓ O MPVh foi responsável por um significativo número de IRA na população de estudo, sendo o segundo vírus respiratório mais identificado após o VSR;
- ✓ A realização desse estudo permitiu identificar o MPVh como agente de IRA em 11,02% de casos anteriormente sem agente etiológico conhecido;
- ✓ Infecções pelo MPVh ocorreram na maioria dos 24 meses de estudo, com alta frequência de detecção e sem associação à estação chuvosa ou seca;
- ✓ As infecções por MPVh apresentaram o mesmo espectro de infecções causadas pelos demais vírus pesquisados nesse estudo;
- ✓ O MPVh associou-se a mais casos de pneumonia que levaram à hospitalização das crianças infectadas do que os outros vírus analisados;
- ✓ A técnica de IFI utilizada nesse estudo, mostrou-se bastante eficaz e útil para a detecção do MPVh o que justifica a inclusão desse vírus entre os já pesquisados na rotina do Laboratório de Virologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, W. J.; VIBOUD, C.; SIMONSEN, L.; HIRANO, E. W.; DAUFENBACH, L. Z.; MILLER, M.A. Seasonality of influenza in Brazil: a traveling wave from the Amazon to the subtropics. **Am. J. Epidemiol.**, v. 165, n. 12, p. 1434-1442, 2007.

AL-SONBOLI, N.; HART, C.A.; AL-AGHBARI, N.; AL-ANSI, A.; ASHOOR, O.; CUEVAS, L.E. Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus disease in children, Yemen. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 12, n. 9, p. 1437-1439, 2006.

ALVAREZ, R.; HARROD, K.S.; SHIEH, W.J.; ZAKI, S.; TRIPP, R.A. Human metapneumovirus persists in BALB/c mice despite the presence of neutralizing antibodies. **J. Virol.**, v. 78, n. 24, p. 14003-14011, 2004.

ANDERSON, L. J. Human bocavirus: a new viral pathogen. **Clin. Infect. Dis.**, v. 44, n. 7, p. 911-912, 2007.

ARDEN, K.E.; MCERLEAN, P.; NISSEN, M.D.; SLOOTS, T.P.; MACKAY, I.M. Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections. **J. Med. Virol.**, v. 78, n. 9, p. 1232-1240, 2006.

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.

AZEVEDO, A.M.; DURINGON, E.L.; OKASIMA, V.; QUEIROZ, D.A.; DE MORAES-VASCONCELOS, D.; DUARTE, A.J.; GRUMACH, A.S. Detection of influenza, parainfluenza, adenovirus and respiratory syncytial virus during asthma attacks in children older than 2 years old. **Allergol. Immunopathol.**, v. 31, n. 6, p. 311-317, 2003.

BASTIEN, N.; WARD, D.; VAN CAESELEE, P.; BRANDT, K.; LEE, S.H.S.; MCNABB, G.; KLISKO, B.; CHAN, E.; LI, Y. Human metapneumovirus infection in the Canadian population. **J. Clin. Microbiol.**, v. 41, n. 10, p. 4642-4646, 2003.

BELLEI, N.; CARRARO, E.; PEROSA, A.; GRANATO, C. Patterns of influenza infections among different risk groups in Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 11, n. 4, p. 399-402, 2007.

BENIGUI, Y. Acute respiratory infections control in the context of the IMCI strategy in the Americas. **Rev. Bras. Saúde. Matern. Infant.**, v. 3, n. 1, p. 25-36, 2003.

BIACCHESI, S.; SKIADOPOULOS, M.H.; BOIVIN, G.; HANSON, C.T.; MURPHY, B.R.; COLLINS, P.L.; BUCHHOLZ, U.J. Genetic diversity between human metapneumovirus subgroups. **Virology.**, v. 315, n. 1, p. 1-9, 2003.

BIACCHESI, S.; SKIADOPOULOS, M.H.; YANG, L.; LAMIRANDE, E.W.; TRAN, K.C.; MURPHY, B.R.; COLLINS, P.L.; BUCHHOLZ, U.J. Recombinant human Metapneumovirus lacking the small hydrophobic SH and/or attachment G glycoprotein: deletion of G yields a promising vaccine candidate. **J. Virol.**, v. 78, n.23, p. 12877-12887, 2004.

BIACCHESI, S.; PHAM, Q.N.; SKIADOPOULOS, M.H.; MURPHY, B.R.; COLLINS, P.L.; BUCHHOLZ, U.J. Infection of nonhuman primates with recombinant human

metapneumovirus lacking the SH, G, or M2-2 protein categorizes each as a nonessential accessory protein and identifies vaccine candidates. **J. Virol.**, v. 79, n.19, p. 12608-12613, 2005.

BOIVIN G; ABED, Y.; PELLETIER, G.; RUEL, L.; MOISAN, D.; CÔTÉ, S.; PERET, T. C.; ERDMAN, D. D.; ANDERSON, L. J. Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups. **J. Infect. Dis.**, v. 186, n. 9, p. 1330-1334, 2002.

BOIVIN, G.; DE SERRES, G.; CÔTÉ, S. ; GILCA, R. ; ABED, Y. ; ROCHETTE, L. ; BERGERON, M.G. ; DÉRY, P. Human metapneumovirus infections in hospitalized children. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, n. 6, p. 634-640, 2003.

BOIVIN, G.; DE SERRES, G.; HAMELIN, M. E.; CÔTÉ, S.; ARGOUIN, M. ; TREMBLAY, G. ; MARANDA-AUBUT, R. ; SAUVAGEAU, C. ; OUAKKI, M. ; BOULIANNE, N. ; COUTURE, C. An outbreak of severe respiratory tract infection due to human metapneumovirus in a long-term care facility. **Clin. Infect. Dis.**, v. 144, n. 9, p. 1159-1160, 2007.

BOSIS, S.; ESPOSITO, S.; NIESTERS, H.G.M.; CROVARI, P.; OSTERHAUS, A.D.M.E, PRINCIPI, N. Impact of human metapneumovirus in childhood: comparison with respiratory syncytial virus and influenza viruses. **J. Med. Virol.**, v. 75, n. 1, p.101-104, 2005.

BOUSCAMPBERT-DUCHAMP, M.; LINA, B.; TROMPETTE, A.; MORET, H. ; MOTTE, J. ; ANDRÉOLETTI, L. Detection of human metapneumovirus RNA sequences in nasopharyngeal aspirates of young french children with acute bronchiolitis by real-time reverse transcriptase PCR and phylogenetic analysis. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 3, p. 1411-1414, 2005.

CANE, P.A.; VAN DEN HOOGEN, B. G.; CHAKRABARTI, S.; FEGAN, C. D.; OSTERHAUS, A. D. Human metapneumovirus in a haematopoietic stem cell transplant recipient with fatal lower respiratory tract disease. **Bone Marrow Transplant.**, v. 31, n. 4, p. 309-310, 2003.

CARR, M.J.; MCCORMACK, G.P.; CROWLEY. Human metapneumovirus-associated respiratory tract infections in the Republic of Ireland during the influenza season of 2003-2004. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 11, n. 5, p. 366-371, 2005.

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.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Division of Bacterial and Mycotic Diseases. Pneumonia among children in Developing Countries, 2005. Disponível em: < www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/pneumchilddevcount_t.htm>. Acesso em: 30 out. 2007.

CHAN, P.K.S.; TAM, J.S.; LAM, C.; CHAN, E.; WU, A.; LI, C.; BUCKLEY, T.A.; NG, K.; JOYNT, G.M.; CHENG, F.W.T.; TO, K.; LEE, N.; HUI, D.S.C.; CHEUNG, J.L.K.; CHU, I.; LIU, E.; CHUNG, S.S.C.; SUNG, J.J.Y. Human metapneumovirus detection in patients with severe acute respiratory syndrome. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, n. 9, p. 1058-1063, 2003.

CHANO, F.; ROUSSEAU, C.; LAFERRIÈRE, C.; COUILLARD, M.; CHAREST, H. Epidemiological survey of human metapneumovirus infection in a large pediatric tertiary care center. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 11, p. 5520-5525, 2005.

CHEN, H. L.; CHIOU, S. S.; HSIAO, H. P.; KE, G. M.; LIN, Y. C.; LIN, K. H.; JONG, Y. J. Respiratory adenoviral infections in children: a study of hospitalized cases in southern Taiwan in 2001-2002. **J. Trop. Pediatr.**, v. 50, n. 5, p. 279-284, 2004.

CHUANG, Y. Y.; CHIU, C. H.; WONG, K. S.; HUANG, J. G.; HUANG, Y. C.; CHANG, L. Y.; LIN, T. Y. Severe adenovirus infection in children. **J. Microbiol. Immunol. Infect.**, v. 36, n. 1, p. 37-40, 2003.

CHUNG, J.Y.; HAN, T.H.; KIM, S.W.; KIM, C.K.; HWANG, E.S. Detection of viruses identified recently in children with acute wheezing. **J. Med. Virol.**, v. 79, n. 8, p. 1238-1243, 2007.

COELHO, M. C.; TSUCHIYA, L. R.; NOGUEIRA, M. B.; PEREIRA, L. A.; TAKAHASHI, G. A.; CRUZ, C. R.; RABONI, S. M. Impact of respiratory infections by influenza viruses A and B in pediatrics patients from Federal University of Paraná, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 11, n. 2, p. 220-223, 2007.

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.

CÔTÉ, S.; ABED, Y.; BOIVIN, G. Comparative evaluation of real-time PCR assays for detection of the human metapneumovirus. **J. Clin. Microbiol.**, v. 41, n. 8, p. 3631-3635, 2003.

CROWE, J.E. Jr. Human metapneumovirus as a major cause of human respiratory tract disease. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 23, n. 11, p. 215-221, 2004.

CRUZ, M.E.M.; ZAIDAN, A.M.E.; RODRIGUES, M.M.L.; SÁ, J.P.O.; OLIVEIRA, J.F. Incidence of influenza A and B viruses among the population of Maceió-Al, Brazil. **Rev. Bras. Anal. Clin.**, v. 31, n. 1, p. 9-11, 1999.

CUEVAS, L.E.; NASSER, A.M.B.; DOVE, W.; GURGEL, R.Q.; GREENSILL, J. HART, C.A. Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, n. 12, p. 1626-1628, 2003.

DALMÁS, S.; PEREYRA, M. L.; PIREZ, M. C.; MATEOS, S.; VARELA, A.; CHIPARELLI, H.; MONTANO, A.; FERRARI, A. M. Infección respiratoria aguda baja por adenovirus en niños hospitalizados menores de dos años. **Arch. Pediatr. Urug.**, v. 74, n. 1, p. 15-21, 2003.

DATASUS - MS. Banco de dados do Sistema Único de Saúde: Informações de saúde. Disponível em: <www.datasus.gov.br>. Acesso em: 28 jan. 2008.

DEBUR, M.C.; BORDINGNON, J.; SANTOS, C.N.D.; VIDAL, L.R.; NOGUEIRA, M.B.; ALMEIDA, S.M.; RABONI, S.M. Acute respiratory infection by human metapneumovirus in children in southern Brazil. **J. Clin. Virol.**, v. 39, n. 1, p. 59-62, 2007.

DOLLNER, H.; RISNES, K.; RADTKE, A.; NORDBO, S.A. Outbreak of human metapneumovirus infection in norwegian children. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 23, n. 5, p. 436-440, 2004.

DOMINGUEZ, O.; ROJO, P.; de las HERAS, S.; FOLGUEIRA, D.; CONTRERAS, J. R. Clinical presentation and characteristics of pharyngeal adenovirus infections. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 24, n. 8, p.733-734, 2005.

EBIHARA, T.; ENDO, R.; KIKUTA, H.; ISHIGURO, N.; ISHIKO, H.; KOBAYASHI, K. Comparison of the seroprevalence of human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus. **J. Med. Virol.**, v. 72, n. 2, p. 304-306, 2004.

EBIHARA, T.; ENDO, R.; MA, X.; ISHIGURO, N.; KIKUTA, H. Detection of human metapneumovirus antigens in nasopharyngeal secretions by an immunofluorescent-antibody test. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 3, p. 1138-1141, 2005.

ESPER, F.; BOUCHER, D.; WEIBEL, C.; MARTINELLO, R.A.; KAHN, J.S. Human metapneumovirus infection in the United States: clinical manifestations associated with a newly emerging respiratory infection in children. **Pediatrics.**, v. 111, n. 6, p. 1407-1410, 2003.

FALSEY, A.R.; ERDMAN, D.; ANDERSON, L.J.; WALSH, E.E. Human metapneumovirus in young and elderly adults. **J. Infect. Dis.**, v. 187, n. 5, p. 785-790, 2003.

FARNG, K. T.; WU, K. G.; LEE, Y. S.; LIN, Y. H.; WANG, B. T. Comparison of clinical characteristics of adenovirus and non-adenovirus pneumonia in children. **J. Microbiol. Immunol. Infect.**, v. 35, n. 1, p.37-41, 2002.

FÉ, M. M. M. **Perfil clínico-epidemiológico das infecções respiratórias agudas causadas por vírus parainfluenza em crianças atendidas no hospital de Fortaleza – CE.** 2007. 101p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

FENWICK, F.; YOUNG, B.; MCGUCKIN, R.; ROBINSON, M.J.; TAHA, Y.; TAYLOR, C.E.; TOMS, G.L. Diagnosis of human metapneumovirus by immunofluorescence staining with monoclonal antibodies in the North-East of England. **J. Clin. Virol.**, v. 40, n. 3, p. 193-196, 2007.

FOULONGNE, V.; GUYON, G.; RODIÈRE, M.; SEGONDY, M. Human metapneumovirus infection in young children hospitalized with respiratory tract disease. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 25, n. 4, p. 354-359, 2006.

FREYMUTH, F.; VABRET, A.; LEGRAND, L.; ETERRADOSSI, N.; LAFAY-DELAIRE, F.; BROUARD, J. ; GUILLOIS, B. Presence of the new human metapneumovirus in French children with bronchiolitis. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 22, n. 1, p. 92-94, 2003.

GALIANO, M.; VIDELA, C.; PUCH, S.S.; MARTÍNEZ, A.; ECHAVARRÍA, M.; CARBALLAL, G. Evidence of human metapneumovirus in children in Argentina. **J. Med. Virol.**, v. 72, n. 2, p. 299-303, 2004.

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

GERN, J.E.; VRTIS, R.; GRINDLE, K.A.; SWENSON, C.; BUSSE, W.W. Relationship of upper and lower airway cytokines to outcome of experimental rhinovirus infection. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 162, n. 6, p. 2226-2231, 2000.

GERNA, G. ; CAMPANINI, G. ; ROVIDA, F. ; SARASINI, A.; LILLERI, D.; PAOLUCCI, S.; MARCHI, A.; BALDANTI, F.; REVELLO, M.G. Changing circulation rate of human metapneumovirus strains and types among hospitalized pediatric patients during three consecutive winter-spring seasons. **Arch. Virol.**, v. 150, n. 11, p. 2365-2375, 2005.

GERNA, G.; SARASINI, A.; PERCIVALLE, E.; CAMPANINI, G. ; ROVIDA, F. ; MARCHI, A. ; BALDANTI, F. Prospective study of human metapneumovirus infection: diagnosis, typing and virus quantification in nasopharyngeal secretions from pediatric patients. **J. Clin. Virol.**, v. 40, n. 3, p. 236-240, 2007.

GREENSILL, J.; MCNAMARA, P.S.; DOVE, W.; FLANAGAN, B.; SMYTH, R.L.; HART, C.A. Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, n. 3, p. 372-375, 2003.

HAMELIN, M. E. ; CÔTÉ, S. ; LAFORGE, J. ; LAMPRON, N. ; BOURBEAU, J. ; WEISS, K. ; GILCA, R. ; DE SERRES, G. ; BOIVIN, G. Human metapneumovirus infection in adults with community-acquired pneumonia and exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. **Clin. Infect. Dis.**, v. 41, n. 4, p. 498-502, 2005.

HATA, M.; ITO, M.; KIYOSAWA, S.; KIMPARA, Y.; TANAKA, S.; YAMASHITA, T.; HASEGAWA, A.; KOBAYASHI, S.; KOYAMA, N.; MINAGAWA, H. A fatal case of encephalopathy possibly associated with human metapneumovirus infection. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 60, n. 5, p. 328-329, 2007.

HEIKKINEN, T.; ÖSTERBACK, R.; PELTOLA, V.; JARTI, T.; VAINIONPÄÄ, R. Human metapneumovirus infection in children. **Emerg. Infect. Dis.**, v.14, n.1, p.101-106, 2008.

HUCK, B.; SCHARF, G.; NEUMANN-HAEFELIN, D.; PUPPE, W.; WEIGL, J.; FALCONE, V. Novel human metapneumovirus sublineage. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 12, n. 1, p. 147-150, 2006.

HUCK, B.; NEUMANN-HAEFELIN, D.; SCHIMITT-GRAEFF, A.; WECKMANN, M.; MATTES, J.; EHL, S.; FALCONE, V. Human metapneumovirus induces more severe disease and stronger innate immune response in BALB/c mice as compared with respiratory syncytial virus. **Respir. Res.**, v. 8, n. 6, p. 1-10, 2007.

INGRAM, R. E.; FENWICK, F.; MCGUCKIN, R.; TEFARI, A.; TAYLOR, C.; TOMS, G. L. Detection of human metapneumovirus in respiratory secretions by reverse-transcriptase polymerase chain reaction, indirect immunofluorescence, and virus isolation in human bronchial epithelial cells. **J. Med. Virol.**, v. 78, n. 9, p. 1223-1231, 2006.

ISHIGURO, N.; EBIHARA, T.; ENDO, R.; MA, X.; SHIROTSUKI R.; OCHIAI, S.; ISHIKO, H.; KIKUTA, H. Immunofluorescence assay for detection of human metapneumovirus-specific antibodies by use of baculovirus-expressed fusion protein. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 12, n. 1, p. 202-205, 2005.

JOFRÉ, L.M.; LUCHSINGER, F.V.; ZEPEDA, G.F.; ROJAS, A.C.; MUNÓZ, A.A. Apnea como forma de presentación de una infección por metapneumovirus humano. **Rev. Chil. Infect.**, v. 24, n. 4, p. 313-318, 2007.

KAFETZIS, D. A. Prophylaxis, therapy and prevention of viral respiratory infections. **Paediatr. Respir. Rev.**, v. 5, Suppl. A, p. 185-189, 2004.

KAIDA, A.; IRITANI, N.; KUBO, H.; SHIOMI, M.; KOHDERA, U.; MURAKAMI, T. Seasonal distribution and phylogenetic analysis of human metapneumovirus among children in Osaka City, Japan. **J. Clin. Virol.**, v. 35, n. 4, p. 394-399, 2006.

KAIDA, A.; KUBO, H. ; GOTO, K. ; SHIOMI, KOHDERA, U.; IRITANI, N. Co-infection of human metapneumovirus with adenovirus or respiratory syncytial virus among children in Japan. **Microbiol. Immunol.**, v. 51, n. 7, p. 679-683, 2007.

KASHIWA, H.; SHIMOZONO, H.; TAKAO, S. Clinical pictures of children with human metapneumovirus infection: comparison with respiratory syncytial virus infection. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 57, n. 2, p. 80-82, 2004.

KIM, Y.; LEE, H. Human metapneumovirus-associated lower respiratory tract infections in Korean infants and young children. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 24, n. 12, p. 1111-1124, 2005.

KLEINES, M.; SCHEITHAUER, S.; RACKOWITZ, A.; RITTER, K.; HAÜSLER, M. High prevalence of human bocavirus detected in young children with severe acute lower respiratory tract disease by use of a standard PCR protocol and a novel real-time PCR protocol. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, n. 3, p. 1032-1034, 2007.

KNEYBER, M.C.; BRANDENBURG, A.H.; DE GROOT, R.; JOOSTEN, K.F.; ROTHBARTH, P.H.; OTT, A.; Risk factors for respiratory syncytial virus associated apnea. **Eur J Pediatr.**, v. 157, n. 4, p. 331-335, 1998.

KUYPERS, J.; WRIGHT, N.; LAWRENCE, C.; MORROW, R. Detection and quantification of human metapneumovirus in pediatric specimens by real-time RT-PCR. **J. Clin. Virol.**, v. 33, n. 4, p. 299-305, 2005.

LANDRY, M.L.; FERGUSON, D.; COHEN, S.; PERET, T.C.T.; ERDMAN, D.D. Detection of human metapneumovirus in clinical samples by immunofluorescence staining of shell vial centrifugation cultures prepared from three different cell lines. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 4, p. 1950-1952, 2005.

LEUNG, J.; ESPER, F.; WEIBEL, C.; KAHN, J.S. Seroepidemiology of human metapneumovirus (hMPV) on the basis of a novel enzyme-linked immunosorbent assay utilizing hMPV fusion protein expressed in recombinant vesicular stomatitis virus. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 3, p. 1213-1219, 2005.

LINSTOW, M.L.; EUGEN-OLSEN, J.; KOCH, A.; WINTHER, T.N.; WESTH, H.; HOGH, B. Excretion patterns of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus among young children. **Eur. J. Med. Res.**, v. 11, n. 8, p. 329-335, 2006.

LIPSON, S.M. Rapid laboratory diagnostics during the winter respiratory virus season. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 2, p. 733-734, 2002.

LUCHSINGER, V.F.; ESCOBAR, C.C.; AVENDAÑO, L.F.C. Detection of human metapneumovirus in children hospitalized for acute lower respiratory infection in Santiago, Chile. **Rev. Med. Chil.**, v. 133, n. 9, p. 1059-1064, 2005.

LUDEWICK, H.P.; ABED, Y.; VAN NIEKERK, N.; BOIVIN, G.; KLUGMAN, K.P.; MADHI, S.A. Human metapneumovirus genetic variability, South Africa. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 11, n. 7, p. 1074-1078, 2005.

MACKAY, I.M.; JACOB, K.C.; WOOLHOUSE, D.; WALLER, K.; SYRMIS, M.W.; WHILEY, D.M.; SIEBERT, D.J.; NISSEN, M.; SLOOTS, T.P. Molecular assays for detection of human metapneumovirus. **J. Clin. Microbiol.**, v. 41, n. 1, p. 100-105, 2003.

MADHI, S.A.; LUDEWICK, H.; KUWANDA, L.; VAN NIEKERK, N.; CUTLAND, C.; KLUGMAN, K.P. Seasonality, incidence, and repeat human metapneumovirus lower respiratory tract infections in an area with a high prevalence of human immunodeficiency virus type-1 infection. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 26, n. 8, p. 693-699, 2007.

MAERTZDORF, J.; WANG, C.K.; BROWN, J.B.; QUINTO, J.D.; CHU, M.; DE GRAAF, M.; VAN DEN HOOGEN, B.G.; SPAETE, R.; OSTERHAUS, A.D.; FOUCHIER, R.A. Real-time reverse transcriptase PCR assay for detection of human metapneumoviruses from all known genetic lineages. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, n. 3, p. 981-986, 2004.

MAGGI, F.; PIFFERI, M.; VATTERONI, M.; FORNAI, C.; TEMPESTINI, E.; ANZILOTTI, S.; LANINI, L.; ANDREOLI, E.; RAGAZZO, V.; PISTELLO, M.; SPECTER, S.; BENDINELLI, M. Human metapneumovirus associated with respiratory tract infections in a 3-year study of nasal swabs from infants in Italy. **J. Clin. Microbiol.**, v. 41, n. 7, p. 2987-2991, 2003.

MANOHA, C.; ESPINOSA, S.; AHO, S.; HUET, F.; POTHIER, P. Epidemiological and clinical features of hMPV, RSV e RVs infections in young children. **J. Clin. Virol.**, v. 38, n. 3, p. 221-226, 2007.

MANOHA, C.; BOUR, J.B.; PITOISET, C.; DARNIOT, M.; AHO, S.; POTHIER, P. Rapid and sensitive detection of metapneumovirus in clinical specimens by indirect fluorescence assay using a monoclonal antibody. **J. Med. Virol.**, v. 80, n. 1, p. 154-158, 2008.

MARTINS, M. G. **Perfil epidemiológico das infecções respiratórias agudas causadas pelo vírus influenza em crianças atendidas no hospital infantil Albert Sabin, Fortaleza – CE (2001-2004)**. 2005. 89p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

MESQUITA, J.R.L. **Perfil clínico-epidemiológico das infecções respiratórias agudas causadas por adenovírus em crianças atendidas no hospital infantil Albert Sabin-Fortaleza/CE**. 2007. 117p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Indicadores e Dados Básicos - Brasil – 2007. Disponível em: <www.saude.gov.br>. Acesso em: 25 dez. 2007.

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. Occurrence of respiratory virus: time, place and person. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 23, n. 1, p. 58-64, 2004.

MORROW, B.M.; HATHERILL, M.; SMUTS, H.E.; YEATS, J.; PITCHER, R.; ARGENT, A.C. Clinical course of hospitalised children infected with human metapneumovirus and respiratory syncytial virus. **J. Paediatr. Child. Health.**, v. 42, n. 4, p.174-178, 2006.

MOTTA, F.C.; LUIZ, M.O.; COUCEIRO, J.N. Serological analysis reveals circulation of influenza C viruses, Brazil. **Rev. Saude. Publica.**, v. 34, n. 2, p. 204-205, 2000.

MOTTA, F.C.; SIQUEIRA, M.M.; LUGON, A.K.; STRALLIOTTO, S.M.; FERNANDES, S.B.; KRAWCZUK, M.M. The reappearance of Victoria lineage influenza B virus in Brazil, antigenic and molecular analysis. **J. Clin. Virol.**, v. 36, n. 3, p. 208-214, 2006.

MOURA, F. E. A. **Infecções respiratórias agudas virais em crianças de Salvador: caracterização antigênica e genômica dos vírus sincicial respiratório e adenovírus isolados e correlação clínico-epidemiológica.** 2001. 196p. Tese (doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2001.

MOURA, F. E. A.; RIBEIRO, D. H.; BORGES, L. C.; RAMOS, E. A. G. Diagnóstico laboratorial de infecções respiratórias agudas de etiologia viral: uma opção diagnóstica disponível para clínicos no Nordeste do Brasil. **Pediatr. Mod.**, v. 38, n. 6, p. 255-260, 2002.

MOURA, F. E. A.; BORGES, L. C.; PORTES, S.A.; RAMOS, E.A.; SIQUEIRA, M.M. Respiratory syncytial virus infections during an epidemic period in Salvador, Brazil. Viral antigenic group analysis and description of clinical and epidemiological aspects. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 98, n. 6, p. 739-743, 2003.

MOURA, F.E.; BLANC, A.; FRABASILE, S.; DELFRARO, A.; DE SIERRA, M.J.; TOME, L.; RAMOS, E.A.; SIQUEIRA, M.M.; ARBIZA, J. Genetic diversity of respiratory syncytial virus isolated during an epidemic period from children of northeastern Brazil. **J. Med. Virol.**, v. 74, n. 1, p. 156-160, 2004.

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

MOURA, P.O.; ROBERTO, A.F.; HEIN, N.; BALDACCI, E.; VIEIRA, S.E.; EJZENBERG, B.; PERRINI, P.; STEWIEN, K.E.; DURINGON, E.L.; MEHNERT, D.U.; HÁRSI, C.M. Molecular epidemiology of human adenovirus isolated from children hospitalized with acute respiratory infection in São Paulo, Brazil. **J. Med. Virol.**, v. 79, n. 2, p. 174-181, 2007.

MÜLLER, A.; KUPFER, B.; VEHRESSCHILD, J.; CORNELLY, O.; KAISER, R.; SEIFERT, H.; VIAZOV, S.; TILLMAN, R. L.; FRANZEN, C.; SIMON, A.; SCHILDGEN, O. Fatal pneumonia associated with human metapneumovirus (HMPV) in a patient with myeloid leukemia and adenocarcinoma in the lung. **Eur. J. Med. Res.**, v. 12, n. 4, p. 183-184, 2007.

MULLINS, J.A.; ERDMAN, D.D; WEINBERG, G.A.; EDWARDS, K.; HALL, C.B.; WALKER, F.J.; IWANE, M.; ANDERSON, L.J. Human metapneumovirus infection among children hospitalized with acute respiratory illness. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 10, n. 4, p. 700-705, 2004.

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.

NICHOLSON, K.G.; MCNALLY, T.; SILVERMAN, M.; SIMONS, P.; STOCKTON, J.D.; ZAMBON, M.C. Rates of hospitalisation for influenza, respiratory syncytial virus and human metapneumovirus among infants and young children. **Vaccine**, v. 24, n. 1, p. 102-108, 2006.

NOYOLA, D.E.; ALPUCHE-SOLÍS, A.G.; HERRERA-DÍAZ, A.; SORIA-GUERRA, R.E.; SÁNCHEZ-ALVARADO, J.; LÓPEZ-REVILLA, R. Human metapneumovirus infections in Mexico: epidemiological and clinical characteristics. **J. Med. Microbiol.**, v. 54, n. 10, p. 969-974, 2005.

NUNES, I.F.; MOURA, F.E. Isolation of respiratory syncytial virus from nasopharyngeal aspirates stored at 20 degrees C from one to fifteen months after collection. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 101, n. 4, p. 451-453, 2006.

NUNES, I. F. S. **Perfil epidemiológico das infecções causadas por vírus sincicial respiratório em crianças atendidas em hospital de Fortaleza-CE.** 2004. 115p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

OLIVEIRA, J.F.; SÁ, J.P.O.; CRUZ, M.E.M. Influenza virus A and B identification and monitoring in the population of Maceió. **Ciênc. Saúde. Coletiva.**, v. 9, n. 1, p. 241-246, 2004. ORDÁS, J.; BOGA, J.A.; ALVAREZ-ARGÜELLES, M.; VILLA, L.; RODRÍGUEZ-DEHLI, C.; 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.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Situación de salud en las Américas: Indicadores Básicos 2007. Disponível em: <www.paho.org/spanish/dd/ais/coredata.htm>. Acesso em: 30 out.. 2007.

PABBARAJU, K.; WONG, S.; MCMILLAN, T.; LEE, B.E.; FOX, J.D. Diagnosis and epidemiological studies of human metapneumovirus using real-time PCR. **J. Clin. Virol.**, v. 40, n. 3, p. 186-192, 2007.

PARODY, R.; RABELLA, N.; MARTINO, R.; OTEGUI, M.; DEL CUERPO, M.; COLL, P.; SIERRA, J. Upper and lower respiratory tract infections by human enterovirus and rhinovirus in adult patients with hematological malignancies. **Am. J. Hematol.**, v. 82, n. 9, p. 807-811, 2007.

PEIRIS, J.S.M. ; TANG, W. ; CHAN, K. ; KHONG, P.; GUAN, Y.; LAU, Y.; CHIU, S.S. Children with respiratory disease associated with metapneumovirus in Hong Kong. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, n. 6, p. 628-633, 2003.

PELLETIER, G.; DÉRY, P.; ABED, Y.; BOIVIN, G. Respiratory tract reinfections by the new human metapneumovirus in an immunocompromised child. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 8, n. 9, p. 976-978, 2002.

PERCIVALLE, E.; SARASINI, A.; VISAI, L. ; REVELLO, M.G. ; GERNA, G. Rapid detection of human metapneumovirus strains in nasopharyngeal aspirates and shell vial cultures by monoclonal antibodies. **J. Clin. Microbiol.**, v. 43, n. 7, p. 3443-3446, 2005.

PERET, T. C.; BOIVIN G; LI, Y.; COUILLARD, M.; HUMPHREY, C. ; OSTERHAUS, A. D.; ERDMAN, D. D.; ANDERSON, L. J. Characterization of human metapneumoviruses isolated from patients in North America. **J. Infect. Dis.**, v. 185, n. 11, p. 1660-1663, 2002.

PHAM, Q.N.; BIACCHESI, S.; SKIADOPOULOS, M.H.; MURPHY, B.R.; COLLINS, P.L.; BUCHHOLZ, U.J. Chimeric recombinant human metapneumoviruses with the nucleoprotein or phosphoprotein open reading frame replaced by that of avian metapneumovirus exhibit improved growth in vitro and attenuation in vivo. **J. Virol.**, v. 79, n.24, p. 15114-15122, 2005.

PITREZ, P.M.; STEIN, R.T.; STUERMER, L.; MACEDO, I.S.; SCHMITT, V.M.; JONES, M.H.; ARRUDA, E. Rhinovirus and acute bronchiolitis in young infants. **J. Pediatr.**, v. 81, n. 5, p. 417-420, 2005.

RABONI, S.M.; NOGUEIRA, M.B.; TSUCHIYA, L.R.; TAKAHASHI, G.A.; PEREIRA, L.A.; PASQUINI, R.; SIQUEIRA, M.M. Respiratory tract viral infections in bone marrow transplant patients. **Transplantation.**, v. 76, n. 1, p. 142-146, 2003.

RAWLINSON, W.D.; WALIUZZAMAN, Z.; CARTER, I.W.; BELESSIS, Y.C.; GILBERT, K.M.; MORTON, J.R. Asthma exacerbations in children associated with rhinovirus but not human metapneumovirus infection. **J. Infect. Dis.**, v. 187, n. 8, p. 1314-1318, 2003.

RAZA, K.; ISMAILJEE, S. B.; CRESPO, M.; STUDER, S. M.; SANGHAVI, S.; PATERSON, D. L.; KWAK, E. J.; RINALDO, C. R. Jr.; PILEWSKI, J. M.; MCCURRY, K. R.; HUSAIN, S. Successful outcome of human metapneumovirus (hMPV) pneumonia in a lung transplant recipient treated with intravenous ribavirin. **J. Heart. Lung. Transplant.**, v. 26, n. 8, p. 862-864, 2007.

REINA, J.; FERRES, F.; ALCOCEBA, E.; MENA, A.; DE GOPEGUI, E.R.; FIGUEROLA, J. Comparison of different cell lines and incubation times in the isolation by the shell vial culture of human metapneumovirus from pediatric respiratory samples. **J. Clin.Virol.**, v. 40, n.1, p. 46-49, 2007.

ROBINSON, J.L.; LEE, B.E.; BASTIEN, N.; LI, Y. Seasonality and clinical features of human metapneumovirus infection in children in Northern Alberta. **J. Med. Virol.**, v. 76, n. 1, p. 98-105, 2005.

ROCHOLL, C.; GERBER, K.; DALY, J.; PAVIA, A. T.; BYINGTON, C. L. Adenoviral infections in children: the impact of rapid diagnosis. **Pediatrics.**, v. 113, n. 1, p. 51-56, 2004.

SARASINI, A.; PERCIVALLE, E.; ROVIDA, F.; CAMPANINI, G.; GENINI, E.; TORSELLINI, M.; PAOLUCCU, S.; BALDANTI, F.; MARCHI, A.; GRAZIA, R.M.; GERNA, G. Detection and pathogenicity of human metapneumovirus respiratory infection in pediatric Italian patients during a winter--spring season. **J. Clin. Virol.**, v. 35, n. 1, p. 59-68, 2006.

SCHILDGEN, O.; GLATZEL, T.; GEIKOWSKI, T.; SCHEIBNER, B.; MATZ, B.; BINDL, L.; BORN, M.; VIAZOV, S.; WILKESMANN, A.; KNÖPFLE, G.; ROGGENDORF, M.; SIMON, A. Human metapneumovirus RNA in encephalitis patient. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 11, n. 3, p. 467-470, 2005.

SEMPLE, M.G.; COWELL, A.; DOVE, W.; GREENSILL, J.; MCNAMARA, P.S.; HALFHIDE, C.; SHEARS, P.; SMYTH, R.L.; HART, C.A. Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis. **J. Infect. Dis.**, v. 191, n. 3, p. 382-386, 2005.

SERAFINO, R.L.; GURGEL, R.Q.; DOVE, W.; HART, C.A.; CUEVAS, L.E. Respiratory syncytial virus and metapneumovirus in children over two seasons with a high incidence of respiratory infections in Brazil. **Ann. Trop. Paediatr.**, v. 24, n. 3, p. 213-217, 2004.

SKIADOPOULOS, M.H.; BIACCHESI, S.; BUCHHOLZ, U.J.; RIGGS, J.M.; SURMAN, S.R.; AMARO-CARAMBOT, E.; MCAULIFFE, J.M.; ELKINS, W.R.; ST CLAIR, M.; COLLINS, P.L.; MURPHY, B.R. The two major human metapneumovirus genetic lineages are highly related antigenically, and the fusion (F) protein is a major contributor to this antigenic relatedness. **J. Virol.**, v. 78, n.13, p. 6927-6937, 2004.

SLOOTS, T.P.; MACKAY, I.M.; BIALASIEWICZ, S.; JACOB, K.C.; MCQUEEN, E.; HAMETT, G.B.; SIEBERT, D.J.; MASTERS, B.I.; YOUNG, P.R.; NISSEN, M.D. Human metapneumovirus, Australia, 2001-2004. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 12, n. 8, p. 1263-1266, 2006.

SOUZA, L.S.; RAMOS, E.A.; CARVALHO, F.M.; GUEDES, V.M.; SOUZA, L.S.; ROCHA, C.M.; SOARES, A.B.; VELLOSO, L.F.; MACEDO, I.S.; MOURA, F.E.; SIQUEIRA, M.; FORTES, S.; DE JESUS, C.C.; SANTIAGO, C.M.; CARVALHO, A.M.; ARRUDA, E. Viral respiratory infections in young children attending day care in urban Northeast Brazil. **Pediatr. Pulmonol.**, v. 35, n. 3, p. 184-191, 2003.

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.

TANG, R.S.; MAHMOOD, K.; MACPHAIL, M.; GUZZETTA, J.M.; HALLER, A.A.; LIU, H.; KAUR, J.; LAWLOR, H.A.; STILLMAN, E.A.; SCHICKLI, J.H.; FOUCHIER, R.A.; OSTERHAUS, A.D.; SPAETE, R.R. A host-range restricted parainfluenza virus type 3 (PIV3) expressing the human metapneumovirus (hMPV) fusion protein elicits protective immunity in African green monkeys. **Vaccine.**, v. 23, n. 14, p. 1657-1667, 2005.

THOMAZELLI, L.M.; VIEIRA, S.; LEAL, A.L.; SOUSA, T.S.; OLIVEIRA, D.B.; GOLONO, M.A.; GILLIO, A.E.; STWIEN, K.E.; ERDMAN, D.D.; DURIGON, E.L. Surveillance of eight respiratory viruses in clinical samples of pediatric patients in southeast Brazil. **J. Pediatr.**, v. 83, n. 5, p. 422-428, 2007.

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.

VAN DEN HOOGEN, B.G.; DE JONG, J.C.; GROEN, J.; KUIKEN, T.; DE GROOT, R.; FOUCHIER, R.A.M.; OSTERHAUS, A.D.M.E. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. **Nat. Med.**, v. 7, n. 6, p. 719-724, 2001.

VAN DEN HOOGEN, B.G.; BESTEBROER, T.M.; OSTERHAUS, A.D.M.E.; FOUCHIER, R.A.M. Analysis of the genomic sequence of a human metapneumovirus. **Virology.**, v. 295, n. 1, p. 119-132, 2002.

VAN DEN HOOGEN, B. G.; VAN DOORNUM, G. J.; FOCKENS, J. C.; CORNELISSEN, J. J.; BEYER, W. E.; DE GROOT, R.; OSTERHAUS, A. D.; FOUCHIER, R. A. Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients. **J. Infect. Dis.**, v. 188, n. 10, p. 1571-1577, 2003.

VAN DEN HOOGEN, B.G.; OSTERHAUS, A.D.M.E.; FOUCHIER, R.A.M. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 23, n. 1, p. 25-32, 2004.

VAN DEN HOOGEN, B. G. Respiratory tract infection due to human metapneumovirus among elderly patients. **Clin. Infect. Dis.**, v. 44, n. 9, p. 1159-1160, 2007.

VARGAS, S.O.; KOZAKEWICH, H.P.; PEREZ-ATAYDE, A.R.; MCADAM, A.J. Pathology of human metapneumovirus infection: insights into the pathogenesis of a newly identified respiratory virus. **Pediatr. Dev. Pathol.**, v. 7, n. 5, p. 478-486, 2004.

WANG, S.M.; LIU, C.C.; WANG, H.C.; SU, I.J.; WANG, J.R. Human metapneumovirus infection among children in Taiwan: a comparison of clinical manifestations with other virus-associated respiratory tract infections. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 12, n. 12, p.1221-1224, 2006.

WILLIAMS, B.G.; GOUWS, E.; BOSCHI-PINTO, C.; BRYCE, J.; DYE, C. Estimates of world-wide distribution of child deaths from acute respiratory infections. **Lancet. Infect. Dis.**, v. 2, n. 1, p. 25-32, 2002.

WILLIAMS, J.V. ; HARRIS, P.A.; TOLLEFSON, S.J.; HALBURNT-RUSH, L.L.; PNGSTERHAUS, J.M.; EDWARDS, K.M.; WRIGHT, P.F.; CROWE, J.E. Jr. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. **N. Engl. J. Med.**, v. 350, n. 5, p. 443-450, 2004.

WILLIAMS, J.V.; MARTINO, R.; RABELLA, N.; OTEGUI, M.; PARODY, R.; HECK, J.M.; CROWE, J.E. Jr. A prospective study comparing human metapneumovirus with other respiratory viruses in adults with hematologic malignancies and respiratory tract infections. **J. Infect. Dis.**, v. 192, n. 6, p. 1061-1065, 2005.

WILLIAMS, J.V. ; WANG, C.K.; YANG, C.; 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, J.E. Jr. The role of human metapneumovirus

in upper respiratory tract infections in children: a 20-year experience. **J. Infect. Dis.**, v. 193, n. 3, p. 387-395, 2006.

WILKESMAN, A.; SCHILDGEN, O.; EIS-HÜBINGER, A.N.; GEIKOWSKI, T.; GLATZEL, T.; LENTZE, M.J.; BODE, U.; SIMON, A. Human metapneumovirus infections cause similar symptoms and clinical severity as respiratory syncytial virus infections. **Eur. J. Pediatr.**, v. 165, n. 7, p. 467-475, 2006.

WOLF, D.; ZAKAY-RONES, Z.; FADEELA, A.; GREENBERG, D.; DAGAN, R. High Seroprevalence of Human Metapneumovirus among Young Children in Israel. **J. Infect. Dis.**, v. 188, n. 12, p. 1865-1867, 2003.

WOLF, D.G.; GREENBERG D.; KALKSTEIN, D.; SHEMER-AVNI, Y.; GIVON-LAVI, N.; SALEH, N.; GOLDBERG, M.D.; DAGAN, R. Comparison of human metapneumovirus, respiratory syncytial virus and influenza A virus lower respiratory tract infections in hospitalized young children. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 25, n. 4, p. 320-324, 2006.

WYDE, P.R.; CHETTY, S.N.; JEWELL, A.M.; BOIVIN, G.; PIEDRA, P.A. Comparison of the inhibition of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus by ribavirin and immune serum globulin in vitro. **Antiviral. Res.**, v. 60, n. 1, p. 51-59, 2003.

WYDE, P.R.; MOYLETT, E.H.; CHETTY, S.N.; JEWELL, A.; BOWLIN, T.L.; PIEDRA, P.A. Comparison of the inhibition of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus by NMSO3 in tissue culture assays. **Antiviral. Res.**, v. 63, n. 1, p. 51-59, 2004.

ANEXOS

ANEXO I - Termo de consentimento livre e esclarecido

Projeto: Perfil Epidemiológico das Infecções Respiratórias Agudas Causadas pelo Metapneumovírus em Crianças de 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, doenças 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 Joyce Fonteles Ribeiro, telefone nº 88432472, ou 4009-8303.

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: Joyce Fonteles Ribeiro – Rua Regionópolis 301, Jóquei Clube –

Tel.: 32908148 – End. Eletrônico: joycebio@hotmail.com

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

fernandaedna@terra.com.br

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

ANEXO II – Ficha epidemiológica

Projeto: Perfil Epidemiológico das Infecções Respiratórias Agudas Causadas pelo Metapneumovírus em Crianças de Fortaleza

DADOS PESSOAIS

Nome do Paciente: _____
 Bairro: _____ Telefone: _____ Pessoa p/ Contato: _____
 Idade: _____ Sexo: Feminino () Masculino ()

PROCEDÊNCIA

Ambulatório () Emergência () Observação () UTI ()
 Enfermaria ()
 Prontuário: _____ Leito: _____ Bloco: _____

ASPECTOS SÓCIO-ECONÔMICOS

Renda Familiar: _____
 Pai e Mãe Empregados () Pai e Mãe Desempregados () Pai ou Mãe Empregados ()
 Escolaridade do Pai: _____ Mãe: _____
 Quantas Pessoas Moram em Casa: _____ Nº de Cômodos: _____
 Frequentada 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: Sim () Não () Nº de vezes _____
 Gripe Frequentemente: Sim () Não () Nos Últimos Dois Meses: () 1-2x () 3-5x ()
 >5x
 A criança está faltando aula pela doença atual? Sim () Não () Nº de dias _____
 Ausência no trabalho pela doença atual? Sim () Não () Nº de dias _____
 Doenças Associadas: Sim () Não () Qual _____

HISTÓRICO FAMILIAR

História de Cansaço na Família: Mãe () Pai () Irmãos () Primos () Tios ()
 Avós () Não ()
 Outro Familiar com Infecção: Sim () Não () Quem _____
 Fumantes em Casa: Sim () Não () 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 | Leuc. | Segm. | Linfoc. | Linf. Atípicos | Basóf. | Eosin. | Monóc. | Plaq. |
|------|----|----|-------|-------|---------|----------------|--------|--------|--------|-------|
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |

Gasometria

| Data | pH | PCO ₂ | PO ₂ | Sat. O ₂ | | | |
|------|----|------------------|-----------------|---------------------|--|--|--|
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

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

Bactéria Isolada: _____

Antibiograma: Resistente _____
Sensível _____

TRATAMENTO INSTITUÍDO PELO MÉDICO

Antitérmico () Antibiótico () Aerossol () Salbutamol () Corticóide ()
Sol. fisiológica nasal ()

Cateter de O₂ () 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 _____ Dias Internação _____

Óbito: Sim () Não ()

IMPRESSÃO DIAGNÓSTICA _____

ANEXO III – Parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Infantil Albert Sabin



HOSPITAL INFANTIL ALBERT SABIN
Rua Tertuliano Sales 544 – Vila União – Fortaleza – Ceará
FoneFax: (85) 3101.4212 – 3101.4283

OFÍCIO Nº 18 /07

Fortaleza, 29 de maio de 2007.

Registro no CEP: 009/07

Data da Aprovação: 29/05/07

Pesquisador Responsável: Joyce Fonteles Ribeiro

Instituição / Serviço: Hospital Infantil Albert Sabin

Título do Projeto: “A Perfil Epidemiológico das Infecções Respiratórias Agudas causadas pelo Metapneumovírus em crianças de Fortaleza”.

Levamos ao conhecimento de V. S^a, que o Comitê de Ética em Pesquisa – COMEPE, do Hospital Infantil Albert Sabin – Secretaria da Saúde do Estado do Ceará, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996, aprovou o projeto supra citado em reunião realizada em 29 de maio de 2007.

Dra. Regina Lúcia Ribeiro Moreno
Coord^a. do Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO IV – SOLUÇÕES E REAGENTES UTILIZADOS

SOLUÇÃO DE PBS 10X CONCENTRADA

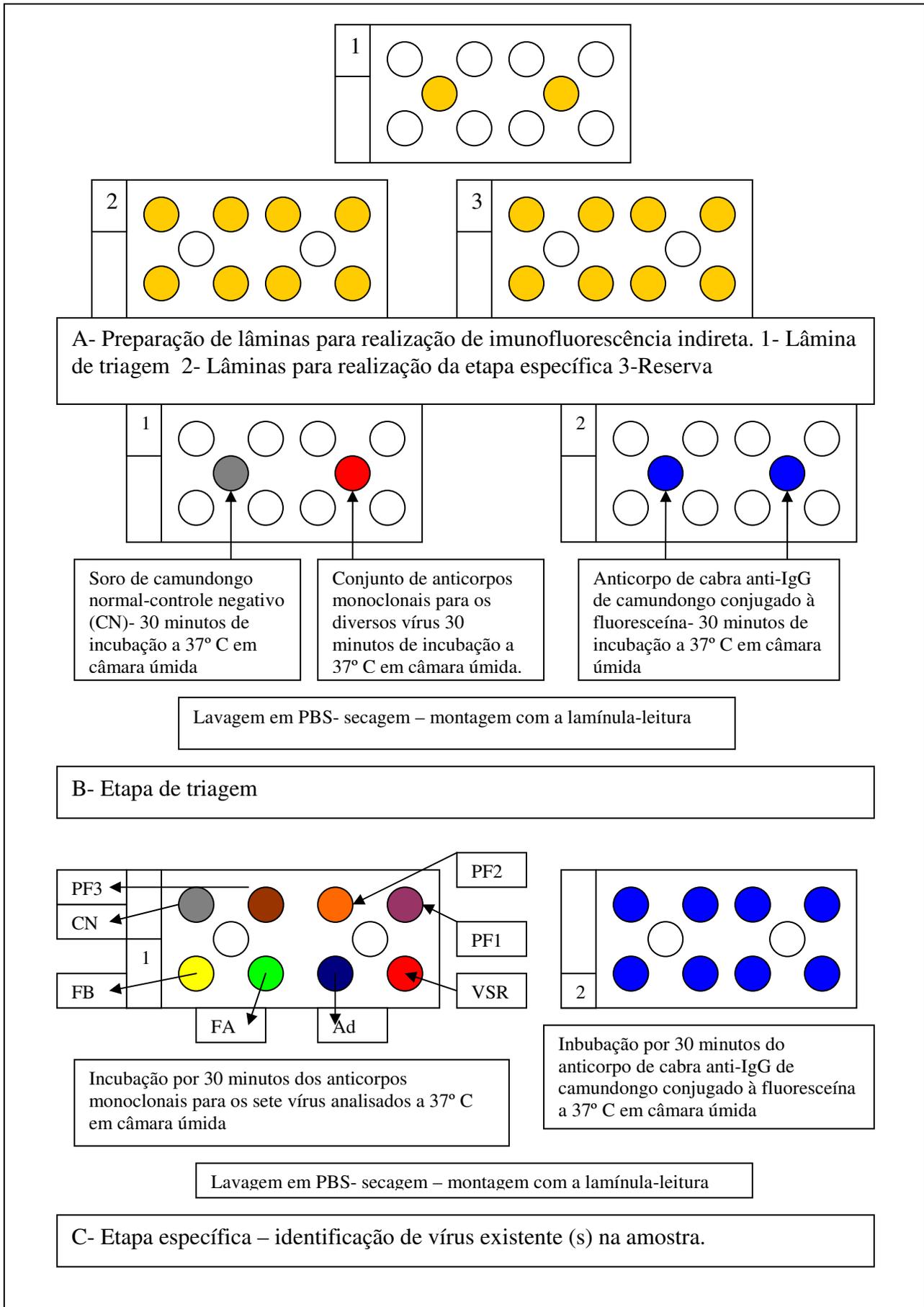
NaCl-----80g
 KH₂PO₄-----2g
 Na₂HPO₄-----21g
 KCl-----2g
 Água destilada qsp-----1000mL

Dissolver as substâncias na água destilada. Ajustar o pH para 7,2. Esterilizar por autoclavação. Para uso, diluir esta solução 1/10 em água destilada estéril.

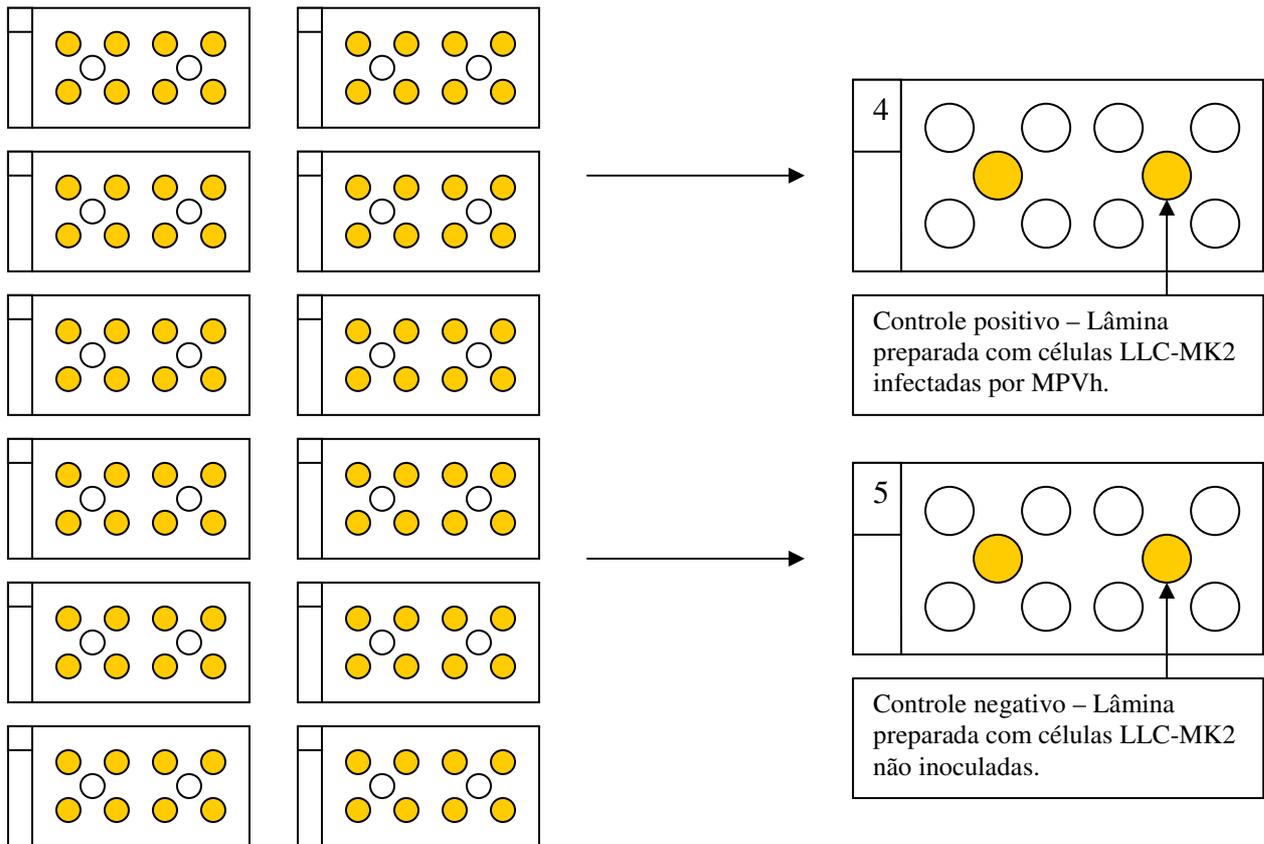
MEIO ESSENCIAL MÍNIMO (MEM)

MEM (Gibco) com sais de Earle, sem L-glutamina, sem bicarbonato de sódio-----9,4g
 Água Milli-Q qsp -----1000mL
 L-glutamina a 2% (Gibco), pH 7,3-----10mL
 Solução de penicilina-estreptomicina (Gibco), 10000U/mL de penicilina G sódica e 10000µg/mL de sulfato de estreptomicina-----10mL
 Bicarbonato de sódio PA (Dinâmica) a 7,5%, estéril-----29,3mL
 Dissolver o MEM em 950,7mL de água Milli-Q e esterilizar por autoclavação a 121°C por 15 minutos. Após o resfriamento, adicionar asépticamente a glutamina, a penicilina-estreptomicina e o bicarbonato de sódio.

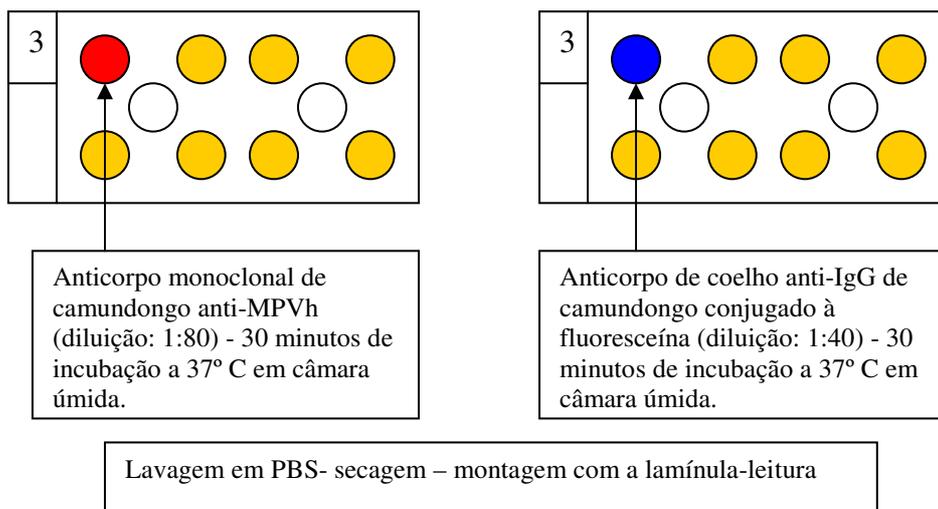
ANEXO V – IFI PARA PESQUISA DOS SETE VÍRUS RESPIRATÓRIOS



ANEXO VI – IFI PARA PESQUISA DO MPVh



A- Para cada 12 lâminas reservas era utilizado 1 lâmina controle positivo e 1 lâmina controle negativo para realização de IFI para identificação de MPVh.



B- Etapa específica – Identificação de MPVh existente na amostra.

ANEXO VII – FLUXOGRAMA REPRESENTANDO TODAS AS ETAPAS DE PROCEDIMENTO LABORATORIAIS A PARTIR DO MATERIAL CLÍNICO

