

**ALEXANDRE RODRIGUES DA SILVA**

**Análise prospectiva das infecções por vírus respiratórios em adultos  
internados em unidade de terapia intensiva**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Doenças Infecciosas e  
Parasitárias

Orientadora: Dra. Clarisse Martins Machado

SÃO PAULO

2008

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Alexandre Rodrigues da

Análise prospectiva das infecções por vírus respiratórios em adultos internados em unidade de terapia intensiva / Alexandre Rodrigues da Silva. -- São Paulo, 2008.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias.

Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientadora: Clarisse Martins Machado.

Descritores: 1.Infeccões respiratórias 2.Unidades de terapia intensiva  
3.Prevalência 4.Fatores de risco 5.Adulto

USP/FM/SBD-013/08

## Dedicatória

*“Não basta ensinar ao homem uma especialidade, porque se tornará assim uma máquina utilizável e não uma personalidade. É necessário que adquira um sentimento, um senso prático daquilo que vale a pena ser compreendido, daquilo que é belo, do que é moralmente correto”.*

(Albert Einstein)

**Aos meus pais Carlos e Maria, responsáveis pela minha concepção, formação e caráter, meu mais sincero agradecimento e reconhecimento pelo exemplo em minha vida. Agradeço por terem me ensinado a seguir em frente e superar as dificuldades que encontrasse pelo caminho.**

## Dedicatória especial

*“Sei que compreendes quão pobres  
são as palavras para descrever a  
alegria e toda a maravilha do que  
sinto por ti.*

*Se tentasse definir o significado  
especial que deste à minha vida,  
não poderia fazê-lo.*

*Portanto, somente te direi  
“obrigado”...*

*E sei que compreenderás.”*

(Paula Finn)

**À minha amada esposa Joseane, amiga e conselheira, que soube  
compreender minha ausência quando foi preciso.**

## Dedicatória especial

*De tudo ficaram três coisas:  
A certeza de que estamos começando,  
A certeza de que é preciso continuar e  
A certeza de que podemos  
ser interrompidos antes de terminar  
Fazer da interrupção um caminho novo,  
Fazer da queda um passo de dança,  
Do medo uma escola,  
Do sonho uma ponte,  
Da procura um encontro,  
E assim terá valido a pena existir!*

(Fernando Sabino)

**Aos meus filhos Felipe e Henrique, minha eterna gratidão em tê-los em  
minha vida e a esperança de poder representar para cada um exemplo  
a ser aprimorado.**

## Agradecimentos

*"Cada um que passa em nossa vida,  
passa só, pois cada pessoa é única,  
e nenhuma substitui a outra.  
Cada um que passa em nossa vida,  
passa sozinho, mas não vai só,  
nem nos deixa só.  
Leva um pouco de nós,  
deixa um pouco de si.  
Há os que levaram muito,  
mas não há os que não deixaram nada.  
Esta é a maior responsabilidade  
de nossa vida  
e a prova de que duas almas  
não se encontram por acaso..."*

(Antoine de Saint-Exupéry)

A Dra. Clarisse Machado, amiga e orientadora, agradeço pela confiança, pelos conselhos e pela oportunidade de realizar este projeto.

Ao Dr. Cláudio Pannuti por ter possibilitado a realização deste projeto em seu laboratório e pelas inúmeras contribuições para o aperfeiçoamento do projeto inicial.

Ao Dr. Marcelo Park que com sua humildade característica e seu conhecimento "invejável" possibilitou a coleta das amostras em sua UTI, contribuindo com as informações clínicas necessárias e com sugestões fundamentais para a melhor análise e elaboração dos resultados.

As amigas Lucy Vilas Boas e Maria Cristina Fink pela experiência e atuação no processamento laboratorial das amostras clínicas, revisões e orientações das técnicas laboratoriais e pelas contribuições cruciais durante todo o projeto.

Aos amigos Adriana Machado, Renato Machado, Michela Gabriele, Adriana Tateno, Lucy Vilas Boas, Maria Cristina Fink pela participação no processamento laboratorial das amostras clínicas.

A Dra. Sílvia Figueiredo Costa e ao Prof. Dr. Aluísio Segurado pelas críticas e sugestões que aprimoraram este trabalho.

Aos funcionários da UTI da Clínica Médica, em especial as fisioterapeutas Adriana e Alessandra, a enfermeira Walquíria e toda a equipe de enfermagem que colaboraram para a manutenção da coleta das amostras nos momentos de maior dificuldade.

Aos amigos Vanda Ueda, Dayse Machado, Laura Sumita, Cíntia Canto e José de Paula por tornarem afetuoso o ambiente laboratorial e pelo carinho com que sempre me receberam.

A todos os colegas do Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical da USP que contribuíram de alguma forma com este resultado agora apresentado.

Às secretarias Rosemeire Aparecida Moraes Ribeiro e Roseli Antônia Santo por todo o apoio (muitas vezes via e-mail) para concluir este projeto.

À FAPESP pelo financiamento de parte deste projeto.

## **Agradecimento especial**

*“Na vida,  
não vale tanto  
o que temos  
nem tanto importa  
o que somos.*

*Vale o que realizamos  
com aquilo que possuímos  
e, acima de tudo,  
importa  
o que fazemos de nós. ”*

(Francisco Cândido Xavier)

Este trabalho é resultado não apenas da leitura de centenas de artigos, desfalque de horas de sono, ausência de sorrisos e momentos de alegria com a família. Ele é fruto de um árduo, porém, gratificante trabalho de várias pessoas que se empenham em contribuir para o avanço da pesquisa científica no Brasil e, principalmente, de pessoas como nós que, quando internadas ou diante da angústia de internação de um ente querido, são capazes de aceitar participar de pesquisas como esta.

A estes pacientes e familiares meu sincero agradecimento.



## Normalização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L., Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## Sumário

<b>Lista de figuras .....</b>	<b>xii</b>
<b>Lista de tabelas .....</b>	<b>xiv</b>
<b>Lista de símbolos.....</b>	<b>xvii</b>
<b>Lista de siglas e abreviaturas .....</b>	<b>xviii</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>xxi</b>
<b>Summary .....</b>	<b>xxiv</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Impacto geral das infecções virais respiratórias .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Vírus respiratórios – velhos conhecidos .....</b>	<b>6</b>
<b>1.3 Técnicas diagnósticas .....</b>	<b>14</b>
<b>1.4 Vírus respiratórios – novos conhecidos .....</b>	<b>18</b>
<b>1.5 Vírus respiratórios em ambiente hospitalar.....</b>	<b>22</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
<b>3. MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1 Desenho do estudo .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2 Casuística .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.1 Seleção da casuística.....</b>	<b>28</b>
<b>3.3 Procedimentos do estudo .....</b>	<b>29</b>
<b>3.3.1 Coleta de informações .....</b>	<b>29</b>
<b>3.3.2 Conceitos e definições.....</b>	<b>30</b>
<b>3.3.3 Avaliação da prevalência de infecções por vírus respiratórios</b> <b>.....</b>	<b>31</b>

3.3.4 Avaliação das infecções de origem nosocomial.....	47
3.3.5 Avaliação dos fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios entre pacientes internados em UTI .....	48
3.3.6 Avaliação do impacto das infecções por vírus respiratórios na morbimortalidade .....	49
3.3.7 Análise estatística.....	52
3.4 Caracterização clínico-epidemiológica dos pacientes avaliados no estudo .....	53
3.5 Aspectos éticos.....	58
4. RESULTADOS .....	59
5. DISCUSSÃO.....	88
6. CONCLUSÕES.....	111
7. ANEXOS.....	112
8. REFERÊNCIAS .....	126

## Lista de figuras

<b>Figura 1 – Cronologia da descoberta dos vírus respiratórios .....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 2- Fluxograma para investigação viral.....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 3 - Descrição esquemática do 1º “round” da PCR para adenovírus pesquisados nos pacientes internados na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>41</b>
<b>Figura 4 - Descrição esquemática do 2º “round” da PCR para adenovírus pesquisados nos pacientes internados na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 5 - Distribuição percentual dos diagnósticos principais dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP, segundo a CID 10 - 2003 a 2004.....</b>	<b>54</b>
<b>Figura 6 – Distribuição sazonal dos vírus respiratórios dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>61</b>
<b>Figura 7 – Distribuição sazonal dos vírus respiratórios dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica .....</b>	<b>61</b>
<b>Figura 8 – Registro fotográfico da leitura por microscópio de fluorescência de amostra positiva pela IFD para o vírus da Influenza A - HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>64</b>
<b>Figura 9 – Registro fotográfico da leitura por microscópio de fluorescência de amostra positiva pela IFD para o VRS – HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>64</b>

<b>Figura 10 – Registro fotográfico da leitura por microscópio de fluorescência de amostra positiva pela IFD para o vírus Parainfluenza – HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>65</b>
<b>Figura 11 – Registro fotográfico dos produtos de amplificação da PCR para VRS das amostras clínicas dos pacientes 201 e 220 e dos controles da reação - HCFMUSP - 2003 a 2004 .....</b>	<b>67</b>
<b>Figura 12 - Sazonalidade do VRS por localidade .....</b>	<b>108</b>

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1 - Classificação, ano de primeiro diagnóstico em humanos e período de incubação da infecção em Humanos do Rinovírus, Coronavírus (229E e OC43), vírus da Influenza, VRS, adenovírus, vírus Parainfluenza.....</b>	<b>13</b>
<b>Tabela 2 - Classificação, ano de primeiro diagnóstico em humanos e período de incubação da infecção em humanos dos vírus respiratórios recém-descobertos.....</b>	<b>21</b>
<b>Tabela 4 - Fatores preditivos avaliados na análise univariada para cada desfecho clínico-laboratorial dos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica – HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>50</b>
<b>Tabela 5 – Classificação e distribuição quanto ao diagnóstico sintromico dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>55</b>
<b>Tabela 6 - Tipo de imunossupressão em 13 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 .....</b>	<b>56</b>
<b>Tabela 7 – Característica clínico-epidemiológicas dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP – 2003 a 2004.....</b>	<b>57</b>
<b>Tabela 8 – Relação percentual de PCR realizado, positividade e prevalência (%) para cada vírus entre os 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 .</b>	<b>66</b>

<b>Tabela 9 - Caracterização dos pacientes com identificação de coronavírus em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>68</b>
<b>Tabela 10 - Caracterização dos pacientes com identificação de adenovírus em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>69</b>
<b>Tabela 11 - Caracterização dos pacientes com identificação de rinovírus em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>70</b>
<b>Tabela 12 - Caracterização dos pacientes com identificação do vírus da Influenza A em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>72</b>
<b>Tabela 13 - Caracterização dos pacientes com identificação de Vírus Respiratórios Sincicial, vírus da Parainfluenza e Metapneumovírus em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>73</b>
<b>Tabela 14 - Caracterização dos pacientes com identificação de múltiplos vírus respiratórios em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>74</b>
<b>Tabela 15 – Sumário da análise univariada de fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>77</b>

<b>Tabela 16 - Sumário da análise de fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios, através da regressão logística, dos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>81</b>
<b>Tabela 17 - Sumário da análise univariada e multivariada de fatores relacionados à ventilação mecânica invasiva, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>82</b>
<b>Tabela 18 - Sumário da análise univariada e multivariada de fatores de risco para óbito, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004.....</b>	<b>85</b>



## Lista de símbolos

$\mu\text{g/ml}$	micrograma por mililitro
$\mu\text{l}$	microlitro
<	menor que
>	maior que
bpm	batimentos por minuto
l/min	litros por minuto
mEq/l	miliequivalentes por litro
mg/dl	miligrama por litro
ml	mililitro
ml/Kg	mililitro por quilograma
mm	milímetro
$\text{mm}^3$	milímetro cúbico
mmHg	milímetro de mercúrio
nm	nanômetro
$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
Rpm	respiração por minuto
rpm	rotações por minuto
Vol/min	volume por minuto
cm	centímetros
ml	mililitro

## Lista de siglas e abreviaturas

ABVD	esquema quimioterápico composto pela associação de Adriamicina, Bleomicina, Vimblastina e Dacarbazina
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)
APACHE	<i>Acute Physiologic And Chronic Health Evaluation</i>
BiPAP	<i>Bilevel Positive Airway Pressure</i>
CD4	linfócitos T CD4+
cDNA	<i>Complementary deoxyribonucleic acid</i> (cadeia complementar de DNA)
células HEP2	<i>Human EPidermoid larynx carcinoma</i> (células epidermóides de carcinoma de laringe)
CHOP	esquema quimioterápico composto pela associação de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona
CID 10	Classificação Internacional da Doença (10 <sup>a</sup> versão)
DEPC	dietilpirocarbonato
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (Ácido desoxirribonucléico)
dNTP	deoxinucleotídeo trifosfato
dp	desvio-padrão
DPOC	doença pulmonar obstrutiva crônica
DTT	dithiotreitol

EDTA	<i>Ethylenediaminetetracetic acid</i> (Ácido etilenodiamino tetra-acético)
EIA	<i>enzyme immunoassay</i> (técnica de ensaio imunoenzimático)
ELISA	<i>Enzyme linked immunosorbent assay</i>
FiO <sub>2</sub>	fração de oxigênio inspirada
FLU A	vírus da Influenza A
FLU B	vírus da Influenza B
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IC 95%	intervalo de confiança de 95%
ICS	infecções de corrente sanguínea
IFD	imunofluorescência direta
IMTSP	Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
LBA	lavado bronco-alveolar
LNF	lavado nasofaríngeo
LLC-MK2	Rhesus Monkey Kidney Epithelial Cells
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney Epithelial Cells
MPVh	Metapneumovírus humano
P(A-a)O <sub>2</sub>	gradiente alvéolo-arterial de oxigênio
PaO <sub>2</sub>	pressão arterial de oxigênio
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i> (solução salina tamponada fosfatada)

PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (reação em cadeia pela polimerase)
Relação $PO_2/FiO_2$	relação da pressão arterial de oxigênio pela fração de oxigênio inspirada
RNA	Ácido ribonucléico
SARS	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i> (Síndrome Respiratória Aguda Grave)
SARS-CoV	SARS-coronavirus
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VRS	Vírus Respiratório Sincial

## Resumo

Silva AR. *Análise prospectiva das infecções por vírus respiratórios em adultos internados em unidade de terapia intensiva* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2008. 147p.

**INTRODUÇÃO:** As infecções respiratórias agudas de etiologia viral são um fator de morbimortalidade em todo o mundo. Devido a novas epidemias por vírus respiratórios e avanços no diagnóstico, em especial, com técnicas moleculares, novos agentes têm sido identificados nos últimos anos. Os vírus respiratórios (VR) são responsáveis por cerca de 5% das infecções nosocomiais. Em adultos internados em Unidade de Terapia Intensiva a presença de infecção por vírus respiratórios é reportada em poucas publicações. Os objetivos deste estudo foram avaliar a prevalência de infecções por vírus respiratórios em pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva, a frequência de infecções virais de origem nosocomial, os fatores de risco associados e seu impacto na morbimortalidade destes pacientes. **MÉTODOS:** No período de maio de 2003 a junho de 2004, amostras de lavado de nasofaringe foram coletadas de pacientes internados em unidade de terapia intensiva do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, independentemente de sintomas respiratórios. O diagnóstico de vírus respiratórios (Vírus Respiratório Sincicial, vírus da Influenza A e B, parainfluenza, adenovírus, rinovírus, coronavírus e metapneumovírus) foi feito pelas técnicas de imunofluorescência direta e reação em cadeia pela polimerase. Dados

clínico-epidemiológicos foram prospectivamente coletados em ficha específica. RESULTADOS: Foram avaliados pacientes em 228 internações, sendo o diagnóstico de 57 infecções por vírus respiratórios estabelecido em cinquenta e duas admissões (23%). Rinovírus foi diagnosticado em 22 casos, coronavírus em 15, adenovirus em sete, influenza A em seis, vírus sincicial respiratório em cinco, Parainfluenza em um e metapneumovirus em um caso. Trinta e quatro episódios (59,6%) de infecções virais foram considerados de origem nosocomial. Foram investigados os fatores de risco associados à ocorrência de infecções por VR, à necessidade de ventilação mecânica e ao óbito na UTI. Na análise univariada a ocorrência de infecção por vírus respiratório associou-se à presença de quadro respiratório à admissão na UTI, à presença de co-morbidades (hipertensão arterial sistêmica e AIDS), à gravidade do quadro clínico admissional definido pelo valor de APACHE e ao uso de ventilação mecânica invasiva. Na análise multivariada, através de regressão logística, as variáveis que permaneceram significativamente associadas a ocorrência de infecção por VR foram a idade (OR 0,96), a hipertensão arterial (OR 3,95), a presença de quadros respiratórios à admissão na UTI (OR 2,22) e o valor de APACHE (OR 1,06). Os fatores de risco associados à necessidade de ventilação mecânica invasiva foram as infecções por vírus respiratórios (OR 1,98), o tempo de internação na UTI (OR 1,16), e valor do APACHE (OR 1,07). Os fatores de risco para óbito nesta série foram doença cardíaca ou neoplasia, infecções fúngicas, uso de ventilação mecânica, e o valor de APACHE na admissão. Não houve associação entre o diagnóstico de infecção por vírus respiratórios

e a ocorrência de óbito ( $p=0,118$ ). CONCLUSÃO: As infecções virais respiratórias foram freqüentes em pacientes adultos internados em Unidade de Terapia Intensiva, sendo a maioria de origem nosocomial. Os pacientes com diagnóstico de infecção por vírus respiratórios tiveram maior necessidade de ventilação mecânica nesta série. O diagnóstico das viroses respiratórias deveria ser insistentemente buscado em pacientes com quadros respiratórios à admissão para que medidas de controle da transmissão nosocomial fossem implementadas. A associação com hipertensão arterial mereceria ser objeto de novos estudos.

Descritores: 1. Infecções respiratórias 2.Unidades de terapia intensiva 3.Prevalência 4.Fatores de risco 5.Adulto

## Summary

Silva AR. *Prospective analysis of respiratory virus infections in adult ICU patients* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2008. 147p.

INTRODUCTION: Acute respiratory infections of viral etiology are a factor of morbidity and mortality in the all world. Advances in the diagnosis, in special, with molecular techniques, new agents have been identified in the last years. Respiratory viruses (RV) are responsible for about 5% of the nosocomial infections. Few studies have addressed the incidence, morbidity and mortality of viral respiratory infection in adults admitted in Intensive Care Units (ICU). We evaluated the prevalence of viral respiratory infections in ICU adult patients, the ratio of these infections that were of nosocomial origin, the risk factors and the impact of viral respiratory infections in the morbidity and mortality of these patients. METHODS: From May 2003 to June 2004, nasopharyngeal aspirates were taken twice a week, irrespective of respiratory symptoms, from 228 patients admitted at the ICU of the Hospital of Clinics, Faculty of Medical Sciences, University of São Paulo. Respiratory viruses (Respiratory Syncytial Virus, influenza virus, parainfluenza virus, adenovirus, rhinovirus, coronaviruses and metapneumovirus) were diagnosed by direct immunofluorescent assay (DFA) or polymerase chain reaction. (PCR). Medical and epidemiological data were prospectively collected. RESULTS: Fifty seven RV was diagnosed in 52 of the 228 ICU admissions (23%). Rhinovirus was the RV more frequently diagnosed (22



cases), followed by Coronaviruses (15 cases), Adenoviruses (7 cases), Influenza A viruses (6 cases), Respiratory Syncytial Virus (5 cases), Parainfluenza virus (one case) and Metapneumovirus (one case). Thirty and four episodes (59.6%) were considered of nosocomial origin. We evaluated the risk factors associated with the occurrence of RV infections, the need of invasive mechanical ventilation and death at the ICU. Univariate analysis showed that RV infections were associated with respiratory tract involvement at admission, some comorbidities (arterial hypertension and AIDS), to APACHE score at admission, and to the need of invasive mechanical ventilation. In multivariate analysis, age (OR 0.96), arterial hypertension (OR 3.95), respiratory tract involvement at admission (OR 2.22) and APACHE value (OR 1.06) were significantly associated with the occurrence of RV infection. Risk factors associated with the need of invasive mechanical ventilation were RV infections (OR 1.98), longer time at the ICU (OR 1.16) and APACHE value (OR 1.07). Death at the ICU was significantly associated with heart disease or neoplasia, fungal infection, mechanical ventilation and APACHE value. RV infection was not associated with ICU death ( $p=0.118$ ).

**CONCLUSIONS:** Respiratory Virus infections were frequent in adult ICU patients in the present series; the majority of them were of nosocomial origin. Patients with RV infections were more likely to need mechanical ventilation during ICU admission. Diagnosis of RV infections should be included in the diagnostic assessment of ICU patients, especially those with respiratory tract involvement at admission. This policy will certainly favor the implementation

of preventive measures to control nosocomial transmission. The association with arterial hypertension deserves further studies.

Descriptors: 1-Respiratory infections 3-Intensive care units 4-Prevalence 5-Risk factors 6-Adult

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Impacto geral das infecções virais respiratórias

Descrita desde a antiguidade por egípcios, chineses e gregos, as infecções respiratórias agudas (IRA) representam um importante fator de **morbimortalidade** em todo o mundo e estão entre os principais fatores contribuidores de **absenteísmo** no trabalho e na escola<sup>1-9</sup>.

Dentre as possíveis etiologias para as IRA, os vírus respiratórios ocupam um papel de destaque, conforme verificado desde a década de 20 em diferentes estudos epidemiológicos, dentre os quais destacam-se: “The Cleveland family study”<sup>\*</sup>, “Tecumseh Study”, “New York Virus Watch”<sup>†</sup> e “Seattle Virus Watch”<sup>‡</sup>.<sup>10-12</sup>

Estudos mais recentes têm avaliado a presença de vírus respiratórios, com maior frequência, em indivíduos que procuram assistência médica devido a sintomas respiratórios. Boivin et al.<sup>13</sup>, avaliaram aspirados nasofaríngeos de crianças com idade inferior a três anos, independente do diagnóstico de IRA e, não observaram nenhum vírus nas amostras coletadas

---

<sup>\*</sup> Badger GF; Dingle JH; Feller AE; Hodges RG; Jordan WSJr; Rammelkamp CHJr. A study of illness in a group o Cleveland families. II. Incidence of common respiratory disease. Am J Hyg. 1953;58:31-40 apud Monto<sup>10</sup> p.5S.

<sup>†</sup> Spigland I, Fox JP, Elveback LR, Wassermann FE, Ketler A, Brandt CD, Kogon A. The Virus Watch program: a continuing surveillance of viral infections in metropolitan New York families. II. Laboratory methods and preliminary report on infections revealed by virus isolation. Am J Epidemiol. 1966;83(3):413-35 apud Monto<sup>11</sup>

<sup>‡</sup> Fox JP; Hall CE; Cooney MK; Luce RE; Kronmal RA. The Seattle virus watch. II. Objectives, study population and its observation, data processing and summary of illnesses. Am J Epidemiol. 1972;96(4):270-85 apud Monto<sup>11</sup>

dos 51 indivíduos controles. Entretanto, nos pacientes com sintomas de infecção respiratória o diagnóstico de infecção viral foi estabelecido em 79% dos casos. Do mesmo modo, Artilles-Campelo et al.<sup>14</sup> detectaram algum vírus respiratório em 60% das crianças menores que 14 anos atendidas com o diagnóstico de IRA.

No Reino Unido, um estudo de vigilância de infecção por vírus respiratórios, realizado em adultos admitidos em quatro hospitais distintos com sintomas respiratórios, verificou que 60% dos pacientes possuía idade superior a 65 anos e que esta faixa etária correspondia a 68% dos pacientes com etiologia viral confirmada, demonstrando a elevada frequência de infecções respiratórias virais entre idosos<sup>15</sup>.

As infecções virais do trato respiratório inferior foram também verificadas por Lieberman e colaboradores<sup>16</sup> em 39% (52/133) dos pacientes com mais de 65 anos, internados com quadro não-pneumônico, havendo um predomínio de casos de Influenza A e Parainfluenza tipo 3. Os vírus respiratórios também têm sido associados a descompensação clínica de outras doenças. Deste modo, 18% dos pacientes com idade igual ou superior a 65 anos de idade admitidos em um hospital em Rochester, Nova Iorque, devido a quadros de descompensação clínica de doenças cardiopulmonares (pneumonia, bronquite, exacerbação de doença pulmonar aguda crônica ou insuficiência cardíaca congestiva) tiveram o diagnóstico confirmado de infecção pelo vírus da influenza A.<sup>17</sup>

A morbimortalidade dos vírus respiratórios atinge números expressivos em todos os continentes. Somente o vírus da Influenza, segundo estimativas

da Organização Mundial de Saúde (OMS), é responsável, em períodos interpandêmicos, por um bilhão de casos de infecção viral, resultando em 300.000–500.000 óbitos a cada ano. Embora menos prevalente, o vírus respiratório sincicial (VRS) é responsável por 64 milhões de casos em todo o mundo, resultando em cerca de 160.000 óbitos anualmente<sup>§</sup>.

O vírus respiratório sincicial (VRS) tem sido associado como causa freqüente de internação hospitalar de crianças previamente híginas que procuram atendimento em serviço de emergência. Por outro lado, o vírus da Influenza apresenta-se relacionado ao maior número de visitas médicas, uso de medicamentos antitérmicos, uma maior incidência de casos em parentes e, conseqüentemente, a um maior absenteísmo no trabalho e na escola.<sup>18</sup>

Na Europa, a gripe é responsável por cerca de 10% do absenteísmo por motivos de saúde, o que, em média, corresponde ausência por 1,5 dias ao trabalho a cada episódio de Influenza<sup>8;19-21</sup>.

Como medida eficaz, a vacinação contra Influenza tem demonstrado custo-efetividade na redução dos episódios de infecção respiratória e, conseqüentemente, redução no número de consultas médicas e absenteísmo ao trabalho<sup>22-24</sup>. Em adultos jovens a vacina tem demonstrado níveis de proteção de 70-90% e em idosos, embora menor, a proteção tem sido constatada pela redução na hospitalização e na morbimortalidade deste grupo<sup>25</sup>. Apesar da indicação de vacinação anual, estudos têm confirmado uma baixa cobertura vacinal contra Influenza em idosos (63%)<sup>26</sup> e entre os profissionais de saúde (20-34%)<sup>27-33</sup>.

---

<sup>§</sup> [http://www.who.int/vaccine\\_research/diseases/ari/en/index.html](http://www.who.int/vaccine_research/diseases/ari/en/index.html) (consultado em 12/06/07)

Outros fatos históricos que ressaltam a importância dos vírus respiratórios são: as grandes **pandemias de Influenza**, com prejuízos sócio-econômicos em diferentes nações; a elevada taxa de letalidade da recente **epidemia da SARS** (*Severe Acute Respiratory Syndrome*) que em poucos meses atingiu diferentes países e a ameaça real de infecção e óbitos em humanos ocasionadas pelo vírus da **Influenza aviária**<sup>11;34-37</sup>.

### **Pandemias de Influenza**

A primeira descrição convincente de epidemia da gripe ocorreu em 1173-74, porém, foram os estudos sobre o comportamento da doença no século XVI que permitiram, de fato, a observação do padrão cíclico das infecções e seu elevado índice de mortalidade. Segundo interpretações históricas, no século XVI ocorreram três epidemias de gripe e a doença alastrou-se pela Ásia, África e Europa atingindo, posteriormente, o continente americano e, originando o conceito de pandemia. Em 1729 uma nova pandemia iniciou-se na Rússia e, após um intervalo de 40 anos, a China foi berço da 2ª pandemia do século XVIII. A primeira pandemia global, no entanto, ocorreu em 1889, resultando em 300 mil óbitos em todos os continentes<sup>4</sup>.

No século XX, as pandemias do vírus da Influenza resultaram em um número de mortes superior ao das vítimas das duas Guerras Mundiais. Somente a Gripe Espanhola (1918) atingiu 50% da população mundial na

época, tendo seu impacto sócio-econômico verificado em diversas nações<sup>4;38</sup>.

Apesar de registros históricos de longa data sobre epidemias, causadas provavelmente pelo vírus da Influenza, este vírus foi isolado em humanos somente em 1933 por Smith, Andrews e Laidlaw\*\* apud Schmidt et al<sup>39</sup>.

## **SARS**

Descrito inicialmente em 2003, na cidade de Hong Kong, a Síndrome respiratória aguda grave – SRAG (*Severe acute respiratory syndrome - SARS*) teve início em casos ocorridos em Novembro de 2002, na província chinesa de Guangdong. Em menos que um ano (novembro/2002 a julho/2003), houve a disseminação desta doença em 30 países, totalizando 8096 casos prováveis. A letalidade, em média, foi de 10% dos casos, porém oscilou entre 7-17%, sendo maior no Canadá. Os principais fatores relacionados à mortalidade foram idade superior aos 60 anos, diabetes mellitus e cardiopatia. Diante da ameaça global de um vírus com capacidade de rápida disseminação e com elevada letalidade, uma cooperação científica internacional permitiu a identificação do agente viral (SARS- coronavírus) e o controle da epidemia em um curto espaço de tempo<sup>37;40;41</sup>.

---

\*\* Smith W, Andrews CH, Laidlaw PP. A virus obtained from influenza patients. Lancet 1933; ii:66-68 apud Schmidt AC, Couch RB, Galasso GJ, Hayden FG, Mills J, Murphy BR et al. Current research on respiratory viral infections: Third International Symposium. Antiviral Res 2001; 50(3):158.

## **Gripe aviária**

Os primeiros casos humanos de infecção pelo vírus da Influenza aviária (H5N1) foram registrados em 1997, incluindo seis pacientes que evoluíram a óbito. Como medida efetiva para o controle da epidemia houve o extermínio de milhares de galinhas na região asiática.

Após seis anos de trégua, a epidemia ressurgiu no Sudeste Asiático com novos casos humanos, estendendo-se a partir de 2005 para a Ásia Central, Europa, África e Oriente Médio. No período de 2003 a 2006 foram registrados pela OMS 205 casos humanos confirmados laboratorialmente e 113 óbitos em nove países. Surtos de infecção pelo vírus da Influenza (H5N1) foram verificadas em aves domésticas e selvagens em 50 nações no mesmo período, determinando a adoção de medidas por diversos governos, para a prevenção e controle da próxima pandemia da gripe<sup>36</sup>.

### **1.2 Vírus respiratórios – velhos conhecidos**

Em adultos hígidos, as infecções respiratórias agudas de etiologia viral limitam-se geralmente ao trato respiratório superior, sendo os rinovírus e os coronavírus os agentes etiológicos mais frequentes<sup>11;42;43</sup>. Alguns estudos, no entanto, demonstraram a magnitude destas infecções também no trato



respiratório inferior, evidenciando os vírus como responsáveis por 5% a 34% das pneumonias comunitárias, sendo o vírus da Influenza o agente viral mais comum nestes casos<sup>44-46</sup>.

## Rinovírus

A incidência de **rinovírus** foi estimada por Gwaltney<sup>††</sup> apud Arruda et al.<sup>42</sup>, em um caso por pessoa a cada ano, em países de clima temperado. No entanto, sua distribuição não é homogênea ao longo do ano havendo uma maior frequência durante os meses de outono no hemisfério norte. Neste sentido, Arruda et al.<sup>42</sup> avaliaram a prevalência de infecção por rinovírus em 346 indivíduos com sintomas de resfriado na cidade de Virgínia (EUA), nos meses de setembro e outubro de 1994. A infecção viral foi diagnosticada em 80% dos pacientes, sendo que em 65% destes foi feita por isolamento em culturas (224/346). As amostras negativas foram submetidas a análise por técnica molecular, havendo positividade em 46% (52/114) das amostras previamente negativas<sup>42</sup>. Do mesmo modo, a utilização da reação em cadeia pela polimerase (PCR) permitiu o diagnóstico de rinovírus em 38% dos profissionais de saúde com sintomas respiratórios e resultado prévio negativo de imunofluorescência direta para os VRS, Influenza e Parainfluenza

33 .

---

<sup>††</sup> Gwaltney JM, Jr. Rhinoviruses. In Evans, AS. Viral infections of human. New York: Plenum Medical Book Co.; 1989. p.593-615 apud Arruda E, Pitkaranta A, Witek TJ, Jr., Doyle CA, Hayden FG. Frequency and natural history of rhinovirus infections in adults during autumn. J Clin Microbiol 1997; 35(11):p2864.

O rinovírus também pode resultar em infecção no trato respiratório inferior, causando bronquiolite em crianças, exacerbação da DPOC em adultos e pneumonia em idosos<sup>47-52</sup>. Em idosos, a infecção por rinovírus está associada a sintomas do trato respiratório inferior em até 65% dos casos<sup>53;54</sup>.

## **Coronavírus**

Os **coronavírus** humanos (subtipos 229E e OC43), apesar de causarem cerca de 30% dos resfriados comuns, não são associados a doenças graves<sup>55</sup>. Isto já havia sido observado por Drews e colaboradores<sup>56</sup> que questionavam a patogenicidade destes vírus, uma vez que os mesmos eram freqüentemente encontrados em co-infecções e, raramente, como agentes únicos. No entanto, a descoberta do subtipo SARS-coronavírus demonstrou sua capacidade de causar quadros graves de pneumonia e insuficiência respiratória com elevada taxa de letalidade.<sup>37;56</sup>

## **Influenza**

O **vírus da Influenza** é facilmente transmitido, pois após aerolização permanece com infectividade por até 24 horas em temperatura ambiente e sob condições de baixa umidade relativa do ar. Além disso, em superfícies não porosas mantém sua infectividade por 24-48 horas e, na superfície das mãos contaminadas, por até 5 minutos.<sup>57;58</sup> Outro fator que contribui para a

ocorrência das epidemias é o fato da excreção do vírus da Influenza A poder iniciar-se um dia antes do início dos sintomas e ter duração variável dependendo da idade e estado imunológico do indivíduo infectado, podendo atingir um tempo de excreção maior que sete dias em idosos.<sup>59</sup> O período de incubação do vírus da Influenza é bastante curto (1 a 4 dias).<sup>60</sup>

Durante os períodos de epidemia, o vírus da **Influenza** está associado com altas taxas de pneumonia e hospitalizações<sup>25</sup>. Em uma revisão de 139 pacientes adultos admitidos em um hospital americano com sintomas respiratórios, Oliveira et al.<sup>61</sup> verificaram que um quarto apresentava o diagnóstico de Influenza, sendo que a metade destes havia desenvolvido pneumonia.<sup>61</sup>

Até mesmo em crianças a infecção pelo vírus da Influenza está associada à mortalidade. No período de outubro de 2003 a abril de 2004 foram registrados 153 óbitos infantis nos Estados Unidos devido a este vírus. Resultados de culturas bacterianas foram reportados em 67% (102/153) destas crianças, sendo observada co-infecção viral-bacteriana em 24 casos (23,5%). O *Staphylococcus aureus* foi diagnosticado em 46% dos casos co-infectados<sup>62</sup>. Tem-se observado, também, um aumento na incidência de pneumonias bacterianas após epidemias e pandemias de influenza. Outras associações descritas são a infecção pelo VRS e por algumas bactérias (*Hemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis*, *Neisseria meningitidis* e *Staphylococcus aureus*)<sup>39;62</sup>.

## Vírus Respiratório Sincicial

Transmitido experimentalmente com maior facilidade pela inoculação nos olhos e nariz, o **Vírus Respiratório Sincicial (VRS)** apresenta um período de excreção viral de 3 a 7 dias, dependendo do tamanho do inóculo, o que também determinará a intensidade e duração dos sintomas.<sup>63</sup> Em média, o VRS mantém sua infectividade por 30 minutos na superfície das mãos, por 2 horas em roupas de algodão e pelo menos de 6 a 12 horas em superfícies duras como bancadas ou estetoscópios.<sup>64;65</sup>

O **VRS** é o agente infeccioso mais descrito como etiologia das infecções de vias aéreas em crianças havendo evidências, em inquéritos soroepidemiológicos, da presença de altos níveis de anticorpos específicos naqueles com idade superior a cinco anos<sup>66;67</sup> Pela maior circulação deste vírus nos Estados Unidos estima-se que pelo menos 50% das crianças sejam infectadas durante a primeira estação de VRS, atingindo virtualmente todas as crianças até os 2 anos de idade.<sup>68</sup> Estudos brasileiros, em diferentes cidades, têm demonstrado uma variação na prevalência de infecção por VRS em crianças com episódios de doença respiratória de 11% na cidade de São Paulo/SP a 55% em Aracaju/SE<sup>67;69-72</sup>.

O número de pacientes adultos com infecção por VRS em coorte prospectiva foi aproximadamente duas vezes maior do que aqueles infectados pelo vírus da Influenza A, sendo maior no grupo com indivíduos classificados como alto risco (cardiopatas ou pneumopatas).<sup>73</sup>

Em pacientes idosos, o VRS tem sido relacionado como agente etiológico em 5% das infecções respiratórias agudas, ocorrendo pneumonia como complicação entre 10-55% dos casos e uma mortalidade associada de 60 a 80%, sendo maior que a mortalidade atribuída ao vírus da Influenza<sup>74;75</sup>.

## **Adenovírus**

Os **adenovírus** respondem por cerca de 5% das infecções respiratórias endêmicas em crianças, sendo os sorotipos 1, 2, 3, 5 e 6 os mais freqüentes. No entanto, os sorotipos 4 e 7 acarretam epidemias respiratórias tanto em crianças quanto nos adultos<sup>76</sup>. Na última década, o **adenovírus**, ressurgiu como principal agente etiológico de doença respiratória febril entre recrutas militares americanos<sup>39</sup>. Em 1995, ocorreu um surto de infecção pelo adenovírus em uma clínica psiquiátrica norte-americana havendo evidência radiológica de pneumonia em 75% dos 24 casos de infecção registrada em pacientes e funcionários naquela instituição.<sup>77</sup>

## Parainfluenza

Os vírus da **Parainfluenza** (PIV) são classificados em quatro sorotipos (PIV1, PIV2, PIV3 e PIV4), sendo menos conhecido o papel do PIV4. Os PIV têm sido identificados em 5% a 30% das internações devido às infecções respiratórias agudas.<sup>78-82</sup>

Durante a sessão de Influenza em 2004 no Chile, os vírus da Parainfluenza 2 e 3 corresponderam à etiologia de infecção viral respiratória em 16,9% dos indivíduos adultos com algum vírus identificado. Este resultado demonstrou nesta série, que o Parainfluenza representava a terceira causa de infecção viral permanecendo atrás apenas do vírus da Influenza A e B.<sup>83</sup>

Com frequência similar, as infecções pelo vírus Parainfluenza foram laboratorialmente confirmadas em 17% das crianças internadas em um hospital infantil norte-americano. No mesmo período, o VRS foi o mais predominante no grupo avaliado (58%), seguido do vírus da Influenza (21%).<sup>81</sup>

Na Tabela 1 são descritos informações sobre a taxonomia, ano de primeiro diagnóstico em humanos e período incubação da infecção dos vírus respiratórios em humanos.

**Tabela 1 - Classificação, ano de primeiro diagnóstico em humanos e período de incubação da infecção em Humanos do Rinovírus, Coronavírus (229E e OC43), vírus da Influenza, VRS, adenovírus, vírus Parainfluenza**

VÍRUS	GÊNERO	FAMÍLIA	ANO DO 1º DIAGNÓSTICO	PERÍODO DE INCUBAÇÃO
Rinovírus	<i>Rhinovirus</i>	<i>Picornaviridae</i>	1956	1-4 dias <sup>††</sup>
Coronavírus 229E Coronavírus OC43	<i>Coronavírus</i>	<i>Coronaviridae</i>	1965 1966	3 dias <sup>§§</sup>
Influenza	<i>Influenzavirus A</i> <i>Influenzavirus B</i>	<i>Orthomyxoviridae</i>	1933	1-4 dias <sup>39;60</sup>
VRS	<i>Pneumovirus</i>	<i>Paramyxoviridae</i>	1956	2-8 dias <sup>85-87</sup>
Adenovírus	<i>Mastadenovirus</i>	<i>Adenoviridae</i>	1953	2-14 dias <sup>87;88</sup>
Parainfluenza	<i>Respirovirus</i> (PIV 1 e 3) <i>Rubulavirus</i> (PIV 2 e 4)	<i>Paramyxoviridae</i>	1959	2-6 dias <sup>80;87</sup>

Adaptado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>

<sup>††</sup> Douglas RG Jr, Cate TR, Gerone JP, et al. Quantitative rhinovirus shedding patterns in volunteers. *Am Rev Respir Dis* 1966;94:159–167 apud Couch<sup>84</sup>.

<sup>§§</sup> Hunt R. Coronaviruses, colds and SARS. In: Microbiology and Immunology [online]. University of South Carolina School of Medicine. [citado 20 jun 2007]. Disponível em <http://pathmicro.med.sc.edu/virol/coronaviruses.htm>

### 1.3 Técnicas diagnósticas

O diagnóstico viral adequado depende de diferentes fatores incluindo a **sensibilidade da técnica** empregada para cada vírus, o **tipo de amostra** avaliada e fatores relacionados ao indivíduo (**idade e presença de comorbidades**).

Estudos virológicos conduzidos nas décadas de 50 e 60, utilizando isolamento viral em cultura de células, significaram um marco na etiologia das infecções respiratórias naquela ocasião. Nas décadas seguintes novas metodologias utilizando conhecimentos imunológicos (imunofluorescência, ELISA) foram evidenciando outros patógenos<sup>89-91</sup>.

Desde então, o diagnóstico laboratorial das infecções virais vem sendo constantemente aprimorado e, como resultado desta evolução, novos patógenos respiratórios são descobertos. Este aprimoramento laboratorial também permitiu uma maior sensibilidade na detecção dos vírus responsáveis pelas infecções respiratórias agudas de 22-30% na década de 60 para sessenta e nove por cento (69%) ao final da década de 90<sup>11;43;92</sup>.

Diversos estudos têm demonstrado a maior sensibilidade da reação em cadeia pela polimerase (PCR) para o diagnóstico de vírus respiratórios, quando comparado a outros métodos diagnósticos como culturas e imunofluorescência<sup>93-98;98-100</sup>.

Henrickson et al.<sup>81</sup> verificaram maior positividade no diagnóstico de etiologia viral com o uso de técnica molecular em crianças. O diagnóstico de



vírus respiratórios ocorreu em 26% dos cultivos celulares, 32% pela técnica de ensaio imunoenzimático (EIA) e 43% com uso da PCR<sup>81</sup>. Diferença ainda maior foi observada no estudo de 47 lavados bronco-alveolares de 41 pacientes com pneumonia, admitidos em uma UTI de um hospital parisiense, no qual se observou sensibilidade da PCR de 30% quando comparado com a imunofluorescência (IF) que foi de 2%<sup>101</sup>.

A PCR também permitiu um aperfeiçoamento na identificação de infecção viral, associada a casos de exacerbação da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). Houve um acréscimo no diagnóstico da etiologia viral de 23% quando se utilizava cultura e sorologia para 42% com o uso da PCR<sup>102</sup>.

Experimentalmente, em indivíduos previamente hígidos, a inoculação de **VRS** foi detectada em 43% dos indivíduos pela PCR e 34% por cultura, ratificando uma maior sensibilidade da PCR<sup>103</sup>. No entanto, um estudo prévio demonstrou uma diferença ainda maior entre as técnicas, com uma sensibilidade da PCR de 73% e da cultura de 39%. Apesar disso, a PCR foi menos sensível que o estudo sorológico<sup>104</sup>.

Bosso et al.<sup>105</sup> ao avaliarem a prevalência de VRS, em crianças atendidas em uma unidade hospitalar com sintomas respiratórios, não observaram diferença nos resultados obtidos pelas técnicas de imunofluorescência indireta e PCR. Ambas técnicas diagnosticaram a infecção pelo VRS em 15 amostras<sup>105</sup>. Recentemente, Reis<sup>71</sup> ratificou em nosso laboratório a superioridade da técnica molecular, observando uma

sensibilidade de 97% para a PCR, seguida da IFD (69%) e do isolamento viral (57%) em amostras respiratórias de lactentes<sup>71</sup>.

Estudos iniciais com PCR para **rinovírus** mostraram uma menor sensibilidade (93%) quando comparado ao cultivo celular. No entanto, com o aprimoramento da técnica molecular, observou-se um acréscimo de 15 a 28% no diagnóstico. Nicholson et al. relataram previamente uma diferença ainda maior na sensibilidade das duas técnicas, com o aumento na prevalência de rinovírus de 8% para 33% com uso da PCR.<sup>42;43;51;106</sup>

Morris et al.<sup>76</sup>, avaliando 93 amostras clínicas (76 swabs de orofaringe e 17 aspirados de nasofaringe) de pacientes com suspeitas de infecções respiratórias virais, observaram uma sensibilidade de 76% e uma especificidade de 100% para o método de PCR para **adenovírus** quando comparado com o cultivo viral. A sensibilidade da PCR foi maior para o subgênero C. Deste modo, a sensibilidade subia para 93% quando se avaliava somente o subgênero C (tipos 1, 2, 5 e 6) e havia declínio para 50% quando se considerava o diagnóstico dos adenovírus (ADV) do subgênero B (tipos 3 e 7). Em 2003, Mitchel et al.<sup>100</sup> aplicando *nested-PCR*, com alterações de duas seqüências de “*primers*” e ajustes na reação, ratificaram a maior sensibilidade (100%) e uma boa especificidade (91%) da técnica molecular quando comparada à cultura (98% e 99%) e imunofluorescência (72% e 97%), respectivamente<sup>100</sup>.

Atualmente, a técnica preferencial para a pesquisa de vírus respiratórios tem sido a reação em cadeia pela polimerase em tempo real, denominada *Real-time* PCR. Ela se destaca pela manutenção da

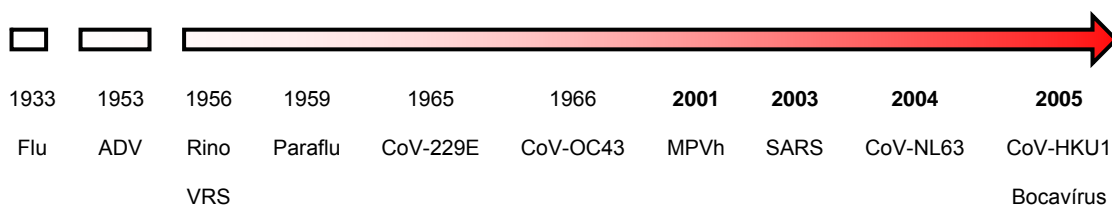
sensibilidade da técnica molecular convencional, porém, com maior agilidade na obtenção dos resultados. Kuypersj e colaboradores, avaliando 1138 amostras respiratórias, observaram uma sensibilidade de 53% com o *real time* PCR e de 38% com a imunofluorescência ( $p < 0,001$ ). Ambas técnicas avaliaram os mesmos vírus respiratórios, com exceção do metapneumovírus humano (MPVh) avaliado somente pela PCR (58 casos). A inadequação para realização de IF de 52 amostras, pela ausência de células, não impediu o diagnóstico viral pela técnica da PCR em 13 destas mesmas amostras (25%)<sup>99</sup>.

O tipo de amostra coletada também está relacionado com o resultado diagnóstico. Em geral, tem sido observado maior sensibilidade das técnicas empregadas quando a amostra corresponde a espécimes de vias aéreas superiores como lavado ou swab nasal e não decorrentes de aspirados traqueal ou lavado bronco-alveolar (LBA)<sup>99</sup>. O método de coleta da amostra, seja através de aspiração ou lavado nasofaríngeo não difere em relação a qualidade técnica do espécime coletado<sup>107</sup>. No entanto, Heikkinen et al.<sup>108</sup> observaram uma maior sensibilidade da aspiração nasofaríngea quando comparada a coleta de swab nasal em crianças para a pesquisa do vírus da Influenza A e B.<sup>109</sup>

## 1.4 Vírus respiratórios – novos conhecidos

A maior sensibilidade diagnóstica devido às reações de amplificação dos genes virais permite a descoberta de um número crescente de vírus respiratórios. Na última década foram descobertos o **metapneumovírus**, novos **coronavírus** (**HCoV-SARS**, **HCoV-NL63** e **HCoV-HKU1**) e **Parvovírus Bocavírus**<sup>110-119</sup> (Figura 1).

**Figura 1 – Cronologia da descoberta dos vírus respiratórios**



Legenda: Flu – vírus da Influenza, ADV – adenovírus, Rino – rinovírus, VRS – vírus respiratório sincicial, Paraflu – Parainfluenza, CoV – coronavírus, MPVh – metapneumovírus, SARS – SARS-coronavírus

### **Metapneumovírus humano**

A partir de 2001, com a descrição do **Metapneumovírus humano** por Van Den Hoogen e colaboradores, têm-se observado que a prevalência de infecções por este vírus varia amplamente na literatura. Estudos de soroprevalência evidenciam que a primoinfecção ocorre até os 5 anos de idade, determinando uma maior prevalência de infecções pelo MPVh em crianças (4-25%)<sup>99;110;120-123</sup>. Nos adultos, a prevalência varia de 1,5% a 7% alcançando 52% em investigação durante o surto de SARS em Hong Kong<sup>67;123-128</sup>.

Apesar de descoberto recentemente, estudos sorológicos para MPVh evidenciaram 100% de soroprevalência em 72 soros acondicionados desde 1958 na Holanda, referentes a indivíduos com idade entre oito e 99 anos, naquela época.

Quanto a morbidade relacionada a este vírus, Semple e colaboradores<sup>129</sup> verificaram a existência de associação significativa entre admissão em UTI pediátrica devido a bronquiolite e co-infecção por MPVh-VRS.<sup>129</sup> Em 86 crianças sem sintomas respiratórios, o metapneumovírus foi diagnosticado no lavado nasal de apenas uma delas.<sup>111</sup> A maior gravidade clínica associada a presença de co-infecção MPVh-VRS foi contradita no estudo conduzido por Cuevas et al.<sup>130</sup>, que verificaram que os pacientes co-infectados tiveram hipoxemia menos grave do que aqueles com infecção apenas pelo VRS.<sup>130</sup>

### **Novos coronavírus**

Além da recém-descoberta do **SARS-coronavírus**, responsável pela epidemia da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG/SARS); a partir de 2004 outros dois tipos de coronavírus humano, **NL63** e **HKU1**, têm sido observados como agentes etiológicos de infecções do trato respiratório superior e inferior em crianças e adultos. As prevalências nos estudos iniciais variam de 2% a 9% para o coronavírus NL63 e de 3% para o coronavírus HKU1 em diferentes grupos etários.<sup>37;113-118;131</sup>

O impacto clínico da infecção pelo coronavírus humano não relacionado a SARS foi avaliado por Garbino e colaboradores<sup>132</sup>, através da análise de 540 amostras de lavado broncoalveolar (LBA) obtidas de 279 pacientes, sendo a maioria das amostras (57%) proveniente de pacientes submetidos a transplante pulmonar. Um quarto de todos os pacientes (24%) apresentava outras condições ou patologias imunossupressoras. Coronavírus foram isolados em 5,4% das amostras, sendo o HCoV OC43 mais freqüente (41,4%), seguido do HCoV 229E (24,1%), NL63 (20,7%) e HKU1 (13,8%). Deste modo, pelo menos em pacientes com alto risco para complicações respiratórias, os coronavírus devem ser investigados como agentes etiológicos de doenças pulmonares agudas.<sup>132</sup>

### **Parvovírus Bocavírus**

Um novo subtipo de parvovírus, denominado Bocavírus humano (HBoV), foi descoberto mais recentemente<sup>133</sup>. A prevalência deste vírus tem variado de 1,5% a 19% em diferentes publicações<sup>134-139</sup>.

A tabela 2 resume informações sobre a taxonomia, ano de primeiro diagnóstico em humanos e período de incubação da infecção dos vírus respiratórios recém-descobertos em humanos.

**Tabela 2 - Classificação, ano de primeiro diagnóstico em humanos e período de incubação da infecção em humanos dos vírus respiratórios recém-descobertos**

VÍRUS	GÊNERO	FAMÍLIA	ANO DO 1º DIAGNÓSTICO	PERÍODO DE INCUBAÇÃO
Metapneumovírus	<i>Metapneumovirus</i>	<i>Paramyxoviridae</i>	2001 <sup>110</sup>	5-6 dias <sup>140</sup>
SARS-Coronavírus	<i>Coronavirus</i>	<i>Coronaviridae</i>	2003	2-10 dias <sup>141</sup>
Coronavírus NL63	<i>Coronavirus</i>	<i>Coronaviridae</i>	2004	?
Coronavírus HKU1	<i>Coronavirus</i>	<i>Coronaviridae</i>	2005	?
Parvovírus Bocavírus	<i>Bocavirus</i>	<i>Parvoviridae</i>	2005	?

Adaptado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>

## 1.5 Vírus respiratórios em ambiente hospitalar

Apesar do aumento crescente de estudos sobre os vírus respiratórios, ainda existem lacunas de conhecimento no que diz respeito ao papel destes agentes em ambiente hospitalar. Estima-se que pelo menos 5% das **infecções nosocomiais** sejam de origem viral, podendo ser causadas por vírus transmitidos por pacientes e pelos profissionais de saúde<sup>29;142</sup>.

Durante as epidemias de viroses respiratórias na comunidade, um maior risco de aquisição de infecções virais do trato respiratório também tem sido observado no interior das unidades hospitalares<sup>143</sup>. Alguns estudos, analisando a transmissão do vírus da Influenza em profissionais que atuam diretamente com pacientes infectados por este vírus, têm demonstrado taxas de ataque para os profissionais de saúde que variam de 11 a 59%, podendo ser menor em situações onde são instituídas medidas de controle da transmissão<sup>59</sup>.

No entanto, os profissionais de saúde podem ser a fonte de disseminação das doenças respiratórias virais, como no surto nosocomial de Influenza descrito por Horcajada et al., em que a partir de um caso índice ocorreu infecção por este vírus em 28% dos profissionais de saúde (16/57) e 13% dos pacientes internados (3/23) na instituição avaliada.<sup>144</sup>

O VRS é a principal causa de infecção nosocomial em enfermarias pediátricas e os profissionais de saúde são a principal fonte de infecção nestes casos.<sup>145;146</sup> Outro fato que colabora para a disseminação deste vírus



é a possibilidade da infecção ser assintomática em 15-20% dos profissionais.<sup>147</sup>

A transmissão dos vírus respiratórios em ambiente hospitalar pode ocorrer por três mecanismos distintos: **dispersão de pequenas partículas em aerossol, auto-inoculação** após contato com objetos ou pele contaminada com o vírus e **inoculação direta com grandes partículas**<sup>148</sup>. Enquanto o vírus da Influenza e adenovírus são transmitidos principalmente em pequenas partículas na forma de aerossol, o VRS é predominantemente transmitido por contato direto com secreções contaminadas e aerossóis com grandes partículas, embora já tenha sido verificada sua transmissão através de pequenas partículas por distâncias de até 7 metros. No entanto, em um estudo experimental, Hall e Douglas não observaram a transmissão aérea deste vírus, pois não houve infecção em adultos voluntários que mantiveram uma distância maior que 180 cm do leito de crianças infectadas pelo VRS ao contrário daqueles que tocaram os pacientes ou superfícies contaminadas com as secreções destes.<sup>64;149;150</sup>

Em indivíduos **imunocomprometidos**, os vírus respiratórios mais importantes, associados à alta incidência de pneumonias e óbito são: VRS, picornavírus (incluindo o rinovírus), vírus da influenza e parainfluenza. Em pacientes com leucemia submetidos a transplante de medula óssea (TMO), 60% das infecções comprovadas por VRS resultaram em pneumonia com uma evolução letal maior que 30%<sup>39</sup>. Da mesma forma, Nichols e colaboradores observaram a ocorrência de dois surtos nosocomiais pelo

vírus parainfluenza tipo 3 nos pacientes transplantados de medula óssea acompanhados em um centro especializado em Seattle<sup>151</sup>.

Machado et al. diagnosticaram 392 episódios de infecção viral do trato respiratório superior em 179 pacientes submetidos a transplante de medula óssea. A etiologia viral foi diagnosticada por imunofluorescência direta em 38% dos pacientes. O VRS foi o mais prevalente, sendo observado em 15% dos indivíduos analisados, seguido por vírus da Influenza B (14%), vírus da Influenza A (11%) e parainfluenza (6,7%). O adenovírus não foi diagnosticado em nenhum paciente e a co-infecção foi diagnosticada em 22% dos pacientes com etiologia viral confirmada. Dentre os pacientes infectados pelo VRS, 55,5% desenvolveram pneumonia<sup>152</sup>.

Em 2005, Verboon-Macielek e colaboradores<sup>153</sup> publicaram um estudo retrospectivo analisando neonatos admitidos na **Unidade de Terapia Intensiva neonatal (UTI neonatal)** do *Wilhelmina Children's Hospital*, em Utrecht, Holanda, com infecções virais confirmadas. A incidência foi de 1% (51/5396), sendo os vírus mais freqüentemente identificados enterovírus (18 casos), VRS (15 casos) e rotavírus (cinco casos). Um dos dados mais relevantes deste trabalho foi que 60% dos casos de VRS foram adquiridos durante a internação hospitalar, com uma mediana de início de sintomas de 21 dias<sup>153</sup>.

Através da técnica de imunofluorescência indireta ou cultivo viral, Diniz e colaboradores estudaram na cidade de São Paulo, 78 pacientes recém-natos internados em **UTI neonatal** com insuficiência respiratória aguda e submetidos à ventilação mecânica. A **infecção viral nosocomial** foi

identificada em 29% dos casos sendo: 11 casos de infecção pelo VRS (14%), oito pelo vírus da Influenza A (10%), dois co-infectados pelo VRS e vírus da Influenza A (3%), um co-infectado pelo vírus da Influenza A e Parainfluenza 3 (1%) e um co-infectado pelo VRS e Parainfluenza 3 (1%).<sup>72</sup>.

Em **adultos internados em UTI**, sem história de transplante ou imunodeficiência, a avaliação quanto à presença de infecção por vírus respiratórios é reportada em poucas publicações.<sup>52;154-157</sup>

Daubin et al.<sup>155</sup> analisando 139 pacientes sob ventilação mecânica há mais de 48 horas em uma UTI de um hospital universitário francês diagnosticaram vírus respiratórios em 25%. Da mesma forma, estes autores em outra publicação relataram uma prevalência similar (22% - 41/187 pacientes), com 45 vírus identificados, sendo o rinovírus observado em 19 amostras, o herpes simples em dez e o vírus da Influenza em sete. Os demais vírus observados foram enterovírus (em duas amostras), VRS (em duas amostras), citomegalovírus, varicela zoster, parainfluenza 3, adenovírus e coronavírus (em uma amostra cada)<sup>156</sup>.

Cameron et al.<sup>52</sup> avaliando pacientes com mais de 45 anos de idade, em ventilação mecânica nas primeiras 48 horas de internação devido a exacerbação da DPOC, diagnosticaram infecção viral em 43% dos casos (46/107). Um quarto dos pacientes com vírus identificado apresentava infecções múltiplas.

Devido à importância das infecções por vírus respiratórios, não só no que se refere à alta frequência de determinados tipos, mas também morbimortalidade em algumas situações específicas e pela verificação de

uma necessidade de maior conhecimento da relevância dos mesmos em pacientes adultos internados em UTI, realizamos este estudo.

## 2. OBJETIVOS

1. Avaliar a prevalência de infecções por vírus respiratórios (Vírus Respiratório Sincicial, vírus da Influenza A e B, parainfluenza, adenovírus, rinovírus, coronavírus e metapneumovírus) em pacientes internados na UTI do Serviço de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – HCFMUSP.
2. Avaliar a proporção destas infecções que são de origem nosocomial.
3. Avaliar os fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios entre pacientes internados em UTI.
4. Avaliar o impacto das infecções por vírus respiratórios na morbimortalidade destes pacientes.

### **3. MÉTODOS**

#### **3.1 Desenho do estudo**

Estudo de coorte, prospectivo.

#### **3.2 Casuística**

##### **3.2.1 Seleção da casuística**

Foram avaliados pacientes internados em uma unidade de terapia intensiva de hospital terciário na cidade de São Paulo/SP (Unidade de Terapia Intensiva do Serviço de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – HCFMUSP). Esta Unidade é constituída de 10 leitos em duas áreas distintas localizadas próximas e atendidas pela mesma equipe assistencial. Nesta UTI foram internados 290 pacientes com diferentes diagnósticos no ano anterior a realização do estudo, correspondendo a um total de 2458 pacientes-dia.

#### **a. Critérios de inclusão**

Pacientes internados na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP no período de maio de 2003 a junho de 2004 foram elegíveis para o estudo.

Houve participação, no entanto, apenas dos pacientes que permaneciam internados as terças e sextas-feiras, que aceitaram em participar do estudo ou que se obteve o consentimento do seu representante legal, após esclarecimento dos objetivos do trabalho e procedimentos a serem adotados.

#### **b. Critérios de exclusão**

Recusa de participação do estudo, manifestada pela não assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1) pelo paciente ou seu responsável.

### **3.3 Procedimentos do estudo**

#### **3.3.1 Coleta de informações**

Utilizou-se um formulário (Anexo 2) no qual foram anotadas informações pessoais (nome, sexo, data de nascimento), dados da internação (registro hospitalar, data de internação e de alta hospitalar, data de internação e de alta na UTI, evolução fatal durante a internação), características clínico-epidemiológicas (hipótese diagnóstica principal, hipótese diagnóstica secundária, presença de co-morbidade, presença de

sintomas de infecção viral respiratória, valor do APACHE II de 24 horas, tipo de suporte ventilatório durante a internação na UTI, relação  $PO_2/FiO_2$  na admissão, tempo livre de ventilação mecânica, ocorrência de sepse durante a internação na UTI, vacinação no último ano contra Influenza, uso de drogas ou esquemas de imunossupressores e dependência química).

As co-morbidades avaliadas foram: cardiopatia, hipertensão arterial sistêmica (HAS), doença cérebro-vascular, diabetes mellitus, doenças do aparelho respiratório (doença obstrutiva crônica ou asma), nefropatia, transplante de medula óssea ou de órgãos sólidos, AIDS, neoplasia, doenças reumatológicas.

### 3.3.2 Conceitos e definições

**a. Presença de sintomas** de infecção viral respiratória (febre, tosse, mialgia, coriza ou obstrução nasal) foi caracterizada pela descrição de sintomas pelo paciente ou anotações em prontuário. Não foi considerada a ocorrência isolada de febre se houvesse algum outro diagnóstico infeccioso.

**b. APACHE II (*Acute Physiologic And Chronic Health Evaluation II*):** escore de gravidade avaliado após 24 horas de internação, em pacientes internados em UTI, com o qual se faz correlação direta com a probabilidade de óbito (Anexo 3).

**c. Suporte ventilatório:** oferta de oxigênio através do uso de cateter nasal, máscara facial, ventilação não-invasiva com pressão positiva (BiPAP)



ou ventilação mecânica invasiva. Para efeito de análise estatística considerou-se apenas a submissão ou não à ventilação mecânica invasiva durante a internação na UTI.

**d. Relação  $PaO_2/FiO_2$**  é a razão entre a pressão parcial de oxigênio em sangue arterial avaliada pela gasometria arterial e a fração de oxigênio inspirada.

**e. Tempo livre de ventilação mecânica** é o número de dias de permanência na UTI em que o paciente não necessitou de ventilação mecânica invasiva.

**f. A ocorrência de sepse** foi classificada de acordo com sua gravidade: sepse, sepse grave, choque séptico e disfunção de múltiplos órgãos e sistemas.<sup>158</sup>

**g. Dependência química** foi caracterizada como consumo regular de álcool, drogas ilícitas ou tabaco, no período inferior a seis meses da data de internação hospitalar, seja por relato do pacientes, familiares ou anotações em prontuário médico.

### **3.3.3 Avaliação da prevalência de infecções por vírus respiratórios**

Para a avaliação da prevalência de infecções por vírus respiratórios na UTI foi realizada coleta de amostra de lavado nasofaríngeo (LNF) dos

pacientes incluídos no estudo e análise das amostras clínicas pelas técnicas de imunofluorescência direta (IFD) e reação em cadeia pela polimerase (PCR). O cálculo da prevalência foi realizado pela razão entre o número de pacientes com vírus identificado pelo total dos pacientes avaliados, multiplicados por cem.

#### **3.3.3.1 Coleta do material:**

O lavado nasofaríngeo (LNF) foi coletado segundo a técnica descrita por Englund et al.<sup>159</sup> adaptada devido à impossibilidade de colaboração de alguns pacientes que encontravam-se sob sedação. Iniciou-se com a passagem de uma sonda de aspiração estéril, por três centímetros (3 cm) no interior de cada narina do paciente, seguida da instilação de cinco mililitros (5 ml) de soro fisiológico 0,9%, através de uma seringa sem agulha, e a imediata aspiração do líquido para um sistema coletor (Bronquinho<sup>®</sup> - P.Simon Ind. e Com. Ltda ou Broncozamm TR<sup>®</sup> - Zammi Instrumental Ltda.) previamente conectado a sistema de aspiração a vácuo. As coletas ocorreram as terças e sexta-feiras.

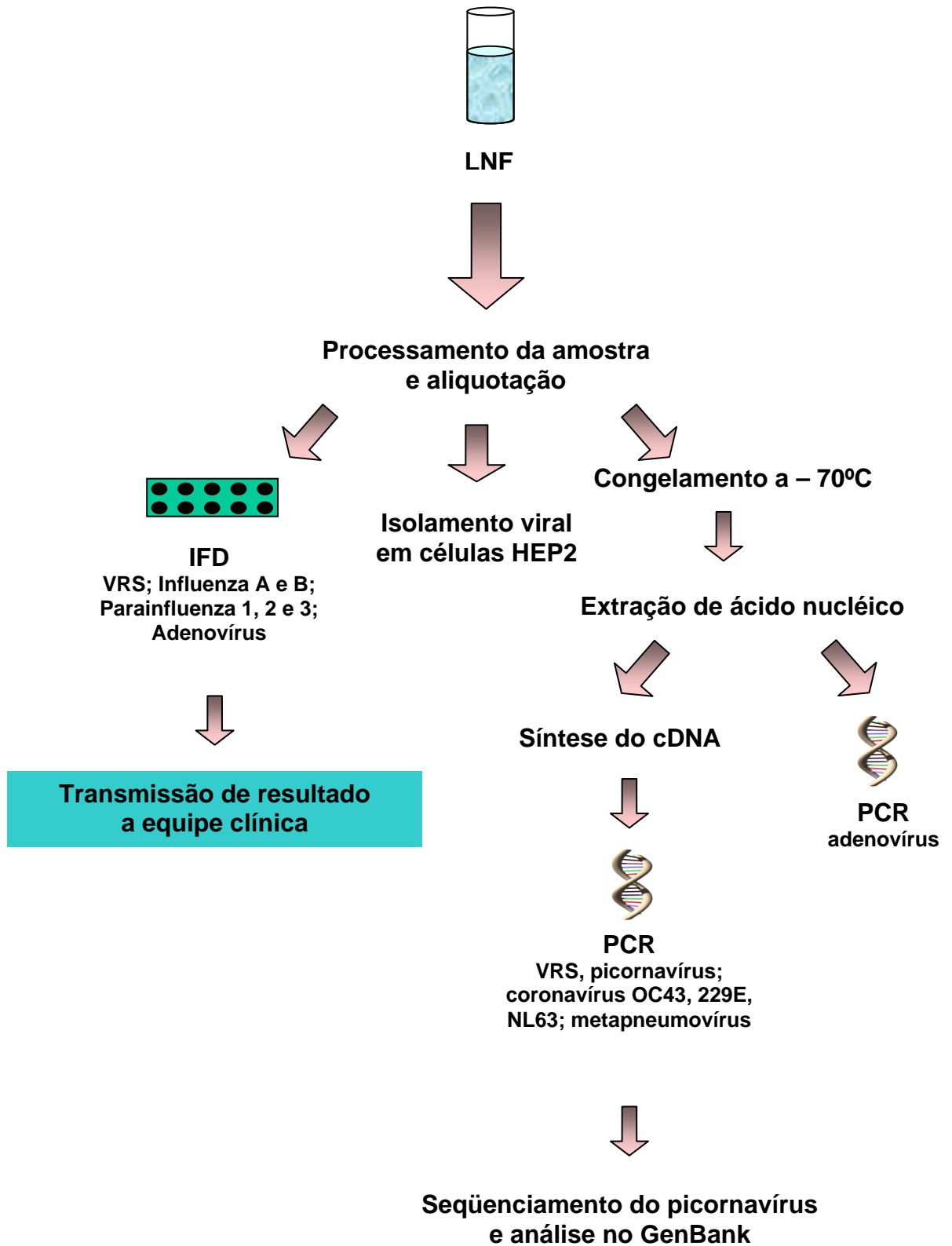
O material colhido foi acondicionado em tubo estéril, mantido em recipiente térmico com gelo, sendo imediatamente encaminhado ao Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (LIM 52 - HCFMUSP). A pesquisa viral foi realizada através das técnicas de imunofluorescência direta (IFD), cultivo viral e reação em cadeia pela polimerase (PCR).

Apenas os resultados da IFD foram fornecidos à equipe médica da UTI, não sendo implantada nenhuma medida terapêutica ou de isolamento quando indicado.

#### **3.3.3.2 Processamento da amostra:**

As amostras foram registradas de acordo com sistema numérico de cadastro definido por paciente, tipo e número da amostra. A seguir, todas as amostras foram separadas em três alíquotas e processadas conforme o fluxograma a seguir que resume a seqüência dos procedimentos laboratoriais para a investigação viral (Figura 2).

Figura 2- Fluxograma para investigação viral



### **3.3.3.3 Técnicas utilizadas para análise laboratorial**

Utilizou-se a técnica de IFD para pesquisa de vírus da Influenza A, vírus da Influenza B, Parainfluenza (tipo 1, 2 e 3), VRS e adenovírus. A PCR foi realizada para investigação de VRS, adenovírus, picornavírus (rinovírus), coronavírus e metapneumovírus.

#### **3.3.3.3.1 Imunofluorescência direta:**

As amostras de LNF foram tratadas com o mucolítico Sputolisin® (Dithiothreitol, Cleland's Reagent, Gibco BRL).<sup>160</sup> A mistura LNF-Sputolisin® foi homogeneizada no Vortex® e incubada durante trinta minutos a 37° C para dissolução do muco. A seguir, foi centrifugada durante 5 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante foi desprezado e adicionado solução salina tamponada fosfatada (PBS), ao sedimento celular, seguindo-se a nova centrifugação, para lavagem do sedimento celular, para retirada do mucolítico. Novamente o sobrenadante foi desprezado e uma suspensão celular foi preparada com o sedimento diluído em PBS.

Lâminas foram preparadas, adicionando-se aos orifícios 20µl do sedimento celular, e mantidas a temperatura ambiente até a secagem. A seguir foram fixadas com acetona durante 5 minutos a -20 C.

Numa primeira etapa foi feita uma triagem das amostras adicionando-se à lâmina 10µl de um *pool* de anticorpos monoclonais para imunofluorescência contra os vírus da Influenza A e B, Parainfluenza, VRS e

Adenovírus (Image Respiratory Screen®, Dako Ltda) e incubou-a em câmara úmida numa estufa a 37°C durante 15 minutos. Após esse período de incubação, a lâmina foi lavada em PBS durante 5 minutos para retirada do excedente do *pool* de anticorpos.

Nova secagem da lâmina em ar ambiente foi feita, seguindo-se da adição de 10 µl do conjugado para imunofluorescência (Image Respiratory Screen®, Dako Ltda.) e mais 15 minutos em estufa a 37°C. Após nova lavagem em imersão de PBS e secagem em temperatura ambiente, a lâmina foi montada com glicerina tamponada e lamínula e lida em microscópio de fluorescência por profissional com ampla experiência.

Em caso de positividade do “screening” de vírus respiratório, ou nas situações onde houve dúvida quanto ao resultado, repetiu-se todo o processo descrito anteriormente, utilizando-se isoladamente os anticorpos para os vírus da Influenza A, Influenza B, Parainfluenza (tipos 1, 2 e 3), VRS e Adenovírus (Image Respiratory Screen®, Dako Ltda).

#### **3.3.3.3.2 Extração de ácido nucléico**

A extração do ácido nucléico (RNA ou DNA) foi realizada a partir das amostras condicionadas a -70°C. Nas amostras estocadas em tampão de lise a extração foi realizada conforme descrição prévia de Boom et al.<sup>161</sup> Adicionaram-se em um tubo Eppendorf® 400µl da amostra, 600µl do tampão de lise (Nuclisens®) e 50µl de sílica. Após incubação por 10 minutos em temperatura ambiente, com homogeneização a cada 2 minutos no Vortex®, a

amostra foi centrifugada por 2 minutos a 10.000g. Após a aspiração do sobrenadante, iniciou-se a etapa de purificação da amostra com uso do tampão de lavagem, seguido de duas etapas com utilização de etanol. Em fase seguinte, adicionou-se 1ml de acetona no tubo Eppendorf<sup>®</sup>, homogeneizando e centrifugando conforme etapas prévias. Procedeu-se aspiração da acetona e secagem através da colocação do tubo no termobloco a 56°C por 10 minutos. Como última etapa para a extração do ácido nucléico viral (RNA ou DNA), acrescentaram-se 50µl de tampão de eluição (Nuclisens<sup>®</sup>) para a ressuspensão do RNA ou DNA extraído, homogeneizando a solução no Vortex<sup>®</sup> e mantendo-a no termobloco por 10 minutos a 56°C. Para concluir realizou-se nova centrifugação das amostras a 16.000g por 5 minutos.

#### **3.3.3.3 Síntese do cDNA**

Para a reação de síntese do cDNA, adicionou-se 22µl de RNA a 15,6µl de mix (1x buffer, 0,2mM de cada nucleotídeo, 5,0 mM de MgCl<sub>2</sub>, RNAsin 40U, DTT 103 M, H<sub>2</sub>O DEPC 3 µl). A primeira etapa da síntese ocorreu nas condições: aquecimento a 65°C durante 5 minutos, seguido de um resfriamento a 22 °C. A seguir foram adicionados 2,5 µl do segundo mix (2,5 µM de random primer e 2,5 U de M-MLV) e novamente aquecido a 37°C durante 30 minutos e depois aquecido a 95 °C durante 5 minutos.<sup>162</sup>

#### 3.3.3.3.4 Reação em cadeia pela polimerase (PCR)

A PCR foi realizada de acordo com protocolos estabelecidos e com a adição de controles positivos e negativos em cada reação. A relação dos “primers” utilizados em cada PCR está descrita na tabela a seguir (Tabela 3).

**Tabela 3 – Relação da seqüência dos “primers” dos PCR para os vírus respiratórios pesquisados nos pacientes internados na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

VÍRUS	“PRIMERS”	SEQÜÊNCIA DOS “PRIMERS”
Adenovírus	H1	GCCGCAGTGGTCTTACATGCACATC
	H2	CAGCACGCCGCGGATGTCAAAGT
	P1	CCAGGACGCCTGCGAGTACCT
	P2	TGGAAGCCATATCAAGCACAC
Coronavírus		GCGCAAATAATGAATTAATGCC
		GACGCACCACCATATGAATCCTG
Picornavirus		GCACTTCTGTTTCCCC
		CGGACACCCAAAGTAG
Vírus Respiratório Sincicial (VRS)	F164	GTTATGACACTGGTATACCAACC
	G32	GCAACCATGTCCAAACACAAG
	G267	GATGCAACAAGCCAGATCAAG
Metapneumovírus		GAGCAAATTGAAAATCCCAGACA
		GAAAACTGCCGCACAACATTTAG



### PCR para adenovírus

A amplificação dos adenovírus foi realizada através de nested PCR, conforme descrito anteriormente por Morris e colaboradores<sup>76</sup> sendo utilizados dois “primers” externos (H1 e H2) que amplificaram um fragmento de 300 pares de bases (300 bp) correspondente à região codificadora do hexon no 1º “round” e dois “primers” internos (P1 e P2) amplificando um fragmento de 243 pares de base (243 bp) no 2º “round” (Figuras 3 e 4).

Para a reação de amplificação utilizaram-se 5µl do DNA da amostra no 1º “round” e 1µl da amostra amplificada no 2º “round” adicionando-se 45µl de mix (10 x buffer; 200µM de cada nucleotídeo; 2mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM “primers”; 1,25U de Taq polimerase) em cada etapa. As condições de amplificação em ambos “rounds” constituíram de 94°C por 7min (desnaturação); seguido de 30 ciclos de 1 minuto cada a 94°C (desnaturação), 45°C (anelamento) e 72°C (extensão); finalizando a 72°C por 10min para a extensão das fitas de DNA.

Para a reação de amplificação no 2º “round” utilizou-se 1µl da amostra amplificada e 45µl de mix conforme composição do “round” anterior, repetindo-se as condições de amplificação.

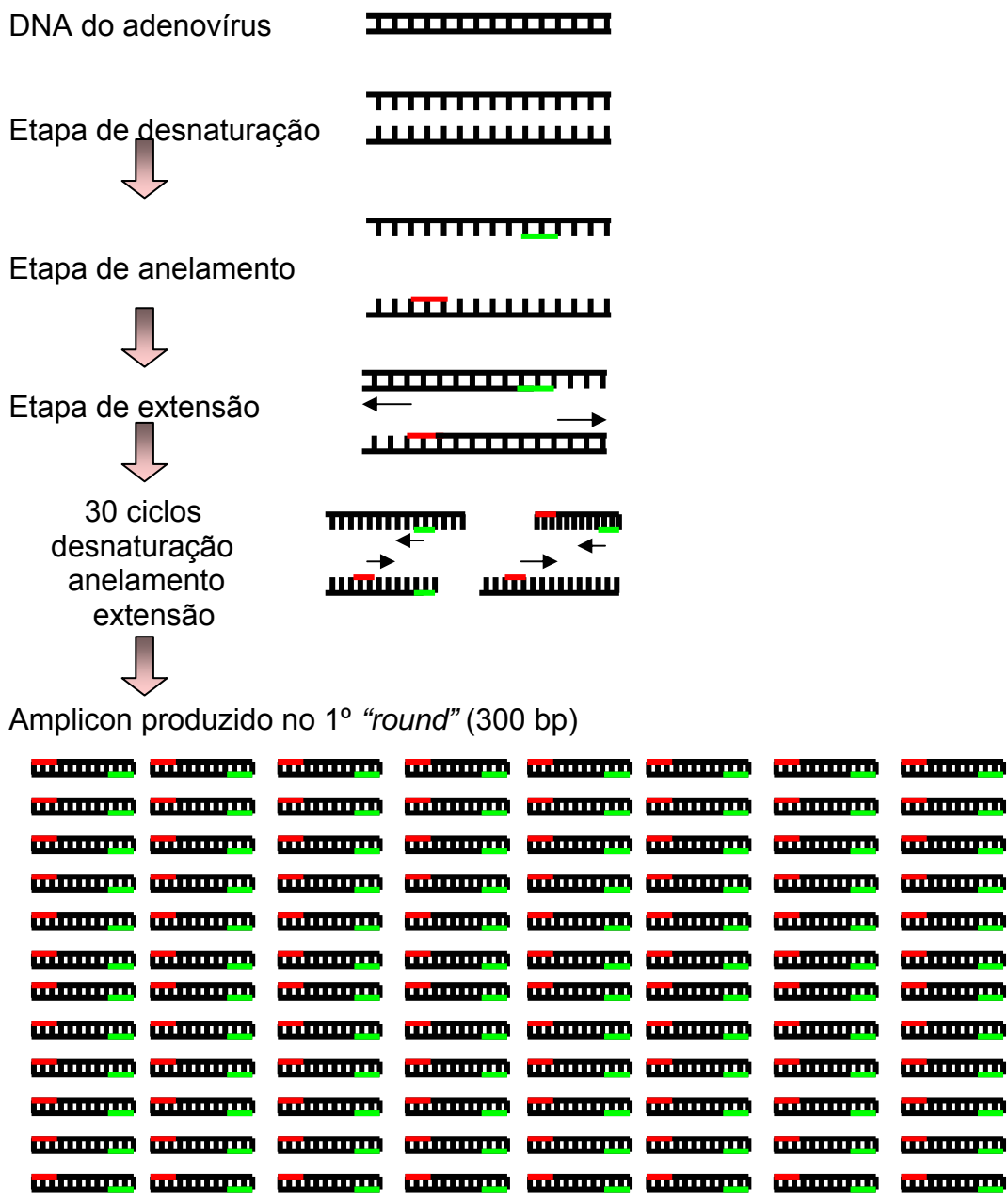
Como controle positivo foi utilizada a extração do DNA de adenovírus 5, cultivado em células Vero. Como controle negativo, em todas as reações, foi utilizada água deionizada, estéril.

Para a revelação dos produtos de amplificação retirou-se, de cada tubo de reação, 10,0 µl de amostra e aplicou-se em gel de agarose 1,5% (A 1000, Gibco, EUA), diluído em TAE (tris-acetato-EDTA, Gibco, EUA)

contendo 0,8 mg/ml de brometo de etídeo (Invitrogen, CA, EUA) que, em seguida, foi submetida à eletroforese a 80V.

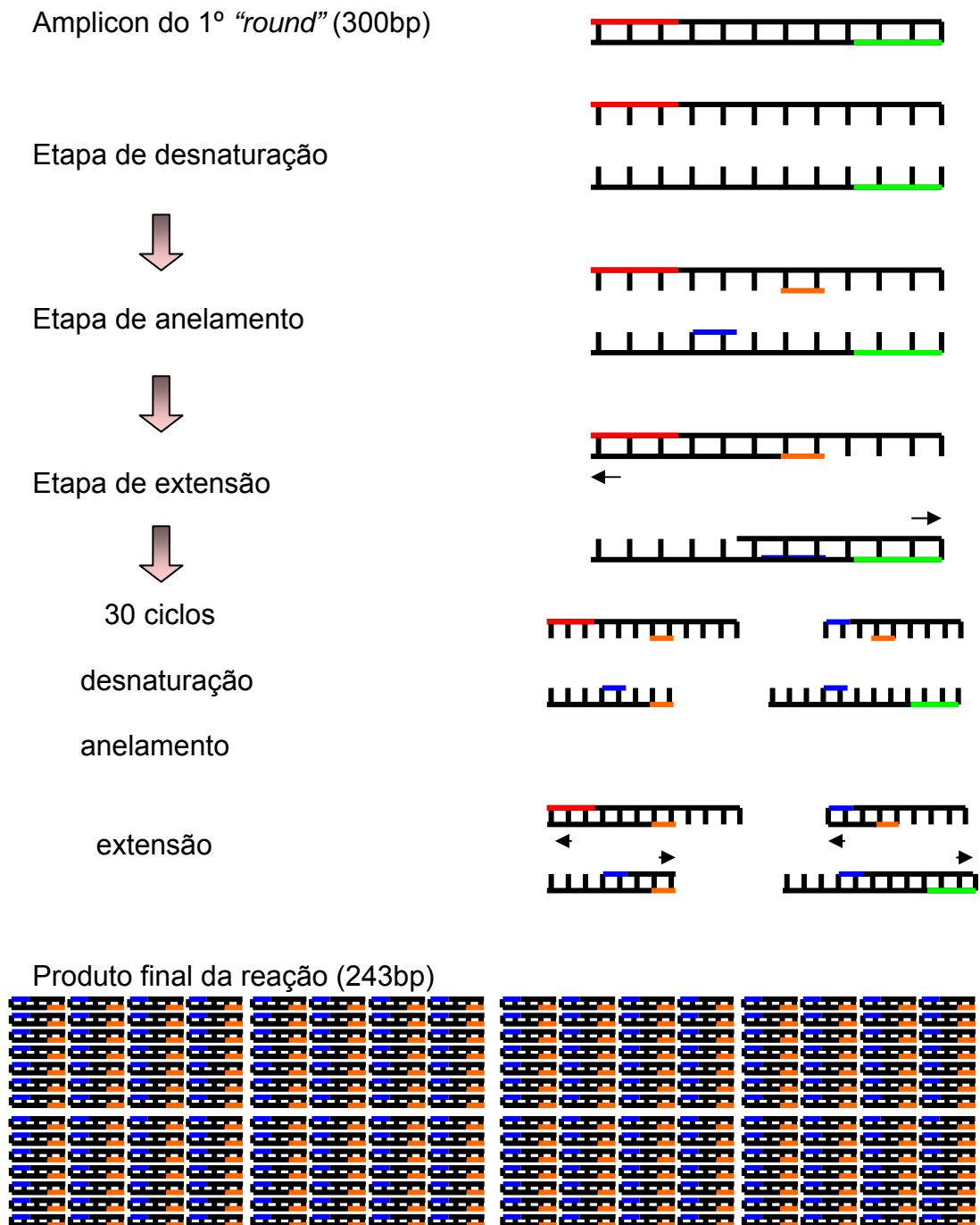
Os produtos de amplificação resultantes, no tamanho de 243 pares de bases, foram visualizados por transiluminação do gel por raios ultravioleta e o registro fotográfico obtido através do sistema *Alphaimager*<sup>®</sup> *EC* (Alpha Innotech Corporation, EUA).

**Figura 3 - Descrição esquemática do 1º “round” da PCR para adenovírus pesquisados nos pacientes internados na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**



Legenda: █ *Primer H1*(25bp) █ *Primer H2* (23bp)

**Figura 4 - Descrição esquemática do 2º “round” da PCR para adenovírus pesquisados nos pacientes internados na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**



Legenda: — *Primer P1* (21bp) — *Primer P2* (21bp)

### PCR para coronavírus

Para a realização da PCR para coronavírus, utilizaram-se dois “primers” (tabela 2) correspondentes a um fragmento da região do gene 1a replicase, comum aos Coronavírus dos grupos 1, 2, 3 e SARS-CoV, originando um fragmento de 550 pares de bases. A reação foi realizada de acordo com a descrição de Esper et al.<sup>163</sup> com 5µl do cDNA da amostra e 45µl de mix (10x buffer, 200 µM de cada nucleotídeo, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 mM “primers”, 2,5 U de Taq polimerase). As condições da PCR consistiram a 95°C por 15 min; 40 ciclos de 1 minuto cada a 94°C, 50°C e 72°C e; a fase de extensão final a 72°C durante 10 minutos. Também realizou-se PCR para Coronavírus NL63 de acordo com o protocolo previamente publicado<sup>163</sup>. Como controle positivo foi utilizado fragmento amplificado e seqüenciado de amostra clínica, clonado em pGEM<sup>®</sup>T EAsy Vector System (Promega Co.) conforme instruções do fabricante\*.

Para a revelação dos produtos de amplificação retirou-se, de cada tubo de reação, 10,0 µl de amostra e aplicou-se em gel de agarose 1,5% (A 1000, Gibco, EUA), diluído em TAE (tris-acetato-EDTA, Gibco, EUA) contendo 0,8 mg/ml de brometo de etídeo (Invitrogen, CA, EUA) que, em seguida, foi submetida à eletroforese a 80V.

Os produtos de amplificação resultantes, no tamanho de 550 pares de bases, foram visualizados por transiluminação do gel por raios ultravioleta e o registro fotográfico obtido através do sistema *Alphaimager*<sup>®</sup> EC (Alpha Innotech Corporation, EUA).

---

\* Consulta em 15 de dezembro de 2007 no link <http://www.promega.com/tbs/tm042/tm042.pdf>

### PCR para picornavírus e identificação de rinovírus

Para identificação dos rinovírus, utilizaram-se dois “primers” de um fragmento de 398 bp comum aos picornavírus (5'-GCACTTCTGTTTCCCC-3' e 5'-CGGACACCCAAAGTAG-3') conforme previamente publicado<sup>106</sup>. A reação da PCR consistiu na adição de 5µl do cDNA previamente sintetizado e 45µl de mix (35,5 µl água, 5 µl 10x buffer, 20mM de cada nucleotídeo, 1,0 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 mM “primers”, 0,5 U de Taq Platinum). A reação de amplificação consistiu de 95°C durante 3 min; 40 ciclos de 1min 30s a 95°C, 1min 30s a 49°C e 1min a 72°C; seguido de 72°C por 10min, com posterior manutenção a 4°C.

Para a revelação dos produtos de amplificação retirou-se, de cada tubo de reação, 10,0 µl de amostra e aplicou-se em gel de agarose 1,5% (A 1000, Gibco, EUA), diluído em TAE (tris-acetato-EDTA, Gibco, EUA) contendo 0,8 mg/ml de brometo de etídeo (Invitrogen, CA, EUA) que, em seguida, foi submetida à eletroforese a 80V.

Os produtos de amplificação resultantes foram visualizados por transiluminação do gel por raios ultravioleta e o registro fotográfico obtido através do sistema *Alphaimager*<sup>®</sup> EC (Alpha Innotech Corporation, EUA).

Nos casos de aparecimento de banda do tamanho esperado, no gel de agarose, a confirmação do rinovírus foi feita pelo seqüenciamento do produto amplificado. Devido à presença de bandas inespecíficas confundindo o resultado foi realizado o seqüenciamento de todas as amostras positivas utilizando-se o kit “ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction” (Big Dye<sup>®</sup> – Applied Biosystems, Inc. EUA),

de acordo com as instruções do fabricante. As seqüências obtidas foram confirmadas se eram de rinovírus através da comparação com as seqüências contidas no banco de dados do “National Center for Biotechnology Information” (“GenBank” – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

### PCR para VRS

Foram utilizados três “primers” (Tabela 2) para a amplificação de fragmento de 900bp do VRS tipo A (F164/G267) e 1100 bp do VRS do tipo B (F164/G32) conforme publicado<sup>164</sup>. Utilizaram-se 5µl de cDNA previamente sintetizado e 20µl de mix (10x buffer, 200 µM de cada nucleotídeo, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 6 mM “primers” e 2,5 U de Taq).

A reação de amplificação consistiu de 94°C durante 2 min; 40 ciclos de 1min a 94°C, 65°C e 72°C; seguido de 72°C por 7min, com posterior manutenção a 4°C.

Como controles positivos, foram usados vírus padrões, A e B cultivados em células Hep2, seguindo-se a mesma metodologia usada para extração do RNA e síntese do cDNA das amostras clínicas.

Para a revelação dos produtos de amplificação retirou-se, de cada tubo de reação, 10,0 µl de amostra e aplicou-se em gel de agarose 1,5% (A 1000, Gibco, EUA), diluído em TAE (tris-acetato-EDTA, Gibco, EUA) contendo 0,8 mg/ml de brometo de etídeo (Invitrogen, CA, EUA) que, em seguida, foi submetida à eletroforese a 80V.

Os produtos de amplificação resultantes, no tamanho correspondente a cada subtipo viral (Tipo A 900 bp e Tipo B 1100 bp), foram visualizados por

transiluminação do gel por raios ultravioleta e o registro fotográfico obtido através do sistema *Alphaimager*<sup>®</sup> EC (Alpha Innotech Corporation, EUA).

### PCR para Metapneumovírus

O protocolo da reação de PCR para MPVh incluiu um par de “primers” (tabela 2) complementares à região conservada da proteína de fusão do vírus – região F – descritos por Falsey *et al* e selecionados a partir da estirpe protótipo do hMPV 00-1 (número de acesso do “GenBank”: af371337)<sup>125</sup>.

A seqüência alvo foi amplificada numa reação com volume final de 25,0 µl contendo 2,5 µl de cDNA previamente sintetizado; 2,5 µl de tampão 10 X; 2,0 µl de dNTPs 2,5 mM; 0,75 µl de MgCl<sub>2</sub> 50mM; 0,25 µl de cada “primers” (F1 e R1) 10,0 µM; 2,0 µl de solução de Glicerol 57%; 2,5 µl de Cresol Red 2,5 µg/µl; 12,05 µl de água DEPC e 0,2 µl de *Platinum Taq* DNA Polimerase 5,0 U/µl (Invitrogen, CA, EUA).

A reação de amplificação foi realizada com desnaturação a 95°C durante 2 minutos; seguido de 40 ciclos de 1 minuto a 94°C, 55°C e 72°C, respectivamente; seguido de 72°C por 7 minutos.

Para a revelação dos produtos de amplificação retirou-se, de cada tubo de reação, 10,0 µl de amostra e aplicou-se em gel de agarose 1,5% (A 1000, Gibco, EUA), diluído em TAE (tris-acetato-EDTA, Gibco, EUA) contendo 0,8 mg/ml de brometo de etídeo (Invitrogen, CA, EUA) que, em seguida, foi submetida à eletroforese a 80V.

Os produtos de amplificação resultantes, no tamanho de 347 pares de bases, foram visualizados por transiluminação do gel por raios ultravioleta e



o registro fotográfico obtido através do sistema *Alphaimager*<sup>®</sup> EC (Alpha Innotech Corporation, EUA).

#### **3.3.3.3.4 Isolamento do vírus**

##### Tratamento da amostra com antibióticos

Adicionou-se à amostra de LNF, 200 U de penicilina G potássica, 200ug de estreptomicina, 200ug de ciprofloxacina e 200ug de vancomicina, mantendo-se por 60 minutos a temperatura de 4°C para descontaminação bacteriana.

##### Inoculação da amostra em tubos com cultura de células

Após o tratamento com antibióticos, inoculou-se 200µl da amostra em tubos contendo células Hep2. Incubou por 60 minutos a 37°C, para ocorrer a adsorção a células. A seguir adicionou-se 800 µl de Meio Minimum de Eagle (MEM) suplementado com 2% de soro fetal bovino e os tubos foram mantidos a 37°C durante 7 dias.

Foram feitas leituras diárias, para verificação da presença de efeito citopático.

#### **3.3.4 Avaliação das infecções de origem nosocomial**

Foi considerada infecção viral de aquisição nosocomial aquela adquirida ou desenvolvida durante a internação hospitalar, após o período

médio de incubação de cada vírus. Considerou-se o tempo máximo de incubação de cinco dias para os vírus da Influenza<sup>60</sup>, parainfluenza<sup>87</sup>, VRS<sup>86</sup>, rinovírus<sup>\*</sup>, coronavírus<sup>†</sup>; seis dias para metapneumovírus humano<sup>140</sup> e sete dias para adenovírus<sup>88</sup>.

A proporção das infecções de origem nosocomial foi resultado da razão do número de infecções virais de origem nosocomial pelo total de infecções virais diagnosticadas:

$$\text{Proporção das infecções de origem nosocomial} = \frac{\text{número de infecções virais de origem nosocomial} \times 100}{\text{total de infecções virais diagnosticadas}}$$

### **3.3.5 Avaliação dos fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios entre pacientes internados em UTI**

Para avaliar quais fatores de risco estavam associados à ocorrência de infecção por vírus respiratórios, realizou-se análise estatística, conforme descrição adiante, analisando associação entre a ocorrência da infecção viral e: idade, sexo, síndrome, admissão relacionada a sintomas de infecção em vias aéreas, co-morbidades (cardiopatia, HAS, doença cérebro-vascular, diabetes mellitus, asma / DPOC, nefropatia, transplante de medula óssea ou

---

\* Douglas RG Jr, Cate TR, Gerone JP, et al. Quantitative rhinovirus shedding patterns in volunteers. *Am Rev Respir Dis* 1966;94:159–167 apud Couch<sup>84</sup>

† Hunt R. Coronaviruses, colds and SARS. In: Microbiology and Immunology [online]. University of South Carolina School of Medicine. [citado 20 jun 2007]. Disponível em <http://pathmicro.med.sc.edu/virol/coronaviruses.htm>

de órgãos sólidos, AIDS, neoplasia, doenças reumatológicas), uso de drogas imunossupressoras, tabagismo, APACHE, uso de ventilação mecânica invasiva, infecção bacteriana, infecção fúngica, tempo de internação na UTI, tempo de internação no hospital e óbito relacionado a sintomas respiratórios.

### **3.3.6 Avaliação do impacto das infecções por vírus respiratórios na morbimortalidade**

O impacto na morbimortalidade foi determinado a partir da associação da ocorrência de infecção por vírus respiratórios e: tempo livre de ventilação mecânica, tempo de internação na UTI, tempo de internação hospitalar, ocorrência de infecção bacteriana ou fúngica durante a internação na UTI, evolução fatal relacionada a quadro respiratório. Avaliou-se, também, a associação de óbitos e infecção por vírus respiratórios. Idade, sexo, admissão relacionada a sintomas de infecção em vias aéreas, comorbidades, APACHE, uso de ventilação mecânica invasiva, infecção bacteriana, infecção fúngica, tempo de internação na UTI, tempo de internação no hospital, óbito relacionado a sintomas respiratórios.

As associações destas variáveis também foram avaliadas utilizando-se como desfecho a ocorrência de óbito. No entanto, utilizando-se o uso de ventilação mecânica invasiva como um fator relacionado a morbidade, efetuou-se análise quanto a associação deste modo de assistência ventilatória e as seguintes variáveis: idade, sexo, admissão relacionada a

sintomas respiratórios, co-morbidades, infecção bacteriana, infecção fúngica, tempo de internação na UTI e ocorrência de infecção viral respiratória.

Na Tabela 4 estão especificadas as variáveis analisadas no modelo estatístico.

**Tabela 4 - Fatores preditivos avaliados na análise univariada para cada desfecho clínico-laboratorial dos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica – HCFMUSP - 2003 a 2004**

FATORES PREDITIVOS	DESFECHO		
	Infecção viral	Óbito relacionado a sintomas respiratórios	Uso de ventilação mecânica invasiva
Idade	•	•	•
Sexo	•	•	•
Síndrome	•	•	-
Admissão relacionada a sintomas de infecção em vias aéreas	•	•	-
Co-morbidades	•	•	•
Cardiopatia	•	•	-
HAS	•	•	-
Doença cérebro-vascular	•	•	-
DM	•	•	-
DPOC/asma	•	•	-

continua

**Tabela 4 - Fatores preditivos avaliados na análise univariada para cada desfecho clínico-laboratorial dos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica – HCFMUSP - 2003 a 2004 (conclusão)**

FATORES PREDITIVOS	DESFECHO		
	Infecção viral	Óbito relacionado a sintomas respiratórios	Uso de ventilação mecânica invasiva
Nefropatia	●	●	-
AIDS	●	●	-
Neoplasia	●	●	-
Reumatopatia	●	●	-
Uso de drogas imunossupressoras	●	●	-
Tabagismo	●	●	-
APACHE	●	●	-
Uso de ventilação mecânica invasiva	●	●	-
Infecção bacteriana	●	●	●
Infecção fúngica	●	●	●
Tempo de internação na UTI	●	●	●
Tempo de internação no hospital	●	●	-
Óbito relacionado a sintomas respiratórios	●	-	-
Infecção viral respiratória	-	●	●

### 3.3.7 Análise estatística

Foi criado um banco de dados no programa *Excel*, posteriormente analisado nos programas SPSS (versão 10.0) e SAS (versão 9.1)<sup>2</sup>. Realizou-se inicialmente uma análise descritiva por tabelas e gráficos de frequência simples, com respectivas medidas de tendência central para as variáveis contínuas.

A estatística descritiva analisou características da coorte. Variáveis categóricas são comparadas usando os testes Chi-quadrado (teste exato de Fisher's para tabela 2x2 e teste exato de Freeman-Halton para 2xR onde R é o número de categorias). Conduziu-se análise univariada para cada variável individualmente. Fatores com associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) foram inseridos no modelo de análise multivariada. Empregou-se um modelo para regressão logística que avaliou os fatores preditivos para a ocorrência de infecção por vírus respiratórios, uso de ventilação mecânica e óbito. Algumas variáveis categóricas e contínuas, possivelmente com influência sobre estas três variáveis dependentes, foram incluídas no modelo de regressão logística múltipla. O "odds ratio" (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) foram determinados.

As comparações de variáveis contínuas foram realizadas utilizando-se o teste T *Student*. O erro  $\alpha$  estabelecido foi de 5%.

Para a análise estatística foram considerados os episódios de internação e não os pacientes individualmente. Cada episódio de internação

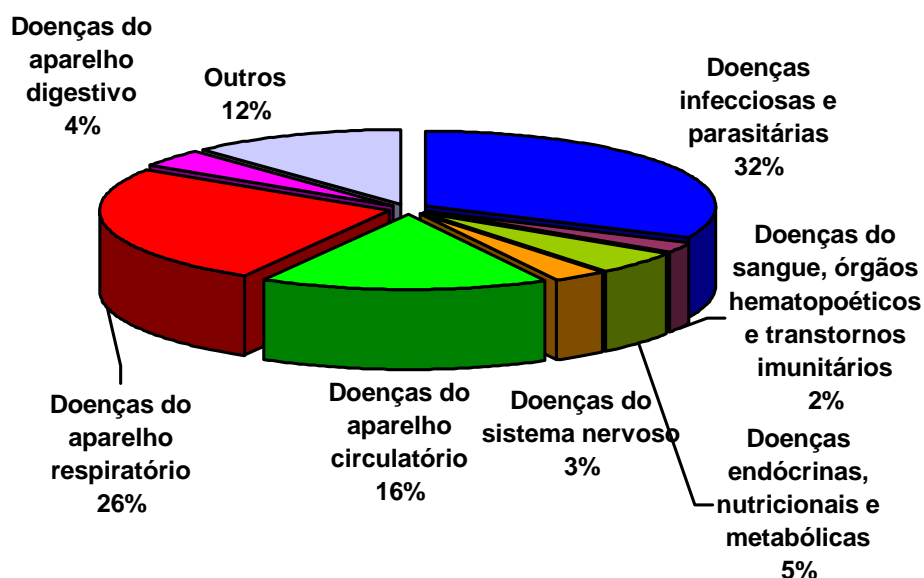
foi caracterizado como o período compreendido entre a data de internação na UTI e a data de alta na UTI.

### **3.4 Caracterização clínico-epidemiológica dos pacientes avaliados no estudo**

Houve um discreto predomínio do sexo masculino (52%) na população estudada e a idade variou de 16 a 92 anos.

Os diagnósticos, à admissão dos pacientes, em cada episódio de internação na UTI, foram classificados segundo o Código Internacional de Doenças (CID 10): 32% dos casos devido a doenças infecciosas e parasitárias, 26% por doenças do aparelho respiratório, 16% por doenças do aparelho circulatório e 5% por doenças endócrinas, nutricionais e metabólicas (Figura 5).

**Figura 5 - Distribuição percentual dos diagnósticos principais dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP, segundo a CID 10 - 2003 a 2004**



Quando classificados por grupos sindrômicos ou por similaridade do diagnóstico responsável pela internação na UTI, observamos que as causas respiratórias, de origem infecciosa ou não, foram responsáveis pela internação de 43% dos pacientes (Tabela 5).

A maioria dos pacientes (76%) era, em média, portador de duas co-morbidades. Dezesesseis pacientes tinham o diagnóstico de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), sendo a contagem de linfócitos T CD4+ conhecida em apenas sete pacientes na internação. A maioria destes apresentava imunodeficiência avançada com baixos valores de linfócitos T CD4+ (9, 11, 40, 85, 122, 510 e 706 células/mm<sup>3</sup>). Os pacientes avaliados em 55 internações não apresentaram nenhum tipo de co-morbidade.



**Tabela 5 – Classificação e distribuição quanto ao diagnóstico  
sindrômico dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço  
de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

<b>DIAGNÓSTICO SINDRÔMICO</b>	<b>N (%)</b>
<b>Causas metabólicas</b>	23 (10)
<b>Causas neurológicas</b>	19 (8)
<b>Choque</b>	
Choque cardiogênico	5 (2)
Choque hipovolêmico	1 (0,5)
<b>Sepse</b>	
Sepse	14 (6)
Sepse grave	15 (6)
Choque séptico	33 (15)
<b>Causas respiratórias</b>	
doenças obstrutivas	12 (5)
insuficiência respiratória hipoxêmica	85 (37)
<b>Outros</b>	13 (6)
<b>Pós-operatório</b>	8 (3,5)

Treze pacientes (13/228 - 6%) tinham história de imunossupressão durante a internação ou em período recente. O tipo de imunossupressão de cada paciente consta na Tabela 6.

**Tabela 6 - Tipo de imunossupressão em 13 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

TIPO DE IMUNOSSUPRESSÃO	NÚMERO DE PACIENTES
<b>Quimioterapia</b>	
ABVD	1
CHOP	1
Ciclofosfamida	1
Ciclosporina	1
<b>Corticoterapia</b>	5
<b>Radioterapia</b>	2
<b>Associações</b>	2

A dependência química foi registrada em 52 pacientes (23%) sendo que um era dependente de drogas ilícitas e álcool, treze etilistas, 22 tabagistas e dezesseis dependentes de álcool e tabaco.

A vacinação contra Influenza no último ano foi referida em oito internações (4%), negada em 36 (16%) e desconhecida em 184 pacientes (81%).

Quanto às condições clínicas à admissão na UTI, a relação  $PO_2/FiO_2$  foi avaliada em 189 (83%) dos episódios de internação, sendo a média de 283. O APACHE de 24 horas foi avaliado em 220 episódios de internação sendo a média igual a 17.

As características da população estudada estão resumidas nas Tabela 7.

**Tabela 7 – Característica clínico-epidemiológicas dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP – 2003 a 2004**

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Gênero</b>		
Masculino	<b>118</b>	<b>51,7</b>
Feminino	<b>110</b>	<b>48,3</b>
<b>Idade (média, em anos)</b>	<b>54</b>	<b>-</b>
<b>Co-morbidades</b>	<b>173</b>	<b>76</b>
Hipertensão arterial	<b>116</b>	<b>51</b>
Cardiopatia	<b>76</b>	<b>33</b>
Diabetes mellitus	<b>68</b>	<b>30</b>
Nefropatia	<b>41</b>	<b>18</b>
DPOC / asma	<b>35</b>	<b>15</b>
Neoplasia	<b>26</b>	<b>11</b>
Doença cérebro-vascular	<b>22</b>	<b>10</b>
AIDS	<b>16</b>	<b>7</b>
Doenças reumatológicas	<b>13</b>	<b>6</b>
<b>Condição imunossupressora</b>	<b>13</b>	<b>6</b>
<b>Dependência química</b>	<b>52</b>	<b>23</b>
Etilismo	<b>30</b>	<b>13</b>
Tabagismo	<b>38</b>	<b>17</b>
Uso de drogas ilícitas	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>Relação PO<sub>2</sub>/ FiO<sub>2</sub> (média)</b>	<b>283</b>	<b>-</b>
<b>APACHE 24h (média)</b>	<b>17</b>	<b>-</b>

### **3.5 Aspectos éticos**

Para realização do estudo, o responsável legal e, quando possível, o paciente foram esclarecidos quanto aos objetivos e métodos, sendo o paciente incluído no estudo apenas após a concordância por escrito com os termos de consentimento livre e esclarecido pelo paciente ou seu responsável legal, de acordo com as normas do comitê de ética e pesquisa desta instituição.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em sessão realizada em 29/05/2003 sob o protocolo de pesquisa nº 360/03.

#### **4. RESULTADOS**

Foram avaliados 214 indivíduos, dos quais onze (5%) tiveram duas ou mais internações avaliadas totalizando 228 internações. Considerando-se cada internação como um novo paciente, devido a características de cada momento, nossa amostra constituiu-se de 228 pacientes. Destes pacientes foram colhidas e analisadas 549 amostras respiratórias, sendo o diagnóstico de **infecção por vírus respiratórios estabelecido em cinquenta e duas internações (23%)**.

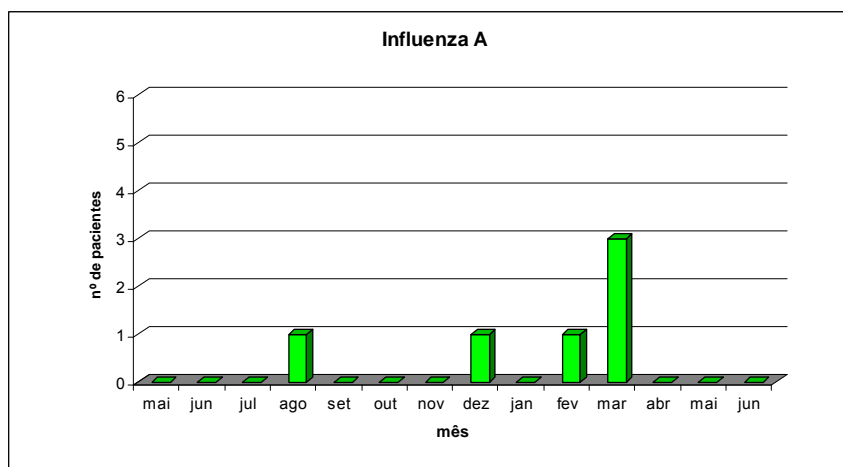
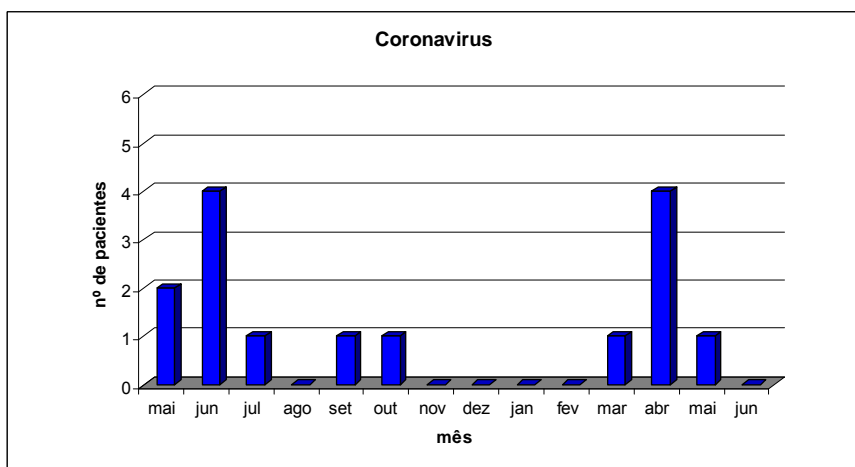
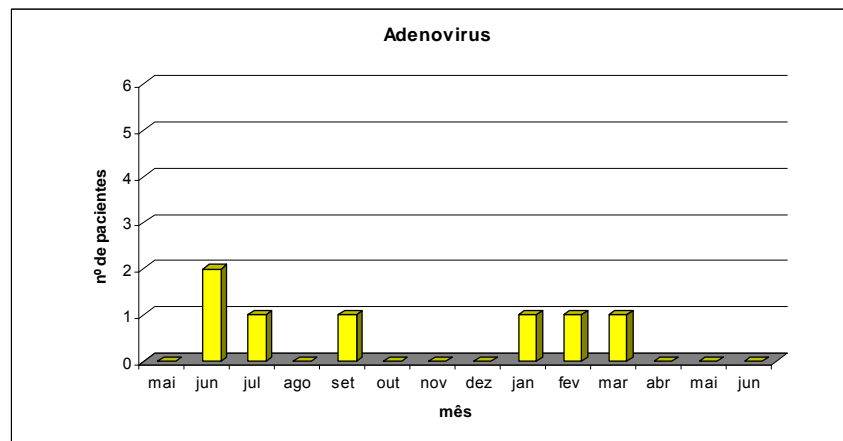
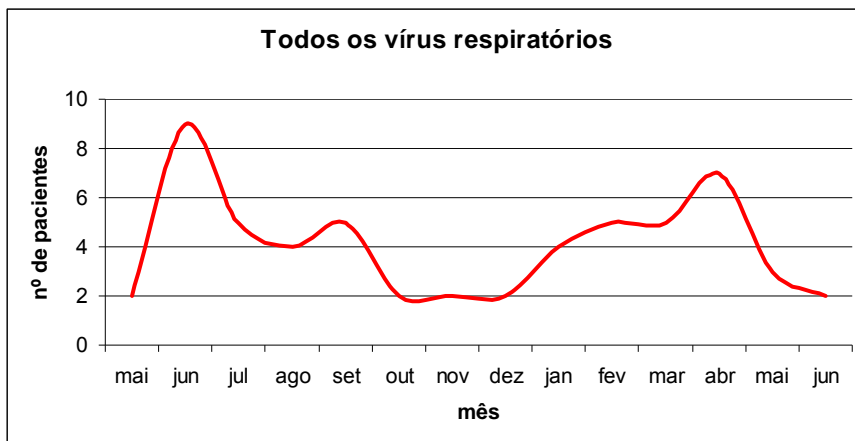
Três pacientes apresentaram duas infecções virais em datas distintas durante uma mesma internação e, outro paciente, em uma única amostra, teve diagnosticado três diferentes vírus. Desta forma, durante o nosso estudo foram diagnosticados **cinquenta e sete vírus**.

A presença de sintomas sugestivos de infecções em vias aéreas superiores foi registrada em 16 episódios de internação (7%), sendo que em quatro pacientes foi identificado vírus respiratórios (dois pacientes com rinovírus, um com adenovírus e um com vírus da Influenza A).

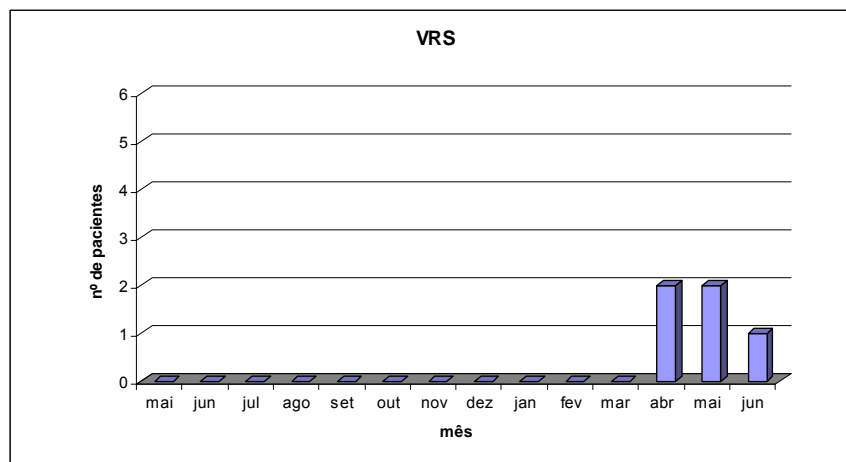
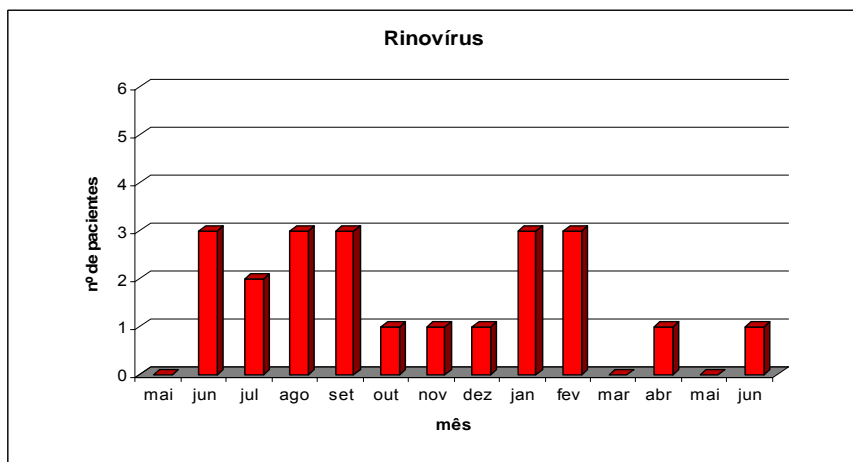
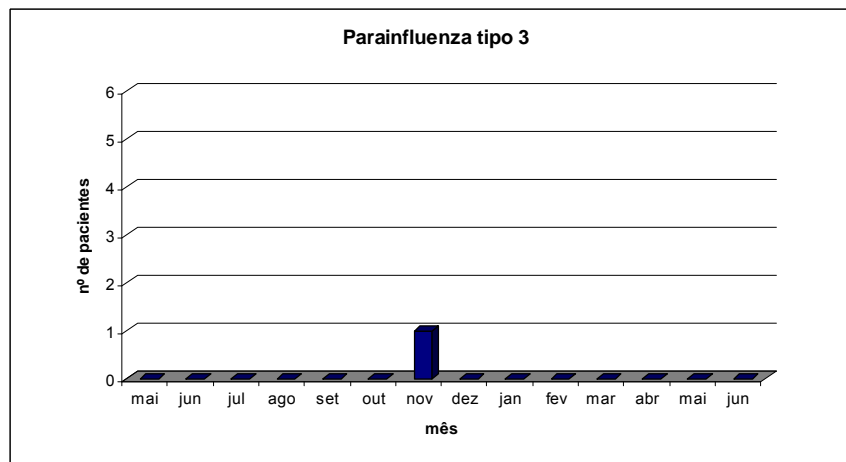
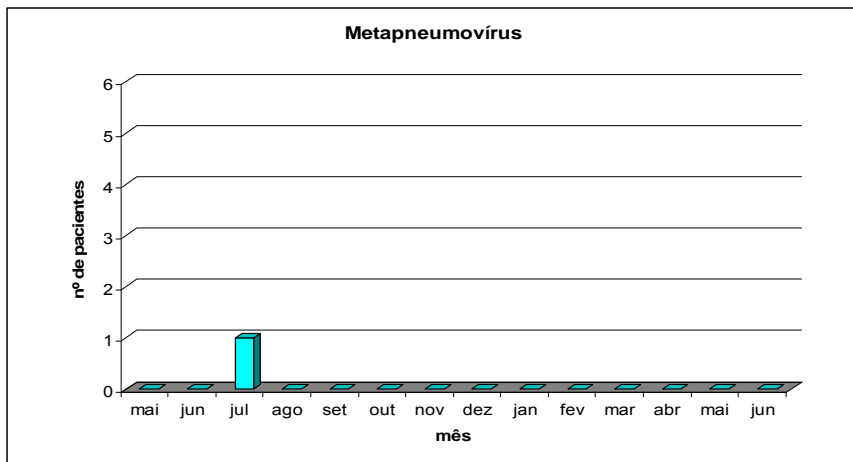
Houve diagnóstico de infecção por vírus respiratórios em todos os meses durante os quais o estudo foi realizado, sendo constatados dois picos de maior incidência: nos meses de junho a setembro de 2003 e janeiro a abril de 2004. As infecções pelo vírus da Influenza concentraram-se nos meses de dezembro de 2003 a março de 2004 e por VRS nos meses de abril a junho de 2004. Foram registrados dois períodos de pico para

coronavírus (maio a julho de 2003 e março a maio de 2004) e rinovírus (junho a setembro de 2003 e janeiro e fevereiro de 2004). Não houve determinação de sazonalidade nas infecções por adenovírus (Figuras 6 e 7).

**Figura 6 – Distribuição sazonal dos vírus respiratórios dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**



**Figura 7 – Distribuição sazonal dos vírus respiratórios dos 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**



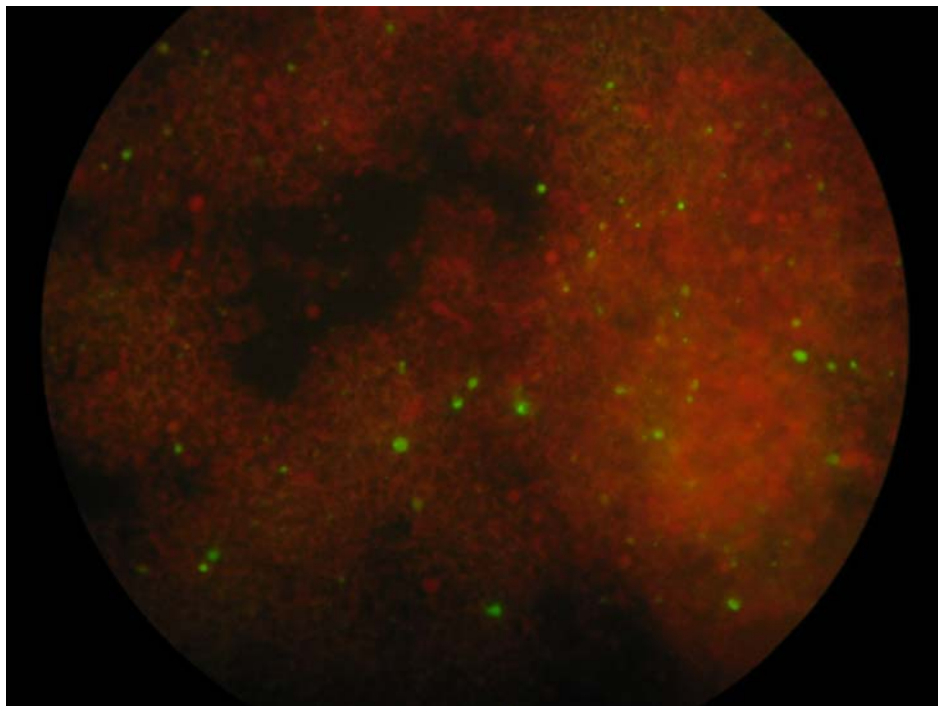


Não houve isolamento viral em nenhuma amostra submetida a cultura de células, sendo observada com freqüência contaminação bacteriana ou fúngica apesar do uso de antibiótico e antifúngico no preparo de amostras.

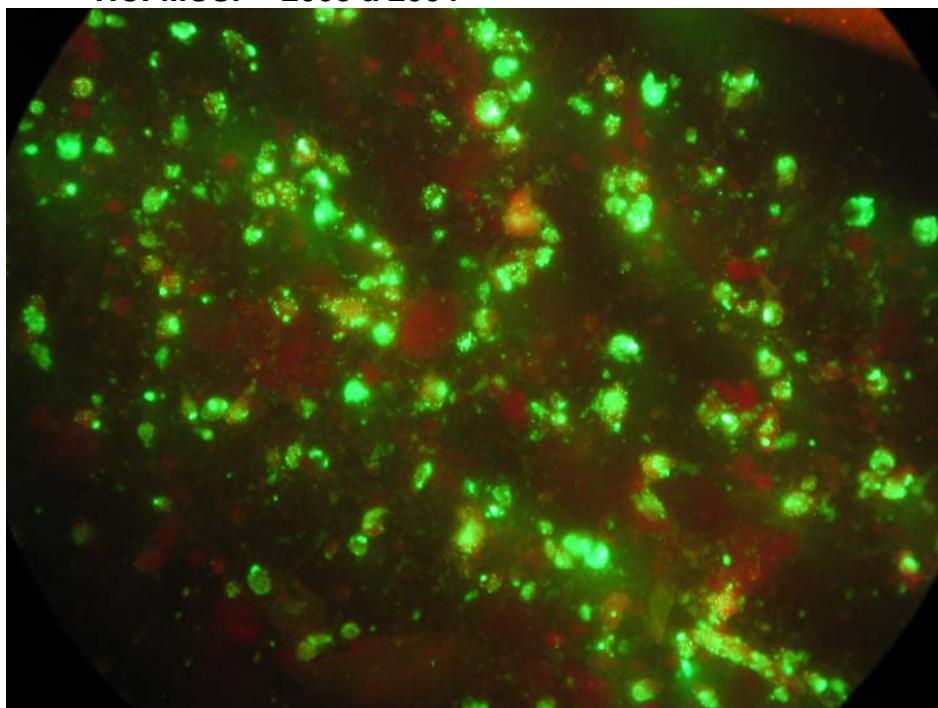
A imunofluorescência direta (IFD) foi realizada em todas amostras coletadas, sendo positiva para vírus respiratórios em 5% (12/228) das internações avaliadas. A IFD foi reagente para o vírus da Influenza A em seis pacientes (3% das internações - 6/228), para o Vírus Respiratório Sincicial em cinco (2% das internações - 5/228) e para o vírus Parainfluenza em um (0,5% das internações - 1/228). Não houve diagnóstico de nenhum caso de infecção por adenovírus e vírus da Influenza B pela técnica de IFD.

As Figuras 8, 9 e 10 ilustram o resultado de leitura por microscopia das lâminas com amostras clínicas submetidas a IFD para pesquisa do vírus da Influenza, VRS e vírus Parainfluenza, respectivamente.

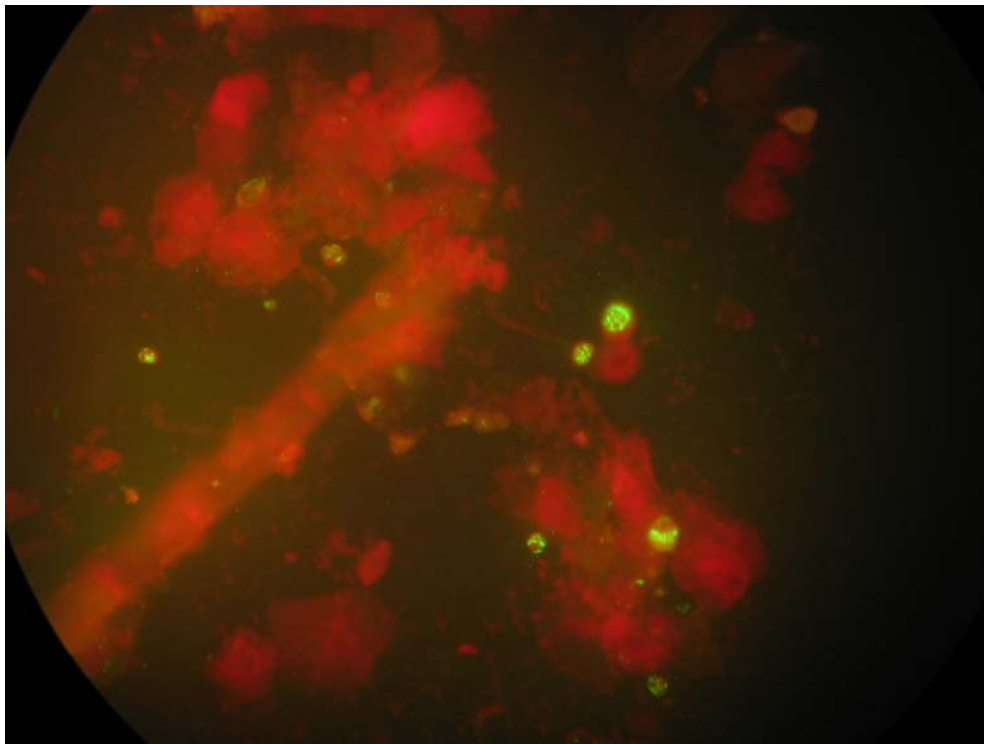
**Figura 8 – Registro fotográfico da leitura por microscópio de fluorescência de amostra positiva pela IFD para o vírus da Influenza A - HCFMUSP - 2003 a 2004**



**Figura 9 – Registro fotográfico da leitura por microscópio de fluorescência de amostra positiva pela IFD para o VRS – HCFMUSP - 2003 a 2004**



**Figura 10 – Registro fotográfico da leitura por microscópio de fluorescência de amostra positiva pela IFD para o vírus Parainfluenza – HCFMUSP - 2003 a 2004**



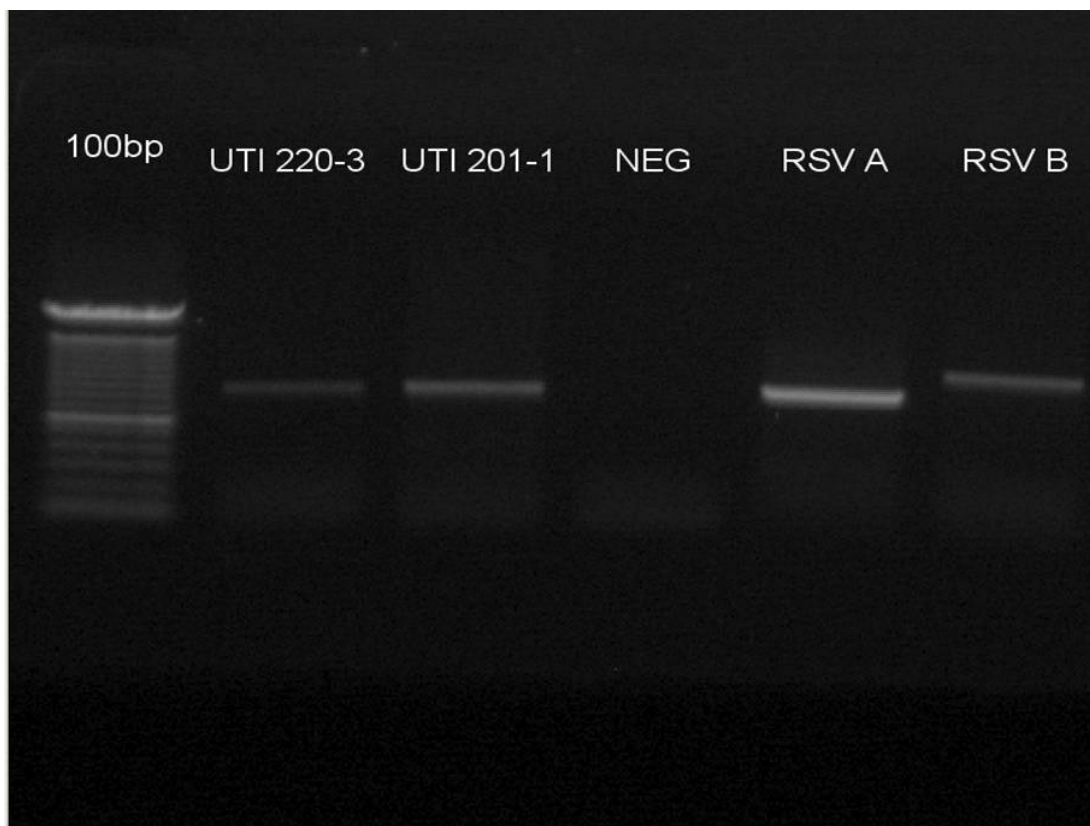
A PCR para pesquisa de vírus não foi realizada na totalidade dos pacientes avaliados devido à insuficiência de amostra. O número e percentual de amostras, casos positivos e respectivas prevalências para cada vírus encontram-se na Tabela 8.

**Tabela 8 – Relação percentual de PCR realizado, positividade e prevalência (%) para cada vírus entre os 228 pacientes admitidos na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

<b>VÍRUS</b>	<b>Nº. DE PACIENTES COM REALIZAÇÃO DE PCR (%)</b>	<b>CASOS POSITIVOS</b>	<b>PREVALÊNCIA</b>
Adenovírus	193 (90%)	7	4%
VRS	192 (90%)	3	2%
Coronavírus	190 (89%)	15	8%
Picornavírus (Rinovírus)	195 (86%)	22	10%
Metapneumovírus	190 (89%)	1	0,5%

Em três pacientes (pacientes 188, 201 e 220) o diagnóstico do VRS foi realizado concomitantemente pelas técnicas da IFD e PCR. Nos outros dois pacientes (pacientes 187 e 209) a infecção pelo VRS foi diagnosticada pela IFD, sendo em um caso a PCR negativa e no outro não foi realizada. A Figura 11 ilustra o resultado fotográfico dos produtos de amplificação da PCR para VRS dos pacientes 201 e 220.

**Figura 11 – Registro fotográfico dos produtos de amplificação da PCR para VRS das amostras clínicas dos pacientes 201 e 220 e dos controles da reação - HCFMUSP - 2003 a 2004**



**Trinta e quatro episódios de infecções virais** foram considerados de **origem nosocomial** (34/57 - **60%**). Este percentual variou para cada vírus, de modo que 50% das infecções por vírus da Influenza (3/6) e rinovírus (11/22), 57% das infecções por adenovírus (4/7), 73% das infecções por coronavírus (11/15) e 80% das infecções por VRS (4/5) foram consideradas de transmissão hospitalar. O único caso de infecção pelo vírus Parainfluenza tipo 3 foi de origem comunitária, enquanto o único caso de infecção pelo metapneumovírus foi considerado infecção nosocomial.

As características dos cinquenta e dois pacientes que tiveram vírus respiratório identificado encontram-se nas Tabelas 9 a 14.

**Tabela 9 - Caracterização dos pacientes com identificação de coronavírus em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

ID	SEXO	IDADE (anos)	DIH	DI-UTI	CAUSA DE ADMISSÃO NA UTI	CO-MORBIDADES	APACHE (24h)	EVOLUÇÃO FATAL
8	masc	73	62	6	<b>sepse grave</b>	<b>cardiopatia, HAS, DPOC, nefropatia</b>	13	não
13	fem	68	7	6	<b>pós-operatório</b>	<b>cardiopatia, HAS, DM</b>	21	não
14	fem	31	2	2	doença pulmonar obstrutiva	HAS, DM, DPOC	6	não
18	masc	67	24	10	<b>choque séptico</b>	<b>HAS, neoplasia</b>	16	não
34	masc	46	10	4	<b>insuf. resp. hipoxêmica</b>	<b>cardiopatia, HAS</b>	18	não
36	masc	87	11	6	<b>choque cardiogênico</b>	<b>cardiopatia, HAS, DPOC, nefropatia</b>	23	sim
39	masc	29	1	1	outras	-	31	não
76	fem	43	26	21	<b>causa metabólica</b>	<b>HAS, DM, nefropatia</b>	15	sim
180	masc	41	3	3	causa metabólica	-	5	não
190	masc	42	34	5	<b>insuf. resp. hipoxêmica</b>	<b>HAS, nefropatia, AIDS</b>	24	não
198	masc	29	7	4	<b>insuf. resp. hipoxêmica</b>	-	24	sim

Legenda: ID: identificação do paciente no estudo, DIH: dia de internação hospitalar, DI-UTI: dia de internação na UTI, masc: sexo masculino, fem: sexo feminino, insuf. resp. hipoxêmica: insuficiência respiratória hipoxêmica, HAS: hipertensão arterial sistêmica, DM: diabetes mellitus, DPOC: doenças do aparelho respiratório (doença pulmonar obstrutiva crônica ou asma), AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida. Os dados em negrito são referentes aos pacientes com infecção viral respiratória consideradas de origem nosocomial.

**Tabela 10 - Caracterização dos pacientes com identificação de adenovírus em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

ID	SEXO	IDADE (anos)	DIH	DI-UTI	CAUSA DE ADMISSÃO NA UTI	CO-MORBIDADES	APACHE (24h)	EVOLUÇÃO FATAL
23	fem	92	4	4	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatia, HAS, nefropatia	32	sim
30	masc	71	9	5	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatia, HAS, DM, DPOC, nefropatia	26	sim
<b>48</b>	<b>fem</b>	<b>33</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>insuf. resp. hipoxêmica</b>	<b>HAS, DPOC</b>	<b>26</b>	<b>não</b>
73	masc	21	4	2	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatia	17	sim
<b>110</b>	<b>fem</b>	<b>69</b>	<b>84</b>	<b>7</b>	<b>choque séptico</b>	<b>HAS, DM</b>	<b>21</b>	<b>sim</b>
<b>141</b>	<b>fem</b>	<b>43</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>causa metabólica</b>	<b>DM, reumatopatia</b>	<b>25</b>	<b>não</b>

Legenda: ID: identificação do paciente no estudo, DIH: dia de internação hospitalar, DI-UTI: dia de internação na UTI, masc: sexo masculino, fem: sexo feminino, insuf. resp. hipoxêmica: insuficiência respiratória hipoxêmica, HAS: hipertensão arterial sistêmica, DM: diabetes mellitus, DPOC: doenças do aparelho respiratório (doença pulmonar obstrutiva crônica ou asma). Os dados em negrito são referentes aos pacientes com infecção viral respiratória consideradas de origem nosocomial.

**Tabela 11 - Caracterização dos pacientes com identificação de rinovírus em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

<b>ID</b>	<b>SEXO</b>	<b>IDADE (anos)</b>	<b>DIH</b>	<b>DI-UTI</b>	<b>CAUSA DE ADMISSÃO NA UTI</b>	<b>CO-MORBIDADES</b>	<b>APACHE (24h)</b>	<b>EVOLUÇÃO FATAL</b>
31	masc	22	13	6	choque séptico	neoplasia	26	sim
33	fem	37	5	4	insuf. resp. hipoxêmica	AIDS	14	não
42	masc	63	1	1	causas neurológicas	HAS	21	sim
43	masc	67	14	4	choque séptico	HAS, DPOC	15	sim
54	masc	46	7	6	sepse grave	HAS	10	não
57	masc	25	19	17	choque séptico	neoplasia	19	não
61	masc	49	9	9	choque séptico	HAS	13	sim
64	masc	60	1	0	doença pulmonar obstrutiva	cardiopatía, HAS, nefropatia	17	não
71	masc	74	5	1	pós-operatório	HAS, DCV	22	sim
72	fem	65	5	3	sepse	HAS, neoplasia	15	sim
92	fem	48	41	1	causas neurológicas	HAS	40	sim
95	fem	65	3	3	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatía, HAS, DM	11	não

continua



**Tabela 11 - Caracterização dos pacientes com identificação de rinovírus em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 (conclusão)**

ID	SEXO	IDADE (anos)	DIH	DI-UTI	CAUSA DE ADMISSÃO NA UTI	CO-MORBIDADES	APACHE (24h)	EVOLUÇÃO FATAL
114	fem	56	1	1	insuf. resp. hipoxêmica	HAS	-	não
120	masc	39	2	0	insuf. resp. hipoxêmica	AIDS	29	sim
129	masc	37	4	3	insuf. resp. hipoxêmica	AIDS	26	sim
131	fem	80	4	1	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatia, HAS, DCV	17	não
<b>144</b>	<b>masc</b>	<b>82</b>	<b>18</b>	<b>1</b>	<b>outras</b>	<b>cardiopatia, HAS, DM, nefropatia</b>	<b>23</b>	<b>não</b>
147	masc	23	3	3	insuf. resp. hipoxêmica	AIDS	25	sim
<b>155</b>	<b>fem</b>	<b>49</b>	<b>63</b>	<b>3</b>	<b>sepsis</b>	<b>HAS, DM, DCV, nefropatia</b>	<b>26</b>	<b>sim</b>
<b>181</b>	<b>masc</b>	<b>55</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>insuf. resp. hipoxêmica</b>	<b>AIDS</b>	<b>17</b>	<b>não</b>
<b>224</b>	<b>masc</b>	<b>19</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>choque séptico</b>	<b>cardiopatia, neoplasia</b>	<b>5</b>	<b>não</b>

Legenda: ID: identificação do paciente no estudo, DIH: dia de internação hospitalar, DI-UTI: dia de internação na UTI, masc: sexo masculino, fem: sexo feminino, insuf. resp. hipoxêmica: insuficiência respiratória hipoxêmica, HAS: hipertensão arterial sistêmica, DCV: doença cérebro-vascular, DM: diabetes mellitus, DPOC: doenças do aparelho respiratório (doença pulmonar obstrutiva crônica ou asma), AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida. Os dados em negrito são referentes aos pacientes com infecção viral respiratória consideradas de origem nosocomial.

**Tabela 12 - Caracterização dos pacientes com identificação do vírus da Influenza A em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

ID	SEXO	IDADE (anos)	DIH	DI-UTI	CAUSA DE ADMISSÃO NA UTI	CO-MORBIDADES	APACHE (24h)	EVOLUÇÃO FATAL
60	masc	63	15	4	sepsse grave	cardiopatia, HAS, DM, nefropatia, neoplasia	16	sim
110	fem	69	29	28	choque séptico	HAS, DM	15	sim
159	fem	30	1	1	doença pulmonar obstrutiva	DPOC	8	não
160	fem	76	25	20	doença pulmonar obstrutiva	cardiopatia, HAS, DM, DPOC	14	sim
164	masc	30	2	1	causa neurológica	-	15	sim
167	fem	51	4	3	causa metabólica	DM	8	não

Legenda: ID: identificação do paciente no estudo, DIH: dia de internação hospitalar, DI-UTI: dia de internação na UTI, masc: sexo masculino, fem: sexo feminino, insuf. resp. hipoxêmica: insuficiência respiratória hipoxêmica, HAS: hipertensão arterial sistêmica, DM: diabetes mellitus, DPOC: doenças do aparelho respiratório (doença pulmonar obstrutiva crônica ou asma). Os dados em negrito são referentes aos pacientes com infecção viral respiratória consideradas de origem nosocomial.

**Tabela 13 - Caracterização dos pacientes com identificação de Vírus Respiratórios Sincicial, vírus da Parainfluenza e Metapneumovírus em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

ID	SEXO	IDADE (anos)	DIH	DI-UTI	VÍRUS	CAUSA DE ADMISSÃO NA UTI	CO-MORBIDADES	APACHE (24h)	EVOLUÇÃO FATAL
209	fem	58	10	10	VRS	doença pulmonar obstrutiva	HAS, DM, DPOC	21	não
220	masc	81	19	13	VRS	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatía, HAS, DM, nefropatia	28	não
101	masc	67	1	0	Parainfluenza	choque séptico	cardiopatía, HAS, DM, nefropatia, neoplasia	39	sim
53	fem	87	7	6	MPVh	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatía, HAS,	16	não

Legenda: ID: identificação do paciente no estudo, DIH: dia de internação hospitalar, DI-UTI: dia de internação na UTI, masc: sexo masculino, fem: sexo feminino, VRS: vírus respiratórios sincicial, Parainfluenza: vírus da Parainfluenza tipo 3, MPVh: Metapneumovírus insuf. resp. hipoxêmica: insuficiência respiratória hipoxêmica, HAS: hipertensão arterial sistêmica, DM: diabetes mellitus, DPOC: doenças do aparelho respiratório (doença pulmonar obstrutiva crônica ou asma). Os dados em negrito são referentes aos pacientes com infecção viral respiratória consideradas de origem nosocomial.

**Tabela 14 - Caracterização dos pacientes com identificação de múltiplos vírus respiratórios em lavado nasofaríngeo durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

ID	SEXO	IDADE (anos)	DIH	DI-UTI	VÍRUS	CAUSA DE ADMISSÃO NA UTI	CO-MORBIDADES	APACHE (24h)	EVOLUÇÃO FATAL
19	masc	75	13	12	Rinovírus	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatia, HAS, DM, DPOC, nefropatia	20	não
			20	19	Coronavírus				
187	masc	62	12	5	VRS	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatia, HAS, DM	14	não
			26	19	Coronavírus				
188	fem	65	15	11	VRS	insuf. resp. hipoxêmica	cardiopatia, HAS, DCV	25	sim
			25	21	Coronavírus				
201	fem	29	3	1	VRS	insuf. resp. hipoxêmica	AIDS	26	sim
			3	1	Coronavírus				
			3	1	Adenovírus				

Legenda: ID: identificação do paciente no estudo, DIH: dia de internação hospitalar, DI-UTI: dia de internação na UTI, masc: sexo masculino, fem: sexo feminino, VRS: vírus respiratórios sincicial, insuf. resp. hipoxêmica: insuficiência respiratória hipoxêmica, HAS: hipertensão arterial sistêmica, DM: diabetes mellitus, DPOC: doenças do aparelho respiratório (doença pulmonar obstrutiva crônica ou asma), DCV: doença cérebro-vascular, AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida. Os dados em negrito são referentes aos pacientes com infecção viral respiratória consideradas de origem nosocomial.

Através da **análise univariada** verificamos associação entre a ocorrência de infecção por vírus respiratório e a **presença de comorbidades**, sendo a **HAS e AIDS** as doenças com significância estatística. Também foi observada associação com a **ocorrência de quadro respiratório à admissão na UTI**, a gravidade do quadro clínico admissional definido pelo valor de **APACHE** e o uso de **ventilação mecânica invasiva**. Na **análise multivariada**, através de regressão logística, averiguamos a manutenção da associação com **HAS (OR 3,95)**, **ocorrência de quadros respiratórios à admissão na UTI (OR 2,22)** e o valor de **APACHE (OR 1,06)**. Além disso, a **idade (OR 0,96)**, inclusa neste modelo, demonstra associação estatisticamente significativa. Constatamos, portanto, uma correlação direta entre o diagnóstico de infecção viral e aumento do valor do APACHE e uma relação inversamente proporcional com a idade. Deste modo, cada um ponto no valor do APACHE representou um acréscimo de 5% para a chance de ocorrência de infecção viral (**OR 1,05, IC95% 1,01-1,10,  $p < 0,05$** ) (Tabelas 15 e 16).

Para elucidar melhor, a existência de associação entre infecção por vírus respiratórios e o uso de assistência ventilatória mecânica invasiva (VMI), elaboramos um outro modelo estatístico tendo como variável dependente o modo ventilatório. Neste caso, verificamos na **análise univariada** a associação de ventilação mecânica invasiva e **ocorrência de quadros respiratórios à admissão na UTI, HAS, valor de APACHE, infecção por vírus respiratório, infecção bacteriana, infecção fúngica, tempo de internação na UTI e tempo de internação hospitalar**. Com a

**análise multivariada**, observamos a persistência do **APACHE** (*OR* 1,07), **infecção por vírus respiratório** (*OR* 1,98) e **tempo de internação na UTI** (*OR* 1,16) (Tabela 17).

Quanto à **mortalidade** dos pacientes estudados, a **análise univariada** demonstrou associação com **idade**, presença de comorbidades (**HAS, cardiopatia, nefropatia ou neoplasia**), valor do **APACHE**, **infecção bacteriana, infecção fúngica e tempo de internação na UTI**. No entanto, pelo modelo de regressão logística, confirmamos apenas a associação de **cardiopatia** (*OR* 3,58), **neoplasia** (*OR* 3,20) e valor do **APACHE** (*OR* 1,09). Contudo, não houve demonstração de associação entre o diagnóstico de infecção por vírus respiratórios ( $p=0,118$ ) e a ocorrência de óbito (Tabela 18).

Em resumo, os pacientes mais jovens internados na UTI apresentaram uma maior chance para a ocorrência de infecção viral respiratória. Além disso, outros fatores de risco para o diagnóstico viral consistiram na presença de HAS, quadro respiratório na admissão à UTI e maior valor do APACHE. Houve uma maior necessidade de uso de ventilação mecânica invasiva naqueles com infecção viral, porém, não houve associação com mortalidade.

**Tabela 15 – Sumário da análise univariada de fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

VARIÁVEIS	PRESENÇA DE INFECÇÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIO		TOTAL		OR (IC 95%)	P
	N	%	N	%		
<b>Gênero</b>						
Masculino	31	60	118	52	1	
Feminino	21	40	110	48	0,66 (0,35-1,24)	0,198
<b>Idade (anos)</b>						
< 65	32	62	143	63	1	
≥ 65	20	38	85	37	0,94 (0,50-1,77)	0,84
acrécimo de ano na idade					1,00 (0,98-1,01)	0,80
<b>Classificação sindrômica</b>						
outras causas	9	17	46	20	1	
insuficiência respiratória hipoxêmica	21	40	85	37	1,35 (0,56-3,25)	0,76
Sepse	14	27	62	27	1,20 (0,47-3,07)	0,91

continua

**Tabela 15 – Sumário da análise univariada de fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 (continuação)**

VARIÁVEIS	PRESEÇA DE INFECCÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIO		TOTAL		OR (IC 95%)	P
	N	%	N	%		
causas metabólicas	3	6	23	10	0,62 (0,15-2,54)	0,18
doenças obstrutivas	5	10	12	5	2,94 (0,75-11,43)	0,08
<b>Quadro respiratório na admissão</b>	<b>25</b>	<b>48</b>	<b>82</b>	<b>36</b>	<b>1,93 (1,03-3,63)</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Presença de co-morbidades</b>	<b>46</b>	<b>88</b>	<b>173</b>	<b>76</b>	<b>2,96 (1,19-7,37)</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>HAS</b>	<b>35</b>	<b>67</b>	<b>116</b>	<b>51</b>	<b>2,41 (1,26-4,63)</b>	<b>&lt;0,05</b>
Cardiopatía	20	38	76	33	1,34 (0,70-2,55)	0,37
Diabetes mellitus	18	35	68	30	1,33 (0,69-2,58)	0,39
Nefropatia	13	25	41	18	1,76 (0,84-3,72)	0,137
DPOC/asma	10	19	35	15	1,44 (0,64-3,23)	0,38
Neoplasia	7	13	26	11	1,29 (0,51-3,25)	0,60

continua



**Tabela 15 – Sumário da análise univariada de fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 (continuação)**

VARIÁVEIS	PRESEÇA DE INFECCÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIO		TOTAL		OR (IC 95%)	P
	N	%	N	%		
Doença cérebro-vascular	4	8	22	10	0,73 (0,24-2,27)	0,59
<b>AIDS</b>	<b>7</b>	<b>13</b>	<b>16</b>	<b>7</b>	<b>2,89 (1,02-8,18)</b>	<b>&lt;0,05</b>
Reumatopatia	3	6	13	6	1,02 (0,27-3,84)	0,98
<b>Tabagismo</b>	7	13	38	17	0,73 (0,30-1,76)	0,48
<b>Uso de drogas imunossupressoras</b>					0,60 (0,13-2,80)	0,52
<b>APACHE (N=228)</b>						
acrécimo de uma unidade					<b>1,05 (1,01-1,10)</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Ventilação mecânica invasiva</b>	<b>41</b>	<b>79</b>	<b>147</b>	<b>64</b>	<b>2,46 (1,19-5,11)</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Infecção bacteriana</b>	26	50	97	43	1,48 (0,79-2,75)	0,22
<b>Infecção fúngica</b>	9	17	35	15	1,21 (0,53-2,77)	0,66

continua

**Tabela 15 – Sumário da análise univariada de fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 (conclusão)**

VARIÁVEIS	PRESENÇA DE INFECCÃO POR VÍRUS RESPIRATÓRIO		TOTAL		OR (IC 95%)	P
	N	%	N	%		
<b>Tempo de internação na UTI</b>						
acrécimo de um dia					<b>1,03 (1,00-1,06)</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Tempo de internação hospitalar</b>						
acrécimo de um dia					1,00 (0,99-1,01)	0,79

**Tabela 16 - Sumário da análise de fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios, através da regressão logística, dos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

VARIÁVEIS	OR (IC 95%)	P
<b>Gênero</b>		
Masculino	1	
Feminino	0,64 (0,31 – 1,31)	0,22
<b>Idade</b>		
acréscimo de ano na idade	<b>0,96 (0,94 – 0,99)</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Quadro respiratório na admissão</b>	<b>2,22 (1,09-4,54)</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Presença de co-morbidades</b>	1,69 (0,44-6,40)	0,44
<b>HAS</b>	<b>3,95 (1,31-11,95)</b>	<b>&lt;0,05</b>
AIDS	3,28 (0,79-13,62)	0,103
<b>APACHE (N=228)</b>		
acréscimo de uma unidade	<b>1,06 (1,01-1,11)</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Ventilação mecânica invasiva</b>	1,23 (0,49-3,07)	0,66
<b>Tempo de internação na UTI</b>		
acréscimo de um dia	1,03 (0,99-1,07)	0,105

**Tabela 17 - Sumário da análise univariada e multivariada de fatores relacionados à ventilação mecânica invasiva, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

VARIÁVEIS	UNIVARIADA		MULTIVARIADA	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i>
<b>Gênero</b>				
Masculino	1		1	
Feminino	0,59 (0,34-1,01)	0,056	0,56 (0,28-1,12)	0,10
<b>Idade (anos)</b>				
acrécimo de um ano na idade	1,01 (1,00-1,03)	0,052	0,99 (0,97-1,01)	0,30
<b>Classificação sindrômica</b>				
outras causas	1			
<b>Insuficiência respiratória hipoxêmica</b>	<b>1,96 (0,92-4,14)</b>	<b>&lt; 0,05</b>		
<b>Sepse</b>	<b>2,21 (0,98-4,99)</b>	<b>&lt; 0,05</b>		
<b>causas metabólicas</b>	<b>0,34 (0,12-0,97)</b>	<b>&lt; 0,05</b>		
doenças obstrutivas	1,08 (0,30-3,90)	0,97		

continua

**Tabela 17 - Sumário da análise univariada e multivariada de fatores relacionados à ventilação mecânica invasiva, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 (continuação)**

VARIÁVEIS	UNIVARIADA		MULTIVARIADA	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i>
<b>Quadro respiratório na admissão</b>	<b>1,85 (1,03-3,34)</b>	<b>&lt; 0,05</b>		
<b>Presença de co-morbidades</b>	1,74 (0,94-3,23)	0,079		
<b>HAS</b>	<b>1,89 (1,09-3,27)</b>	<b>&lt;0,05</b>	1,58 (0,71-3,55)	0,26
Cardiopatia	1,42 (0,79-2,56)	0,24		
Diabetes mellitus	1,01 (0,56-1,84)	0,96		
Nefropatia	1,23 (0,60-2,53)	0,57		
DPOC/asma	0,92 (0,44-1,94)	0,83		
Neoplasia	1,97 (0,76-5,12)	0,165		
Doença cérebro-vascular	1,20 (0,47-3,08)	0,70		
AIDS	4,16 (0,92-18,76)	0,064		
Reumatopatia	0,62 (0,20-1,93)	0,41		

continua

**Tabela 17 - Sumário da análise univariada e multivariada de fatores relacionados à ventilação mecânica invasiva, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 (conclusão)**

VARIÁVEIS	UNIVARIADA		MULTIVARIADA	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>P</i>
Tabagismo	1,24 (0,59-2,60)	0,58		
Uso de drogas imunossupressoras	0,62 (0,20 – 1,93)	0,41		
<b>APACHE (N=228)</b>				
acrécimo de uma unidade	<b>1,08 (1,04-1,12)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>1,07 (1,02-1,12)</b>	<b>&lt;0,05</b>
Infecção por vírus respiratório	<b>2,46 (1,19-5,11)</b>	<b>&lt; 0,05</b>	<b>1,98 (1,13-2,64)</b>	<b>&lt; 0,05</b>
Infecção bacteriana	<b>4,99 (2,64-9,42)</b>	<b>&lt; 0,001</b>	1,71 (0,78-3,77)	0,180
Infecção fúngica	<b>7,23 (2,14-24,45)</b>	<b>&lt; 0,05</b>	2,26 (0,60-8,52)	0,23
<b>Tempo de internação na UTI</b>				
acrécimo de um dia	<b>1,19 (1,12-1,26)</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>1,16 (1,08-1,25)</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Tempo de internação hospitalar</b>				
acrécimo de um dia	<b>1,01 (1,00-1,02)</b>	<b>&lt; 0,05</b>	1,00 (0,99-1,01)	0,80

**Tabela 18 - Sumário da análise univariada e multivariada de fatores de risco para óbito, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004**

VARIÁVEIS	UNIVARIADA		MULTIVARIADA	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i>
<b>Gênero</b>				
Masculino	1		1	
Feminino	0,82 (0,47-1,41)	0,47	1,21 (0,60-2,41)	0,60
<b>Idade (anos)</b>				
acrécimo de um ano na idade	<b>1,02 (1,00-1,03)</b>	<b>&lt;0,05</b>	0,99 (0,97-1,01)	0,38
<b>Classificação sindrômica</b>				
Outras causas	1			
Insuficiência respiratória hipoxêmica	0,74 (0,35-1,54)	0,56		
Sepse	0,96 (0,44-2,09)	0,134		
Causas metabólicas	0,30 (0,09-1,02)	0,111		
Doenças obstrutivas	0,47 (0,11-1,98)	0,60		

continua

**Tabela 18 - Sumário da análise univariada e multivariada de fatores de risco para óbito, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 (continuação)**

VARIÁVEIS	UNIVARIADA		MULTIVARIADA	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>P</i>
<b>Quadro respiratório na admissão</b>	1,11 (0,63-1,95)	0,72		
<b>Presença de co-morbidades</b>	1,60 (0,82-3,13)	0,165		
<b>HAS</b>	<b>1,91 (1,10-3,33)</b>	<b>&lt;0,05</b>	1,00 (0,43-2,33)	1,00
<b>Cardiopatia</b>	<b>3,11 (1,75-5,54)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>3,58 (1,52-8,45)</b>	<b>&lt; 0,05</b>
Diabetes mellitus	1,22 (0,67-2,19)	0,52		
<b>Nefropatia</b>	<b>2,02 (1,02-4,00)</b>	<b>&lt;0,05</b>	1,05 (0,41-2,65)	0,92
DPOC/asma	0,70 (0,32-1,55)	0,38		
<b>Neoplasia</b>	<b>3,45 (1,48-8,02)</b>	<b>&lt;0,05</b>	<b>3,20 (1,08-9,48)</b>	<b>&lt; 0,05</b>
Doença cérebro-vascular	1,99 (0,82-4,81)	0,129		
AIDS	1,94 (0,70-5,39)	0,20		
Reumatopatia	1,63 (0,53-5,04)	0,39		
<b>Tabagismo</b>	0,71 (0,33-1,53)	0,39		

continua



**Tabela 18 - Sumário da análise univariada e multivariada de fatores de risco para óbito, nos 228 pacientes avaliados durante internação na UTI do Serviço de Clínica Médica do HCFMUSP - 2003 a 2004 (conclusão)**

VARIÁVEIS	UNIVARIADA		MULTIVARIADA	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>P</i>
Uso de drogas imunossupressoras	2,27 (0,74 – 7,00)	0,154		
<b>APACHE (N=228)</b>				
acrécimo de uma unidade	<b>1,11 (1,07-1,16)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>1,09 (1,04-1,14)</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Ventilação mecânica invasiva</b>	<b>10,43 (4,50-24,15)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>8,41 (3,15-22,45)</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Infecção por vírus respiratório</b>	1,66 (0,88-3,11)	0,118		
<b>Infecção bacteriana</b>	<b>2,57 (1,47-4,50)</b>	<b>&lt; 0,05</b>	1,69 (0,77-3,69)	0,188
<b>Infecção fúngica</b>	<b>4,57 (2,13-9,81)</b>	<b>&lt; 0,001</b>	2,46 (0,99-6,09)	0,052
<b>Tempo de internação na UTI</b>				
acrécimo de um dia	<b>1,03 (1,00-1,06)</b>	<b>&lt; 0,05</b>	0,97 (0,93-1,01)	0,155
<b>Tempo de internação hospitalar</b>				
acrécimo de um dia	1,00 (0,99-1,01)	0,57		

## 5. DISCUSSÃO

A prevalência de infecção por vírus respiratórios tem sido descrita em diversos trabalhos que avaliam crianças e/ou adultos, variando de 22% a 60%.<sup>17;52;79;99;156;165-169</sup> Os estudos, porém, com adultos incluem mais freqüentemente apenas indivíduos com sintomas respiratórios ou pacientes imunossuprimidos. Poucos trabalhos avaliam pacientes internados em UTI adulta, independentemente de condições ou doenças imunossupressoras.<sup>52;154-157;167</sup> Este perfil mais amplo de pacientes adultos internados em UTI foi objeto de nosso estudo que verificou uma prevalência de 23%.

Em publicação recente, Diniz *et al.* (2005) apresentaram os resultados da análise de 78 recém-nascidos avaliados no período de novembro de 2000 a setembro de 2002, durante internação em uma Unidade de Terapia intensiva Neonatal, em nossa instituição, na cidade de São Paulo. Os critérios de inclusão utilizados foram admissão devido à insuficiência respiratória aguda e assistência ventilatória mecânica. Foram coletadas amostras de aspirado traqueal à admissão e a cada sete dias durante permanência sob ventilação mecânica invasiva. Através de isolamento viral em culturas de células e imunofluorescência direta foi diagnosticada infecção em 29,5% dos recém-natos, sendo o VRS encontrado em 11 pacientes, vírus da Influenza em oito e co-infecções virais em quatro. Todas as infecções foram classificadas como de origem nosocomial, pois nenhuma amostra foi positiva durante a coleta inicial dos pacientes.<sup>170</sup> Este estudo

diferiu do nosso não apenas pela faixa etária envolvida mas, principalmente, pelo desenho do estudo, que incluía somente pacientes sob ventilação mecânica e com a coleta de uma única amostra clínica a cada semana.

A característica comum dos estudos que avaliaram adultos internados em UTI foi a inclusão somente daqueles que necessitaram de assistência ventilatória mecânica. Deste modo, durante o período de um surto comunitário de VRS, Guidry *et al.*<sup>171</sup> avaliaram 61% dos pacientes submetidos a entubação (11/18) e confirmaram infecção viral em 45% dos pacientes avaliados (5/11).<sup>172</sup> Em nosso estudo se tivéssemos avaliado somente os pacientes submetidos a ventilação mecânica teríamos uma amostra com 147 pacientes , ou seja, 65% do total avaliado e com uma prevalência de 27,9%.

Legoff *et al.*<sup>173</sup> avaliaram 41 pacientes admitidos em uma UTI de um hospital parisiense com pneumonia de origem comunitária ou hospitalar. Através da realização de PCR diagnosticaram algum vírus respiratório em 29,8% dos 47 lavados broncoalveolares, sendo o vírus da Influenza A mais freqüentemente observado (sete casos). Não foram observadas diferenças em relação a idade, mortalidade, tempo de internação em UTI e tempo de ventilação invasiva quando comparados os pacientes com diagnóstico viral e aqueles com pneumonia bacteriana.<sup>174</sup>

Pacientes internados sob ventilação mecânica há mais de 48 horas foram avaliados por Daubin *et al.*<sup>155</sup> que analisaram aspirados traqueobrônquicos de 128 indivíduos. O diagnóstico de infecção por vírus respiratórios foi confirmado em trinta e cinco pacientes (27%), sendo o

rinovírus o agente mais freqüentemente identificado. O isolamento viral não foi associado a ocorrência de pneumonia relacionada a ventilação mecânica neste estudo.<sup>155</sup>

Outro estudo, conduzido por Cameron et al.<sup>52</sup>, diferiu dos achados de Daubin et al.<sup>155</sup> por pesquisar vírus respiratórios em adultos submetidos a ventilação mecânica nas primeiras 48 horas de internação. Foram avaliados 107 episódios de exacerbação de DPOC e os vírus foram apontados como os únicos agentes prováveis da descompensação clínica em 46 casos (43%). Nestes casos o vírus da Influenza foi mais freqüentemente identificado. Este estudo avaliou apenas infecções de origem comunitária.<sup>52</sup>

Embora de grande importância, estes estudos excluem de qualquer avaliação uma parcela dos pacientes internados nas UTI. Em nosso estudo a inclusão apenas dos pacientes sob ventilação mecânica, deixaria de avaliar 35% dos indivíduos de nossa amostra, e o número de casos com infecção viral diagnosticada reduziria de 52 para 41 casos. A avaliação de pacientes com e sem sintomas clínicos justificou-se pela possibilidade de ocorrência de infecções virais assintomáticas em 15 a 20% dos indivíduos infectados pelo VRS e em até 50% dos casos de infecção pelo vírus da Influenza.<sup>175;176</sup> Além disso, considerando as características dos pacientes internados na UTI avaliada, constatamos desde o início a dificuldade que seria o reconhecimento de sintomas clássicos de infecção em vias aéreas superiores (coriza, obstrução nasal, tosse, espirro) neste grupo de indivíduos. É importante salientar que mesmo naqueles sem assistência ventilatória, a presença de alterações do nível de consciência devido a

causas patológicas ou drogas sedativas dificultam a coleta de informações referentes à sintomatologia. Outros fatores que interferem na percepção de sintomas pelo paciente internado na UTI são o uso de dispositivos (sondas ou cateteres) inseridos por via nasal e o uso de oxigênio através de dispositivos umidificados (macronebulização) devido a indicação por causas não respiratórias (ex: cardiopatia descompensada), alterando condições fisiológicas locais. É fato que nossa escolha de não restringir a inclusão de pacientes no estudo, também gera vieses que somente novos estudos similares poderão elucidar.

A variância dos valores de prevalência de infecção viral em adultos e crianças é conhecida e foi observada por Rovida et al.<sup>167</sup> através da análise de 239 aspirados de nasofaringe de 208 pacientes (135 crianças e 73 adultos) internados por infecção aguda de trato respiratório. Os autores verificaram uma prevalência de infecção viral respiratória quatro vezes maior nos pacientes pediátricos quando comparado com os adultos (60% x 15%).

167

Estes autores também avaliaram a sensibilidade de diferentes técnicas laboratoriais, observando uma frequência de resultados positivos de 31,9% (67/210) com o isolamento viral convencional em cultura de células HEp-2, LLC-MK2 e MDCK; 32,2% (53/236) com cultura "shell via" e 36,8% (53/144) através da imunofluorescência direta. Recentemente, Kuypers et al. analisaram 1138 amostras respiratórias armazenadas no Laboratório de Virologia da Universidade de Washington, referentes a espécimes nasais (1088 amostras), traqueais (44 amostras) e lavado broncoalveolar (seis

amostras) de crianças com mediana de idade de 16 meses. Os autores encontraram uma prevalência de infecções por vírus respiratórios de 38,3% com o uso de anticorpos fluorescentes e de 53,4% com a realização da PCR.<sup>99,167</sup>.

As técnicas moleculares têm permitido uma maior acurácia no diagnóstico viral, principalmente, pelo seu uso no reconhecimento de novos vírus respiratórios e no diagnóstico de vírus cujas demais técnicas laboratoriais apresentam menor sensibilidade. Para garantir uma maior sensibilidade diagnóstica, optamos por realizar a pesquisa dos vírus respiratórios através de três técnicas laboratoriais disponíveis (cultivo viral em células HEp-2, imunofluorescência direta e PCR).

Em nosso estudo, apesar da adição de antibióticos de largo espectro no preparo das amostras respiratórias antes da incubação em células Hep2, verificamos a contaminação freqüente dos espécimes clínicos. No entanto, este fato não deve ter comprometido o resultado final deste trabalho, uma vez que as células Hep2 são indicadas para isolamento do VRS e, observamos pouca circulação deste vírus na população estudada. Além disso, a termolabilidade do VRS e a presença de menores títulos na excreção deste vírus em adultos, associado à presença de anticorpos nasais nas amostras clínicas resultando na neutralização in vitro do VRS, podem ter colaborado para que nenhum dos pacientes com VRS identificado por IFD e PCR apresentasse isolamento viral no cultivo celular. Sabe-se também que as cepas “tipo selvagem” do VRS apresentam maior dificuldade para crescimento em cultivo celular do que a cepa A2 já adaptada para cultivo em

células e utilizada em diversos estudos.<sup>103</sup> Tais fatores indicam que, em indivíduos adultos internados em UTI, o cultivo viral não é a melhor técnica diagnóstica.

Por outro lado, observamos que a realização da PCR para coronavírus, rinovírus, metapneumovírus e adenovírus determinaram um acréscimo de 333% no diagnóstico de infecção viral, quando comparado com os resultados obtidos apenas com a realização da IFD para vírus da Influenza, Parainfluenza, Adenovírus e VRS. Desta forma, confirmamos a importância do uso de técnicas moleculares para pesquisa de vírus respiratórios, uma vez que se verificou uma maior acurácia na definição da etiologia de infecções de vias aéreas nos pacientes adultos internados na UTI.

A interpretação do resultado da PCR dos vírus respiratórios não é unânime na literatura. Alguns autores têm interpretado o resultado positivo, em indivíduos assintomáticos, como colonização, enquanto outros consideram a PCR positiva como prova de replicação ativa do vírus, significando um quadro de infecção, mesmo que em um indivíduo assintomático.<sup>103;168;177-179</sup> Diante desta divergência conceitual, nós classificamos todos os pacientes com resultado positivo, por qualquer uma das técnicas empregadas, como portadores de infecção viral. Acreditamos que esta é a melhor interpretação, diante da possibilidade de apresentação clínica oligossintomática, ou mesmo, pela dificuldade em algumas situações para reconhecimento de sintomas da infecção respiratória.

A utilização de técnicas laboratoriais com maior sensibilidade também tem contribuído para o diagnóstico de **co-infecções virais** do trato

respiratório. A co-infecção viral ocorre, em média, em 5% dos casos, oscilando de 0,5% a 15,8% dependendo das técnicas diagnósticas utilizadas, dos vírus pesquisados e da faixa etária dos indivíduos selecionados em cada estudo. Mais freqüentemente, as co-infecções são observadas em menores que cinco anos de idade.<sup>14;56;72;73;99;111;123;167;168;180</sup>

Drews et al. revisaram oito estudos epidemiológicos prospectivos que, em sua maioria, avaliaram pacientes adultos sob atendimento ambulatorial ou hospitalar, sendo diagnosticadas infecções virais em 1341 indivíduos (30,9% dos avaliados). Destes, 5% (67 pacientes) apresentavam o diagnóstico simultâneo de dois ou mais vírus respiratórios. Diferentes técnicas laboratoriais virológicas (cultivo viral em culturas de células e PCR) e exames sorológicos (microneutralização, ELISA, inibição por hemaglutinação) foram realizados nestes estudos.<sup>56</sup>

Os vírus por nós observados em quatro pacientes com infecções múltiplas foram o coronavírus, VRS, rinovírus e adenovírus, e todos têm sido freqüentemente descritos nas co-infecções. Outros vírus também descritos na literatura como presentes nas co-infecções são: vírus da Influenza A, vírus da Parainfluenza e metapneumovírus.<sup>56;72;73;99;111;155;156;167;168;180</sup> Co-infecção com o recém-descoberto coronavírus NL63 também já foi descrita, sendo mais comum em pacientes internados do que em pacientes ambulatoriais. A maior freqüência de co-infecção com o coronavírus NL63 em indivíduos hospitalizados foi atribuída pelos autores como resultante de um pior prognóstico e maior gravidade dos co-infectados com este vírus, quando comparados com pacientes com infecção única pelo HCoV-NL63.<sup>131</sup>



Em ambiente hospitalar, principalmente nas Unidades de Terapia Intensiva, as infecções bacterianas e fúngicas representam complicações freqüentes, com impacto na morbimortalidade dos pacientes.<sup>181;182</sup> Em relação às infecções virais, no entanto, existem poucos estudos no que se refere à freqüência, taxas de transmissão intra-hospitalar e relevância em relação a índices de morbidade e mortalidade nos pacientes adultos internados em unidades críticas.<sup>52;154-157</sup>

Toufen Jr. *et al.*<sup>181</sup> avaliaram a prevalência de infecção em 18 UTI, numa única data em junho de 2000, na mesma instituição em que realizamos este estudo, verificando que 57% dos pacientes (72/126) tinham algum tipo de infecção. As infecções hospitalares acometiam 36,5% (46/126) de todos os indivíduos avaliados, sendo que em vinte e dois destes a infecção foi adquirida durante a internação na UTI.<sup>181</sup> No entanto, os autores não avaliaram neste estudo a ocorrência de infecção por vírus respiratórios.

Segundo dados registrados pelo Serviço de Controle de Infecção Hospitalar, na UTI onde diagnosticamos 34 infecções nosocomiais por vírus respiratório, no mesmo período, foram registrados 30 casos de pneumonia e 23 casos de infecção de corrente sanguínea (ICS) de origem nosocomial. O diagnóstico bacteriano foi confirmado em 83% dos casos de pneumonia, sendo os agentes mais freqüentes: *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* (Dados da CCIH não publicados). Estes resultados servem de exemplo para avaliarmos a dimensão da importância dos vírus respiratórios em ambiente hospitalar.

Ao contrário das **infecções nosocomiais** de origem bacteriana, que possuem uma definição amplamente utilizada, na literatura existem divergências conceituais para a definição de infecções virais respiratórias de origem hospitalar. Alguns autores definem como infecção viral nosocomial aquelas que surgem após um tempo de internação. No entanto, este tempo é considerado por alguns como o período de incubação de cada vírus e por outros como um tempo de internação único definido pelo autor (ex: 48 horas, sete dias). Mesmo com a utilização do período de incubação individualizado para cada vírus, existem divergências no número de dias para um mesmo vírus, como é o caso do período de incubação do VRS adotado por *Berner et al.* que varia de dois a cinco dias ou por *Gardner et al.* que varia de cinco a oito dias.<sup>86;183-187</sup> Pela dificuldade de obtenção de um conceito bem estabelecido, optamos por classificar como infecção de origem hospitalar àquelas com início após o tempo médio de incubação para cada vírus, conforme já descrito na metodologia.

A falta de uma definição padronizada para **infecção viral respiratória nosocomial** determina uma ampla variação na frequência descrita em diferentes estudos (1,5% a 83%). Os vírus respiratórios mais frequentemente descritos nestes casos foram o VRS e vírus da Influenza.<sup>183;188-195 86;196-198</sup> Observamos em nosso trabalho que a ocorrência de infecções por vírus respiratórios de origem nosocomial foi muito frequente (60%) e oscilou de acordo com o vírus avaliado, sendo mais expressiva para o VRS (80%) e coronavírus (73%).

A frequência de infecção nosocomial por VRS varia de 1,5 a 72% em enfermarias pediátricas ou UTI neonatais.<sup>86;196-198 199</sup> Na cidade de São Paulo, Vieira e colaboradores diagnosticaram infecção nosocomial por VRS em 7,7% de 52 crianças avaliadas durante internação em hospital de ensino.<sup>197</sup> Prevalência maior foi verificada por Berner *et al.* que estudaram 1064 casos de infecção por VRS, em um hospital pediátrico na Alemanha, e classificaram 38% como infecção nosocomial.<sup>86</sup> Mais expressiva ainda foi a prevalência observada durante um surto de VRS em uma UTI neonatal descrita por Gouyon *et al.* que reportaram infecção em 72% das crianças (23/32), apesar das medidas de precaução adotadas na ocasião.<sup>200</sup> Em nosso hospital, registramos que quatro das cinco infecções por VRS foram diagnosticadas após o 5º dia de internação hospitalar e, portanto, classificadas com o de origem nosocomial.

O vírus da Influenza pode causar doença epidêmica ou esporádica em pacientes hospitalizados, e surtos nosocomiais têm sido descritos em enfermarias hospitalares, UTI neonatal e, para adultos, centros de transplantes.<sup>59</sup> Uma revisão de 12 surtos nosocomiais de influenza realizada por Salgado e colaboradores<sup>59</sup> evidenciou predomínio do vírus da Influenza A, com duração de sete dias de surto e taxas de ataque nas enfermarias com epidemia variando de 3 a 50%.<sup>59</sup> Durante nosso estudo registramos três infecções pelo vírus da Influenza após o 15º dia de internação evidenciando a circulação deste vírus no ambiente hospitalar.

Para a prevenção de infecções nosocomiais pelos vírus respiratórios a adoção de medidas sob a orientação das Comissões de Controle de

Infecção Hospitalar (CCIH) são tão imprescindíveis quanto ao impacto das orientações de precauções utilizadas no controle da disseminação de bactérias multirresistentes em ambiente hospitalar. Deste modo, considerando a dificuldade de diagnóstico laboratorial, a implementação de medidas de precaução de transmissão aérea e por aerossóis com uso de máscaras, a higienização adequada das mãos, a desinfecção efetiva das superfícies e a utilização de quartos privativos, quando indicados, podem contribuir efetivamente no controle de transmissão dos vírus respiratórios, em especial, do VRS e do vírus da Influenza. No caso do VRS, por sua capacidade de permanecer com sua infectividade preservada durante horas em superfícies, a implantação de medidas de precaução de contato com uso de capotes e luvas também está indicado.<sup>201;202</sup>

Como expresso anteriormente, a dificuldade de diagnóstico rotineiro torna necessário o reconhecimento de indivíduos com maior chance de serem portadores das infecções virais respiratórias. Sabe-se que diversos são os **fatores de risco** associado à infecção viral respiratória, sendo a **idade** freqüentemente descrita. Em geral, o risco de infecção respiratória por vírus é maior nos extremos etários, com predomínio de infecção pelo VRS e Metapneumovírus humano na infância<sup>15;16;110;168</sup>. No estado de São Paulo, um estudo soropidemiológico realizado na cidade de Caieiras evidenciou altos títulos de anticorpos contra o VRS em todos os indivíduos com idade acima dos cinco anos, confirmando que este vírus é freqüentemente responsável por infecções na infância. Como conseqüência, a exposição repetida determinando infecções clínicas ou subclínicas pode atuar com

efeito “booster” mantendo a resposta humoral para este vírus presente durante toda a vida <sup>66</sup>.

Nossos dados revelam que os vírus foram mais freqüentemente identificados em indivíduos mais jovens. A correlação indireta estabelecida entre a idade e a ocorrência de infecção viral, observada nos pacientes internados na UTI, deve estar relacionado ao diagnóstico de um maior número de casos de coronavírus e rinovírus e poucos casos de vírus da Influenza e VRS. Tal fato foi também verificado por Druce *et al.* <sup>168</sup> que constataram um predomínio de infecções por vírus respiratórios em adultos jovens hospitalizados. Estes autores concluíram que enquanto os indivíduos com idade maior ou igual a 60 anos apresentavam maior percentual de casos de infecção pelo vírus da Influenza e VRS, os pacientes com idade entre 20 e 39 anos mais freqüentemente tinham infecção por picornavírus e coronavírus. Esta observação não se repetiu entre os indivíduos não hospitalizados. <sup>168</sup> Estes autores concluíram que enquanto os indivíduos com idade maior ou igual a 60 anos apresentavam maior percentual de casos de infecção pelo vírus da Influenza e VRS, os pacientes com idade entre 20 e 39 anos mais freqüentemente tinham infecção por picornavírus e coronavírus. Esta observação não se repetiu entre os indivíduos não hospitalizados. <sup>168</sup>

Embora os vírus respiratórios possam acometer indivíduos de ambos os **sexos**, dado ratificado em nosso trabalho, diversos estudos

epidemiológicos<sup>†‡§\*\*</sup> apontaram um predomínio de infecções virais respiratórias nas mulheres.<sup>11</sup>

Monto e Ullman<sup>12</sup> em estudo conduzido na cidade americana de Tecumseh observaram um predomínio de infecções no sexo feminino, após o terceiro ano de vida, e também uma maior freqüência de infecções nas mulheres com idade entre 20 e 29 anos. Estes achados foram explicados pelo maior contato de adultos jovens, mais freqüentemente mulheres, com crianças no ambiente domiciliar e, conseqüentemente, um maior risco de exposição aos vírus respiratórios do que indivíduos do sexo masculino.<sup>12</sup> Um predomínio de casos em mulheres (53,6%) também foi constatado entre participantes do Programa de Vigilância de Influenza em Victoria na Austrália, porém, entre os pacientes internados, observou-se um predomínio do sexo masculino (59,7%).<sup>168</sup>

A associação de sexo e idade como variáveis independentes para mortalidade relacionada a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS/SRAG) foi verificada por Karlberg e colaboradores que observaram um maior risco para os indivíduos do sexo masculino.<sup>203</sup>

---

\* Van Volkenburgh VA, Frost WH. Acute minor respiratory diseases prevailing in a group of families residing in Baltimore, Maryland, 1928-1930: prevalence, distribution, and clinical description of observed cases. *Am J Hyg* 1933; 17:122-53 apud Monto<sup>11</sup> p.352.

† Tucher D, Coulter JE, Downes J. Incidence of acute respiratory illness among males and females at specific ages; study No. 5. *Milbank Mem Fund Q.* 1952;30(1):42-60 apud Monto<sup>11</sup> p.352.

‡ Badger GF, Dingle JH, Feller AE, Hodges RG, Jordan WS Jr, Rammelkamp CH Jr. A study of illness in a group of Cleveland families. II. Incidence of the common respiratory diseases. *Am J Hyg.* 1953 Jul;58(1):31-40 apud Monto<sup>11</sup> p. 353.

§ Hall CE, Brandt CD, Frothingham TE, Spigland I, Cooney MK, Fox JP. The virus watch program: a continuing surveillance of viral infections in metropolitan New York families. IX. A comparison of infections with several respiratory pathogens in New York and New Orleans families. *Am J Epidemiol.* 1971;94(4):367-85 apud Monto<sup>11</sup> p. 357.

\*\* Fox JP; Hall CE; Cooney MK; Luce RE; Kronmal RA. The Seattle virus watch. II. Objectives, study population and its observation, data processing and summary of illnesses. *Am J Epidemiol.* 1972;96(4):270-85 apud Monto<sup>11</sup> p. 359.

A presença de **co-morbidades** também têm sido verificada com fator predisponente para infecções de etiologia bacteriana, fúngica ou viral. As doenças mais freqüentemente relacionadas a um maior risco de infecção viral do trato respiratório, têm sido as cardiopatias, DPOC/asma ou condições de imunossupressão (transplantados de medula óssea ou de órgãos sólidos). Falsey e colaboradores observaram que a presença de co-morbidades (insuficiência cardíaca congestiva ou DPOC) em indivíduos adultos representava um maior risco (risco relativo 1,61) para ocorrência de infecção por VRS quando comparados com idosos sem patologias de base.

73

Em outro estudo, com pacientes internados por pneumonia comunitária, verificou-se que a presença de doença cardíaca crônica contribuía para uma maior chance de infecções por vírus respiratórios (OR 15,4).<sup>45</sup> As infecções virais podem também, desencadear exacerbação de bronquite crônica em 18-52% dos pacientes.<sup>50:204</sup> *Beckham et al.* avaliaram episódios de infecções virais respiratórias em pacientes com DPOC e observaram algum vírus respiratório em 41,8% dos casos, havendo uma maior prevalência de Picornavírus (20,1%), vírus da Influenza A e B (8,2%) e Coronavírus (8,2%).<sup>50</sup> A associação do MPVh e exacerbação da asma também já foi demonstrada.<sup>111</sup>

Entretanto, nossos achados diferiram da literatura, pois não observamos associação de cardiopatias e DPOC/asma com ocorrência de infecções virais. Por sua vez, verificamos uma associação entre infecção por vírus respiratórios e hipertensão arterial sistêmica (HAS). O papel da HAS

para a ocorrência de infecções em vias aéreas superiores tem sido avaliado em indivíduos com rinite, porém, até este momento os resultados são divergentes e não conclusivos.<sup>205;206</sup> Mais recentemente, foi publicado o resultado da análise de 52.992 indivíduos avaliados no “National Population Health Survey”, conduzido no Canadá no período de 1996-1997. A análise desta amostra populacional verificou uma maior frequência de sinusite reportada em homens e mulheres hipertensos.<sup>207</sup>

A explicação para a associação de infecção viral respiratória e HAS ainda não foi esclarecida. Apesar disso, a existência de uma enzima comum relacionada a ocorrência de infecções virais respiratórias e ao sistema regulatório cardiovascular pode, em estudos futuros, justificar a associação entre estas duas doenças. Esta enzima trata-se de um novo tipo de enzima conversora da angiotensina 2 (ECA2), descrita recentemente, como receptor celular para dois tipos de coronavírus (SARS-coronavírus e coronavírus-NL63). Em modelos experimentais com animais esta nova enzima também tem sido associada à pressão arterial. A ECA2 tem sido encontrada em diferentes órgãos e tecidos como: células epiteliais de vias aéreas superiores, coração, pulmões, cérebro, rins, trato gastrointestinal, testículos e células endoteliais.<sup>208-211</sup>

Apesar da maior suscetibilidade de doenças infecciosas em pacientes diabéticos devido ao comprometimento parcial da resposta imune, não observamos tal associação em nosso estudo.<sup>212</sup>

Evidenciamos pela análise univariada que pacientes com AIDS apresentaram uma maior chance de infecção, porém, não houve



manutenção desta associação na análise multivariada. Outros autores tem demonstrado que pacientes portadores do HIV não apresentam um maior risco para infecção pelo vírus da Influenza. Contudo uma maior gravidade clínica foi verificada naqueles infectados por este vírus sendo, por isso, indicada a vacinação anual destes pacientes.<sup>213-217</sup>

Nos pacientes com diagnóstico de infecção por mais de um vírus respiratório, a presença de co-morbidades também já foi ratificada, sendo mais freqüentemente, a asma ou DPOC.<sup>56</sup> Pelo número restrito de casos de infecções múltiplas não nos foi possível avaliar se houve ou não influência da presença destas co-morbidades.

Observamos que os pacientes admitidos na UTI com quadros respiratórios apresentaram uma maior chance de apresentarem uma infecção viral. Este resultado, já havia sido descrito em adultos internados na UTI de um hospital universitário francês cujos fatores de risco associados ao diagnóstico de vírus respiratórios foram a presença de DPOC/asma, admissão no final do outono ou no inverno e **admissão com queixas respiratórias.**<sup>156</sup>

Nossos resultados demonstraram também uma associação entre a gravidade clínica do paciente à admissão na UTI e o diagnóstico de infecção viral. Esta associação pode estar relacionada ao fato dos pacientes que tiveram o diagnóstico viral terem freqüentemente queixas respiratórias à admissão e necessitarem de ventilação mecânica, o que determinou um maior valor de APACHE. A associação do valor do APACHE não foi

verificada em dois estudos que incluíram apenas pacientes que necessitaram de assistência ventilatória mecânica.<sup>52;156</sup>

O **tabagismo** foi apontado previamente como fator de risco independente para a ocorrência de pneumonia comunitária.<sup>44</sup> Ao comparar as características de pacientes com pneumonia comunitária de etiologia viral ou bacteriana, de Roux *et al.* não evidenciaram diferença entre os grupos em relação ao tabagismo.<sup>45</sup> Por outro lado, uma revisão feita por Sherman verificou um maior risco de infecção grave pelo vírus da Influenza e mortalidade por este vírus em indivíduos tabagistas.<sup>218</sup> A gravidade da infecção pelo rinovírus, também já foi demonstrada, havendo um aumento de 47% no risco de complicações no trato respiratório inferior em decorrência do tabagismo crônico.<sup>219</sup> Em pacientes com exacerbação de DPOC submetidos a ventilação mecânica durante internação em UTI a ocorrência de infecção viral não foi associada ao tabagismo crônico.<sup>52</sup>

A associação de **ingesta etílica** e infecção por vírus respiratórios não têm sido objeto de estudos recentes. No início da década de 90, um estudo conduzido por Almiral *et al.* não observou associação de etilismo e pneumonia comunitária.<sup>44</sup>

Durante o estudo constatamos uma maior necessidade de assistência ventilatória mecânica pelos pacientes com diagnóstico de infecção viral, ao contrário de resultados previamente publicados com recém-natos e pacientes com DPOC descompensada, em que não houve diferença na duração de **ventilação mecânica** e de oxigenioterapia.<sup>52;72</sup>

Embora exista uma predisposição para infecção bacteriana em indivíduos com infecções virais respiratórias, não observamos associação entre a ocorrência de infecção viral respiratória e ocorrência de infecção bacteriana ou fúngica durante a internação na UTI. Tal observação corrobora com os resultados de Daubin *et al.* de que a presença de vírus respiratórios não consistia risco para ocorrência de pneumonia associada à ventilação mecânica em pacientes internados em UTI adulta. <sup>155</sup>

A não associação de infecção viral e bacteriana em nosso estudo pode ser decorrente dos poucos casos de infecção pelo vírus da Influenza, pois é sabido que as **mortes associadas à Influenza** ocorrem devido à pneumonia ou descompensação de cardiopatias, principalmente, na população idosa. <sup>59</sup>

Um excesso de mortalidade foi observado durante os sete períodos de epidemia de influenza (1957-66) nos EUA, sendo maiores para doenças cardiovasculares e de sistema nervoso central (SNC) do que por causas respiratórias. <sup>220</sup> Um excesso de mortes por diabetes mellitus foi significativo em seis das sete epidemias. <sup>220</sup>

Chan *et al.* <sup>221</sup>, avaliando 115 pacientes adultos internados em um hospital em Hong Kong com diagnóstico provável de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) em 2003, observaram um maior risco de mortalidade entre os indivíduos com idade acima de 60 anos (IC 95% 2,5 - 18,3;  $p < 0,001$ ) e com presença de co-morbidades (RR 9,0; IC 95% 3,2 - 25,3;  $p < 0,001$ ), principalmente, **cardiopatias** (RR 9,2; IC 95% 3,5-23,9;  $p < 0,001$ ) e diabetes mellitus (RR 4,7; IC 95% 1,5-14,3;  $p = 0,008$ ). <sup>221</sup>

Em pacientes adultos internados em UTI, a mortalidade pode ser menor naqueles com afecções respiratórias associadas à infecção viral quando comparados com indivíduos com afecções respiratórias sem o diagnóstico de infecção por vírus respiratórios.<sup>156</sup> Entretanto, em pacientes com assistência ventilatória devido a DPOC descompensada não se observa diferença significativa no tempo de internação ou mortalidade nos primeiros 28 dias em relação a ocorrência ou não de infecção viral.<sup>52</sup>

Em pacientes imunossuprimidos a taxa de mortalidade associada apenas à infecção viral (39%) foi estatisticamente maior do que naqueles com co-infecção viral-bacteriana ou viral-fúngica (7%).<sup>183</sup>

Em nosso estudo, o diagnóstico de infecção viral respiratória não foi relacionado a mortalidade. Os fatores que se relacionaram com evolução letal dos pacientes avaliados foram presença de cardiopatia, neoplasia, valor do APACHE e uso de ventilação mecânica invasiva.

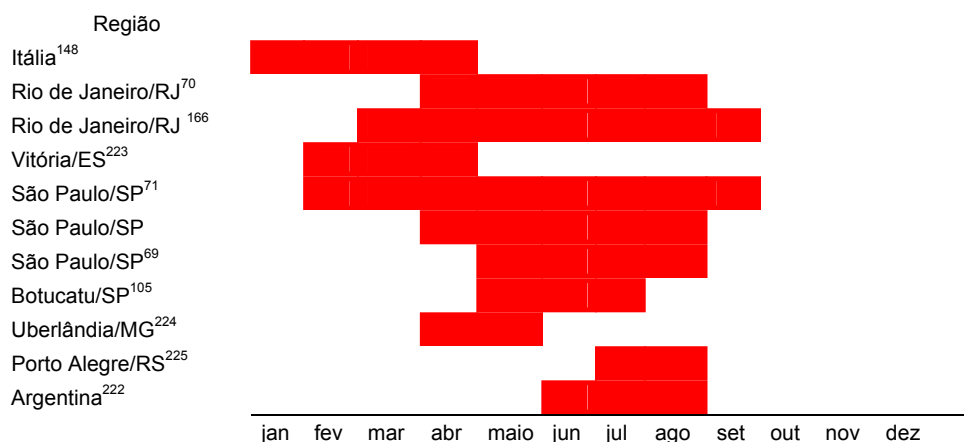
A **variação sazonal** dos vírus respiratórios é mais acentuada nos países de clima temperado do que nos de clima tropical. Acima da linha do Equador, têm-se observado uma maior incidência de infecções por vírus respiratórios nos meses de inverno.<sup>16;45</sup> Em nosso estudo, realizado em uma cidade de clima tropical, verificamos maior pico de incidência de infecção viral, de uma maneira geral, nos meses do inverno (em 2003) e do verão em 2004.

A sazonalidade do VRS é bem determinada por fatores climáticos havendo uma correlação entre a ocorrência de infecção por VRS e a temperatura média diária ou o período de sol a cada mês.<sup>196</sup> Estudos

realizados em diferentes regiões têm demonstrado a ocorrência de casos de infecções pelo VRS em períodos específicos, porém, com duração variável (Figura 12).<sup>16;45;69-71;105;166;167;222-225</sup> Rovida et al observaram na Itália um predomínio da prevalência de infecções por este vírus nos meses de janeiro a abril.<sup>167</sup> Em estudos conduzidos em diferentes cidades brasileiras localizadas na região sudeste, o início mais acentuado de casos ocorreu nos meses de fevereiro e março, porém, com período variável de duração até os meses de abril na cidade de Vitória e setembro no Rio de Janeiro.<sup>70;105;166;223;224</sup> Em nosso estudo os casos de VRS ocorreram no período de abril a junho de 2004, não tendo sido observado similaridade desta sazonalidade no ano anterior, no qual não houve registro de infecções por este vírus. Nosso dado também diferiu do observado por Reis<sup>71</sup> em estudo contemporâneo na capital paulistana, no qual os casos de infecção por VRS em crianças estenderam-se pelos meses de fevereiro a setembro de 2005, com pico de incidência nos meses de maio e junho.<sup>71</sup> A variação anual da sazonalidade do VRS na cidade de São Paulo e Porto Alegre já foi verificada em estudos com maior tempo de duração e pode não ter sido detectada em nosso estudo por esta razão.<sup>69;225</sup>

Na Argentina, no período de 1990-96, o início das infecções por VRS em crianças variou nos meses de abril (1991), maio (1995 e 1996) e junho (1990, 1992 a 1994), sendo observado um pico durante o inverno (Junho a Agosto).<sup>222</sup>

**Figura 12 - Sazonalidade do VRS por localidade**



Nos pacientes internados na UTI observamos que os casos de Influenza A concentraram-se nos meses que antecederam a Campanha Nacional de vacinação contra Influenza promovida pelo Ministério da Saúde. Este período corresponde a sazonalidade do vírus da Influenza no hemisfério norte, como verificado no Canadá.<sup>226</sup>

O metapneumovírus tem distribuição sazonal similar ao VRS, no hemisfério norte predominando no período de dezembro a abril, com uma maior concentração de casos no mês de março.<sup>111;140;227</sup> Considerando a sazonalidade previamente descrita para o VRS, o único caso de infecção pelo MPVh diagnosticado no mês de julho, corresponde a este período.

A ocorrência de infecção pelo rinovírus em países com clima temperado tem demonstrado nítida relação com os meses de outono, embora já tenha sido demonstrado pico de sazonalidade no início da primavera.<sup>228;229</sup> Na UTI observamos uma maior circulação deste vírus nos meses de inverno e início da primavera em 2003 e nos meses do verão de 2004.

A transmissão dos coronavírus (OC43 e 229E) concentra-se nos meses de inverno, enquanto os vírus Parainfluenza variam sua sazonalidade entre meados do outono e inverno, dependendo do tipo em circulação, tipo 1 e 2 respectivamente. O vírus Parainfluenza. tipo 3, identificado em nosso estudo, não apresenta um padrão sazonal bem definido.<sup>230;231</sup>

### **Considerações finais**

Nosso estudo apresenta algumas limitações, pois não foi possível avaliar a evolução clínico-radiológica dos pacientes infectados por vírus respiratórios, trazendo prejuízo para uma análise mais minuciosa do impacto destas infecções na morbidade pulmonar destes indivíduos. Outra restrição foi a adoção do APACHE II como escore de gravidade, o que permitiu a avaliação do indivíduo apenas no momento da admissão. A adoção de outros escores de gravidade, provavelmente, permitiriam uma avaliação seqüencial durante a internação, incluindo na ocasião do diagnóstico de infecção viral. Apesar disso, verificamos que a infecção por vírus respiratórios é freqüente em indivíduos adultos não imunossuprimidos internados em Unidade de Terapia Intensiva. A maior parcela dos pacientes é infectada durante sua permanência em ambiente hospitalar, o que justifica a adoção de medidas de precaução de transmissão viral como imunização dos profissionais de saúde, implementação de rotinas diagnósticas para detecção rápida dos vírus respiratórios e rotinas sob orientação das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar para a prevenção de

transmissão por gotículas e por contato. A associação de hipertensão arterial sistêmica e ocorrência de infecção por vírus respiratórios deve ser objeto de novos estudos para melhor conhecimento desta relação, aprimoramento dos conhecimentos do processo fisiopatológico e análise de seu impacto sócio-econômico.



## 6. CONCLUSÕES

1. A prevalência de infecções por vírus respiratórios em pacientes adultos internados na UTI do Serviço de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – HCFMUSP é significativa, sendo o rinovírus e coronavírus os vírus mais freqüentemente observados neste estudo.
2. A infecção por vírus respiratório de origem nosocomial é freqüente entre os pacientes adultos internados em UTI.
3. Os fatores de risco para a infecção por vírus respiratórios entre pacientes avaliados neste estudo são: presença de hipertensão arterial como co-morbidade, idade mais jovem, ser admitido na UTI com uma maior gravidade clínica expressa pelo valor de APACHE.
4. Apesar de impacto das infecções por vírus respiratórios na morbidade destes pacientes, não houve incremento na mortalidade.

# **7. ANEXOS**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

---

**I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

**1. NOME DO PACIENTE:**

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº:

SEXO:

DATA NASCIMENTO:

ENDEREÇO:

Nº

APTO.

BAIRRO:

CIDADE:

CEP:

TELEFONE:

**2. RESPONSÁVEL LEGAL:**

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE:

SEXO:

DATA NASCIMENTO:

ENDEREÇO:

Nº

APTO.

BAIRRO:

CIDADE:

CEP:

TELEFONE:

---

**II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA**

**1. TÍTULO: Infecções por vírus respiratórios em Unidade de Terapia Intensiva – Estudo prospectivo**

---

**2. PESQUISADORES:** Dra. Clarisse Martins Machado (investigadora principal)  
Dr. Alexandre Rodrigues da Silva  
Dr. Marcelo Park  
Dra. Sílvia Costa

**3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:**

**SEM RISCO**                       **RISCO MÍNIMO**    **X**                      **RISCO MÉDIO**                        
**RISCO BAIXO**                       **RISCO MAIOR**                     

---

**4.DURAÇÃO DA PESQUISA :** 1 ano

**III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:**

**1. justificativa e os objetivos da pesquisa**

Você está sendo convidado para participar desse projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a quantidade de infecções respiratórias causadas por vírus em pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva. Além de ver o tipo de vírus que poderá estar causando infecção na região do nariz e no pulmão, estaremos conhecendo melhor os fatores que aumentam o risco de infecção por vírus e suas complicações (ex: pneumonia), além de testar exames de diagnóstico.

**PROCEDIMENTOS QUE SERÃO UTILIZADOS E PROPÓSITOS, INCLUINDO A IDENTIFICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS QUE SÃO EXPERIMENTAIS**

Se você aceitar participar desse estudo serão coletadas amostras de lavado do nariz e da faringe, bem como, caso você desenvolva uma pneumonia e seja necessário realizar uma broncoscopia e lavado do pulmão, uma amostra será enviada para pesquisa de vírus.

**DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS**

Riscos inerentes à coleta de amostras de lavado nasal podendo variar de desconforto, tosse e reação emocional. Nos casos em que houver realização de broncoscopia com lavado bronco-alveolar, por indicação da equipe médica da UTI, para auxílio diagnóstico de quadros pulmonares, uma parcela do lavado bronco-alveolar poderá ser encaminhada para análise e pesquisa de vírus.

## **BENEFÍCIOS QUE PODERÃO SER OBTIDOS**

Os pacientes terão acesso ao diagnóstico de infecções dos vírus respiratórios e no caso do vírus da Influenza poderão ser tratados com medicamento específico, diminuindo o tempo de doença e o risco de complicações. Essas informações estarão disponíveis para o médico do paciente, permitindo a abordagem terapêutica específica. Outros pacientes poderão vir a beneficiar-se dos dados obtidos com esse estudo.

## **IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:**

Estou ciente que terei acesso às informações sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionadas à pesquisa sempre que solicitar. Fui informado que a qualquer momento posso deixar de participar do estudo sem que isso traga prejuízo ao meu atendimento na unidade.

Estou ciente da confidencialidade, do sigilo e da privacidade das informações obtidas. Em caso de algum dano à minha saúde em decorrência da pesquisa, está assegurada minha assistência no HCFMUSP.

---

## **V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

Em caso de dúvidas você deverá entrar em contato com os investigadores deste projeto de pesquisa. Os investigadores são: Dra. Clarisse Machado (tel. 3066-7020 ramal 102), Dr. Alexandre Rodrigues da Silva (tel. 9621-9950), Dra. Sílvia Costa,

Dr. Marcelo Park (tel. 3066-6457). Este Termo de Consentimento foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da FMUSP, que é um grupo de pessoas que avaliam e aprovam ou não pesquisas ou estudos que envolvam pessoas. Este grupo de pessoas também avaliam o andamento do estudo.

**VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:** Nenhuma

**VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO:**

Eu tive tempo para ler e pensar sobre todas as informações contidas neste termo de consentimento antes de participar do estudo. O programa proposto foi claramente explicado e compreendo que serei informado de qualquer nova descoberta significativa durante o estudo. Consinto voluntariamente em participar deste estudo, compreendo que minha participação é voluntária e a recusa em participar do estudo não envolverá nenhuma sanção nem perda de benefícios. Também compreendo que posso retirar meu consentimento e interromper a participação a qualquer momento sem sanção e sem prejuízos de tratamento médico futuro ou alternativo nesta instituição e o que meu médico considerar ser de meu interesse, podendo encerrar minha participação a qualquer momento.

_____	____/____/____
Assinatura do paciente	data
_____	____/____/____
Assinatura do Representante Legal Autorizado	data
_____	____/____/____
Assinatura do Pesquisador	data

*Ficha Clínica  
para pacientes  
internados*

Nº Protocolo: \_\_\_\_\_ (não preencher)

1. Nome: \_\_\_\_\_

2. REG/HC: \_\_\_\_\_

3. Data de nascimento: \_\_/\_\_/\_\_

4. Data de internação hospitalar: \_\_ \_\_/ \_\_ \_\_/ \_\_ \_\_ \_\_ \_\_

5. Data de internação na UTI: \_\_ \_\_/ \_\_ \_\_/ \_\_ \_\_ \_\_ \_\_

6. Sexo: ( ) masculino ( ) feminino

7. Hipótese diagnóstica principal: \_\_\_\_\_

8. Hipótese diagnóstica secundária: \_\_\_\_\_

**Co-morbididades:**

09. ( ) Cardiopatia

10. ( ) Hipertensão arterial

11. ( ) Doença cérebro-vascular

12. ( ) Diabetes Mellitus

13. ( ) DPOC / asma

14. ( ) Nefropatia

15. ( ) TMO

16. ( ) Transplante de órgãos sólidos

17. ( ) AIDS

18. Valor do CD4 = \_\_\_\_\_

19. ( ) Neoplasia

20. ( ) Doenças reumatológicas

21. Droga(s) imunossupressora(s): ( ) não ( ) sim

Quais? \_\_\_\_\_

22. Dependência química:  não  sim  não respondido

23. Qual?  não se aplica  
 álcool  drogas ilícitas  tabagismo

24. Sintomas:  não – pule para a questão 25

sim

Data de início do quadro: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Febre:  sim - duração \_\_\_ dias  não

Tosse:  sim  não

Mialgia:  sim  não

Coriza / obstrução nasal:  sim  não

Informações clínicas:

25. APACHE (24h): \_\_\_\_\_

26. Suporte ventilatório:

Cateter nasal

Máscara

Ventilação não invasiva

Ventilação invasiva

27. Relação PO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_

28. Padrão radiológico:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

29. Vacinação contra Influenza:  não  sim  não informado

30. Evolução:

**Dias**

Tempo livre de ventilação mecânica: \_\_\_\_\_

Tempo final de internação na UTI: \_\_\_\_\_

Tempo final de internação hospitalar: \_\_\_\_\_

Evolução fatal:  sim - Quantos dias após o diagnóstico? \_\_\_\_\_ Data:

não

31. Diagnóstico(s) na alta da UTI:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

32. Classificação de sepse:

Sepse

Sepse grave

Choque séptico

Disfunção de múltiplos órgãos





### ANEXO 3 – Classificação de APACHE II

A)	Variáveis fisiológicas	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
1	Temperatura retal (°C)	≥ 41	39-40,9		38,5-38,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	≤ 29,9
2	Pressão arterial média (mmHg) = (2 x diastólica + sistólica)/3	≥ 160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤ 49
3	Frequência cardíaca (bpm)	≥ 180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤ 39
4	Frequência respiratória (rpm)	≥ 50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤ 5
5	Oxigenação a)FiO <sub>2</sub> ≥ 0,5 P(A-a)O <sub>2</sub>	≥ 500	350-499	200-349		<200				
	b)FiO <sub>2</sub> < 0,5 PaO <sub>2</sub>					>70	61-70		55-60	< 55
6	pH arterial	≥ 7,7	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-7,32	7,15-7,24	< 7,15
7	Sódio sérico (mEq/l)	≥ 180	160-179	155-159	150-154	130-139		120-129	111-119	≤ 110
8	Potássio sérico	≥ 7	6-6,9		5,6-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		< 2,5
9	Creatinina sérica (mg/dl) (Duplicar os pontos se houver insuficiência renal aguda)	≥ 3,5	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		<0,6		
10	Hematócrito (%)	≥ 60		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		< 20
11	Contagem de leucócitos (/mm <sup>3</sup> )	≥ 40		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		< 1
12	Escala de Coma de Glasgow (ECG)	Variável de 3 a 15 (escore = 15 – ECG observada)								
	Escore Fisiológico Total	soma da pontuação das 12 variáveis								

B) Pontuação para a idade		C) Pontuação para doença crônica	Apache II – Escore final (soma de A+B+C)
Idade (anos)	Pontuação	Se o paciente possui antecedente de insuficiência orgânica severa (hepatopatia – cirrose hepática ou encefalopatia, cardiopatia, pneumopatia - hipoxemia ou hipercapnia ou policitemia crônica, nefropatia crônica dialítica) ou é imunocomprometido acrescentar:	<b>A</b> (escore fisiológico total)
≤ 44	0		<b>+ B</b> (pontuação por idade)
45-54	2		<b>+ C</b> (pontuação por doença crônica)
55-64	3	# 5 (cinco) pontos para pacientes não-cirúrgicos ou pra pós-operatório	= Apache II Total
65-74	5	de cirurgia de urgência	
≥ 75	6	# 2 (dois) pontos para pós-operatório de cirurgia eletiva	

Risco calculado de óbito:  $\ln(R/1-R) = -3,517 + (\text{valor do APACHE II} \times 0,146) + (0,603 \text{ se pós-operatório de urgência}) +$   
 peso de categoria diagnóstica

## APACHE II – categorias diagnósticas

**Pacientes não-cirúrgicos**

<b>Insuficiência ou falência respiratória</b>	<b>pontuação</b>
Asma/alergia	-2,108
DPOC	-0,367
Edema pulmonar (não-cardiogênico)	-0,251
Pós-parada respiratória	-0,168
Aspiração/envenenamento/tóxico	-0,142
Embolia pulmonar	-0,128
Infecção pulmonar	0,000
Neoplasia do sistema respiratório	0,891

<b>Insuficiência ou falência cardiovascular</b>	<b>pontuação</b>
Hipertensão arterial	-1,798
Arritmia	-1,368
Insuficiência Cardíaca Congestiva	-0,424
Choque hemorrágico/ hipovolêmico	0,493
Insuficiência coronariana	-0,191
Sepse	0,113
Pós-parada cardíaca	0,393
Choque cardiogênico	-0,259
Aneurisma dissecante da aorta torácica/abdominal	0,731
<b>Trauma</b>	<b>pontuação</b>
Politraumatismo	-1,228
Trauma de crânio	-0,517
<b>Sistema neurológico</b>	<b>pontuação</b>
Síndrome comicial	-0,584
Hemorragia intracraniana	0,723

<b>Causas diversas</b>	<b>pontuação</b>
Intoxicação exógena	-3,353
Cetoacidose diabética	-1,507
Sangramento gastrointestinal	0,334

Se não for nenhum dos grupos específicos acima, assinalar um sistema orgânico como principal causa de internação:

### **Pacientes não-cirúrgicos**

	<b>pontuação</b>
Metabólico/renal	-0,885
Respiratório	-0,890
Neurológico	-0,759
Cardiovascular	0,470
Gastro-intestinal	0,501

### **Pacientes em pós-operatório**

(são considerados aqueles que vieram diretamente do Centro Cirúrgico ou da Recuperação pós-anestésica)

<b>Categorias diagnósticas</b>	<b>pontuação</b>
Politraumatismo	- 1,684

Admissão por doença cardiovascular crônica	- 1,376
Cirurgia vascular periférica	-1,315
Cirurgia cardíaca valvular	-1,261
Craniotomia por neoplasia	-1,245
Cirurgia renal por neoplasia	-1,204
Transplante renal	-1,042
Trauma de crânio	-0,955
Cirurgia torácica por neoplasia	-0,802
Craniotomia por hemorragia intracraniana	-0,788
Laminectomia / cirurgia medular intracraniana	-0,699
Choque hemorrágico	-0,682
Sangramento gastrintestinal	-0,617
Cirurgia gastrintestinal por neoplasia	-0,248
Insuficiência respiratória pós-cirurgia	-0,140
Perfuração/obstrução intestinal	0,060

Se não for nenhum dos grupos específicos acima, assinalar um sistema orgânico como principal causa de internação:

#### Pacientes cirúrgicos

	pontuação
Metabólico/renal	-0,196

ANEXO 3 – Classificação de APACHE II

Respiratório	-0,610
Neurológico	-1,150
Cardiovascular	-0,797
Gaстрintestinal	-0,613

## 8. Referências

1. Couch RB, Englund JA, Whimbey E. Respiratory viral infections in immunocompetent and immunocompromised persons. *Am J Med* 1997; 102(3A):2-9.
2. Bramley TJ, Lerner D, Sames M. Productivity losses related to the common cold. *J Occup Environ Med* 2002; 44(9):822-829.
3. Neuzil KM, Hohlbein C, Zhu Y. Illness among schoolchildren during influenza season: effect on school absenteeism, parental absenteeism from work, and secondary illness in families. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156(10):986-991.
4. Toniolo Neto J. A história da gripe - a influência em todos os tempos e agora. 1st ed. São Paulo: Dezembro editorial, 2002.
5. Principi N, Esposito S, Marchisio P, Gasparini R, Crovari P. Socioeconomic impact of influenza on healthy children and their families. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22(10 Suppl):S207-S210.
6. Carrat F, Schwarzinger M, Housset B, Valleron AJ. Antibiotic treatment for influenza does not affect resolution of illness, secondary visits or lost workdays. *Eur J Epidemiol* 2004; 19(7):703-705.
7. Rothberg MB, Rose DN. Vaccination versus treatment of influenza in working adults: a cost-effectiveness analysis. *Am J Med* 2005; 118(1):68-77.
8. Tsolia MN, Logotheti I, Papadopoulos NG, Mavrikou M, Spyridis NP, Drossatou P, Kafetzis D, Konstantopoulos A; Outpatient Flu Study Group. Impact of influenza infection in healthy children examined as outpatients and their families. *Vaccine* 2006; 24(33-34):5970-5976.
9. King JC Jr, Stoddard JJ, Gaglani MJ, Moore KA, Magder L, McClure E, Rubin JD, Englund JA, Neuzil K. Effectiveness of school-based influenza vaccination. *N Engl J Med* 2006; 355(24):2523-2532.
10. Monto AS. Epidemiology of viral respiratory infections. *Am J Med* 2002; 112 Suppl 6A:4S-12S.
11. Monto AS. Studies of the community and family: acute respiratory illness and infection. *Epidemiol Rev* 1994; 16(2):351-373.



12. Monto AS, Ullman BM. Acute respiratory illness in an American community. The Tecumseh study. *JAMA* 1974; 227(2):164-169.
13. Boivin G, De Serres G, Cote S, Gilca R, Abed Y, Rochette L, Bergeron MG, Déry P. Human metapneumovirus infections in hospitalized children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(6):634-640.
14. Artilles-Campelo F, Perez-Gonzalez MC, Caballero-Hidalgo A, Pena-Lopez MJ. [Etiology of acute viral respiratory tract infections in children from Gran Canaria, the Canary Islands (Spain)]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24(9):556-561.
15. Kaye M, Skidmore S, Osman H, Weinbren M, Warren R. Surveillance of respiratory virus infections in adult hospital admissions using rapid methods. *Epidemiol Infect* 2006; 134(4):792-798.
16. Lieberman D, Lieberman D, Ben-Yaakov M, Lazarovich Z, Ohana B, Friedman MG, Dvoskin B, Leinonen M, Boldur I. Infectious aetiologies in elderly patients hospitalised with non-pneumonic lower respiratory tract infection. *Age Ageing* 2003; 32(1):95-101.
17. Walsh EE, Cox C, Falsey AR. Clinical features of influenza A virus infection in older hospitalized persons. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50(9):1498-1503.
18. Esposito S, Gasparini R, Bosis S, Marchisio P, Tagliabue C, Tosi S, Bianchi C, Crovari P, Principi N. Clinical and socio-economic impact of influenza and respiratory syncytial virus infection on healthy children and their households. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(11):933-936.
19. Akazawa M, Sindelar JL, Paltiel AD. Economic costs of influenza-related work absenteeism. *Value Health* 2003; 6(2):107-115.
20. [No authors listed] Economic and social impact of epidemic and pandemic influenza. *Vaccine* 2006; 24(44-46):6776-6778.
21. de Juanes JR, Cisterna R, Sanz J, Magaz S, Badia X. [Efficiency of influenza vaccination in the working population in Spain]. *Gac Sanit* 2006; 20(2):101-107.
22. Campbell DS, Rumley MH. Cost-effectiveness of the influenza vaccine in a healthy, working-age population. *J Occup Environ Med* 1997; 39(5):408-414.
23. Bridges CB, Thompson WW, Meltzer MI, Reeve GR, Talamonti WJ, Cox NJ, Lilac HA, Hall H, Klimov A, Fukuda K. Effectiveness and cost-benefit

of influenza vaccination of healthy working adults: A randomized controlled trial. *JAMA* 2000; 284(13):1655-1663.

24. Mixeu MA, Vespa GN, Forleo-Neto E, Toniolo-Neto J, Alves PM. Impact of influenza vaccination on civilian aircrew illness and absenteeism. *Aviat Space Environ Med* 2002; 73(9):876-880.
25. Treanor J, Falsey A. Respiratory viral infections in the elderly. *Antiviral Res* 1999; 44(2):79-102.
26. Donalisio M, Ruiz T, Cordeiro R. Fatores associados à vacinação contra influenza em idosos em município do Sudeste do Brasil. *Rev Saúde Pública* 2006; 40(1):115-119.
27. Centers for Disease Control and Prevention. Immunization of Health-Care Workers: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR* 1997; 46(18):1-51.
28. National Advisory Committee On Immunization. *Canadian Immunization Guide*. 5ª ed ed. 1998.
29. Bolyard EA, Tablan OC, Williams WW, Pearson ML, Shapiro CN, Deitchmann SD. Guideline for infection control in healthcare personnel, 1998. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19(6):407-463.
30. Fundação Nacional de Saúde / Ministério da Saúde. *Manual dos Centros de Referência de Imunobiológicos Especiais*. 2ª ed ed. Brasília : 2001.
31. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR* 2002; 51(RR-3):1-32.
32. Takayanagi IJ, Cardoso MR, Costa SF, Araya ME, Machado CM. Attitudes of health care workers to influenza vaccination: why are they not vaccinated? *Am J Infect Control* 2007; 35(1):56-61.
33. Bellei N, Carraro E, Perosa AH, Benfica D, Granato CF. Influenza and rhinovirus infections among health-care workers. *Respirology* 2007; 12(1):100-103.
34. Williams BG, Gouws E, Boschi-Pinto C, Bryce J, Dye C. Estimates of world-wide distribution of child deaths from acute respiratory infections. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(1):25-32.

35. Szucs T. The socio-economic burden of influenza. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44 Suppl B:11-15.
36. World Health Organization. Epidemiology of WHO-confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) infection. *Wkly Epidemiol Rec* 2006; 81(26):249-257.
37. World Health Organization. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003. *SARS* . 2007. [citado 26-5-2007]. Disponível em <http://www.who.int>.
38. Ammon CE. Spanish flu epidemic in 1918 in Geneva, Switzerland. *Euro Surveill* 2002; 7(12):190-192.
39. Schmidt AC, Couch RB, Galasso GJ, Hayden FG, Mills J, Murphy BR, Chanock RM. Current research on respiratory viral infections: Third International Symposium. *Antiviral Res* 2001; 50(3):157-196.
40. Booth CM, Matukas LM, Tomlinson GA, Rachlis AR, Rose DB, Dwosh HA, Walmsley SL, Mazzulli T, Avendano M, Derkach P, Ephtimios IE, Kitai I, Mederski BD, Shadowitz SB, Gold WL, Hawryluck LA, Rea E, Chenkin JS, Cescon DW, Poutanen SM, Detsky AS. Clinical features and short-term outcomes of 144 patients with SARS in the greater Toronto area. *JAMA* 2003; 289(21):2801-2809.
41. Kuiken T, Fouchier RA, Schutten M, Rimmelzwaan GF, van Amerongen G, van Riel D, Laman JD, de Jong T, van Doornum G, Lim W, Ling AE, Chan PK, Tam JS, Zambon MC, Gopal R, Drosten C, van der Werf S, Escriou N, Manuguerra JC, Stöhr K, Peiris JS, Osterhaus AD. Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003; 362(9380):263-270.
42. Arruda E, Pitkaranta A, Witek TJ, Jr., Doyle CA, Hayden FG. Frequency and natural history of rhinovirus infections in adults during autumn. *J Clin Microbiol* 1997; 35(11):2864-2868.
43. Mäkelä MJ, Puhakka T, Ruuskanen O, Leinonen M, Saikku P, Kimpimäki M, Blomqvist S, Hyypiä T, Arstila P. Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. *J Clin Microbiol* 1998; 36(2):539-542.
44. Almirall J, Bolibar I, Balanzo X, Gonzalez CA. Risk factors for community-acquired pneumonia in adults: a population-based case-control study. *Eur Respir J* 1999; 13(2):349-355.

45. de Roux A, Marcos MA, Garcia E, Mensa J, Ewig S, Lode H, Torres A. Viral community-acquired pneumonia in nonimmunocompromised adults. *Chest* 2004; 125(4):1343-1351.
46. Garbino J, Gerbase MW, Wunderli W, Kolarova L, Nicod LP, Rochat T, Kaiser L et al. Respiratory viruses and severe lower respiratory tract complications in hospitalized patients. *Chest* 2004; 125(3):1033-1039.
47. Anzueto A, Niederman MS. Diagnosis and treatment of rhinovirus respiratory infections. *Chest* 2003; 123(5):1664-1672.
48. Wedzicha JA. Role of viruses in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2004; 1(2):115-120.
49. Pitrez PM, Stein RT, Stuermer L, Macedo IS, Schmitt VM, Jones MH, Arruda E. [Rhinovirus and acute bronchiolitis in young infants]. *J Pediatr (Rio J)* 2005; 81(5):417-420.
50. Beckham JD, Cadena A, Lin J, Piedra PA, Glezen WP, Greenberg SB, Atmar RL. Respiratory viral infections in patients with chronic, obstructive pulmonary disease. *J Infect* 2005; 50(4):322-330.
51. Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *BMJ* 1993; 307(6910):982-986.
52. Cameron RJ, de Wit D, Welsh TN, Ferguson J, Grissell TV, Rye PJ. Virus infection in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease requiring ventilation. *Intensive Care Med* 2006; 32(7):1022-1029.
53. Nicholson KG, Kent J, Hammersley V, Cancio E. Risk factors for lower respiratory complications of rhinovirus infections in elderly people living in the community: prospective cohort study. *BMJ* 1996; 313(7065):1119-1123.
54. Nicholson KG, Kent J, Hammersley V, Cancio E. Acute viral infections of upper respiratory tract in elderly people living in the community: comparative, prospective, population based study of disease burden. *BMJ* 1997; 315(7115):1060-1064.
55. Navas-Martin SR, Weiss S. Coronavirus replication and pathogenesis: Implications for the recent outbreak of severe acute respiratory syndrome (SARS), and the challenge for vaccine development. *J Neurovirol* 2004; 10(2):75-85.
56. Drews AL, Atmar RL, Glezen WP, Baxter BD, Piedra PA, Greenberg SB. Dual respiratory virus infections. *Clin Infect Dis* 1997; 25(6):1421-1429.

57. Hemmes JH, Winkler KC, Kool SM. Virus survival as a seasonal factor in influenza and polimyelitis. *Nature* 1960; 188:430-431.
58. Morens DM, Rash VM. Lessons from a nursing home outbreak of influenza A. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16(5):275-280.
59. Salgado CD, Farr BM, Hall KK, Hayden FG. Influenza in the acute hospital setting. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(3):145-155.
60. Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *Lancet* 1999; 354(9186):1277-1282.
61. Oliveira EC, Marik PE, Colice G. Influenza pneumonia: a descriptive study. *Chest* 2001; 119(6):1717-1723.
62. Bhat N, Wright JG, Broder KR, Murray EL, Greenberg ME, Glover MJ, Likos AM, Posey DL, Klimov A, Lindstrom SE, Balish A, Medina MJ, Wallis TR, Guarner J, Paddock CD, Shieh WJ, Zaki SR, Sejvar JJ, Shay DK, Harper SA, Cox NJ, Fukuda K, Uyeki TM; Influenza Special Investigations Team. Influenza-associated deaths among children in the United States, 2003-2004. *N Engl J Med* 2005; 353(24):2559-2567.
63. Hall CB, Douglas RG, Jr., Schnabel KC, Geiman JM. Infectivity of respiratory syncytial virus by various routes of inoculation. *Infect Immun* 1981; 33(3):779-783.
64. Hall CB, Douglas RG, Jr., Geiman JM. Possible transmission by fomites of respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1980; 141(1):98-102.
65. Black CP. Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection. *Respir Care* 2003; 48(3):209-231.
66. Cox MJ, Azevedo RS, Cane PA, Massad E, Medley GF. Seroepidemiological study of respiratory syncytial virus in Sao Paulo state, Brazil. *J Med Virol* 1998; 55(3):234-239.
67. Cuevas LE, Nasser AM, Dove W, Gurgel RQ, Greensill J, Hart CA. Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(12):1626-1628.
68. Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *Am J Dis Child* 1986; 140(6):543-546.
69. Vieira SE, Stewien KE, Queiroz DA, Durigon EL, Török TJ, Anderson LJ, Miyao CR, Hein N, Botosso VF, Pahl MM, Gilio AE, Ejzenberg B, Okay Y. Clinical patterns and seasonal trends in respiratory syncytial virus

hospitalizations in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2001; 43(3):125-131.

70. Sutmoller F, Ferro ZP, Asensi MD, Ferreira V, Mazzei IS, Cunha BL. Etiology of acute respiratory tract infections among children in a combined community and hospital study in Rio de Janeiro. *Clin Infect Dis* 1995; 20(4):854-860.
71. Reis A. Incidência de doença de vias aéreas pelo vírus sincicial respiratório humano em coorte de recém nascidos do município de São Paulo: comparação de técnicas diagnósticas e caracterização molecular [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2006.
72. Diniz EM, Vieira RA, Ceccon ME, Ishida MA, Vaz FA. Incidence of respiratory viruses in preterm infants submitted to mechanical ventilation. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2005; 47(1):37-44.
73. Falsey AR, Hennessey PA, Formica MA, Cox C, Walsh EE. Respiratory syncytial virus infection in elderly and high-risk adults. *N Engl J Med* 2005; 352(17):1749-1759.
74. Falsey AR, McCann RM, Hall WJ, Tanner MA, Criddle MM, Formica MA, Irvine CS, Kolassa JE, Barker WH, Treanor JJ. Acute respiratory tract infection in daycare centers for older persons. *J Am Geriatr Soc* 1995; 43(1):30-36.
75. Nicholson KG. Impact of influenza and respiratory syncytial virus on mortality in England and Wales from January 1975 to December 1990. *Epidemiol Infect* 1996; 116(1):51-63.
76. Morris DJ, Cooper RJ, Barr T, Bailey AS. Polymerase chain reaction for rapid diagnosis of respiratory adenovirus infection. *J Infect* 1996; 32(2):113-117.
77. Klinger JR, Sanchez MP, Curtin LA, Durkin M, Matyas B. Multiple cases of life-threatening adenovirus pneumonia in a mental health care center. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(2):645-649.
78. John TJ, Cherian T, Steinhoff MC, Simoes EA, John M. Etiology of acute respiratory infections in children in tropical southern India. *Rev Infect Dis* 1991; 13 Suppl 6:S463-S469.
79. Lieberman D, Shvartzman P, Korsonsky I, Lieberman D. Aetiology of respiratory tract infections: clinical assessment versus serological tests. *Br J Gen Pract* 2001; 51(473):998-1000.

80. Henrickson KJ. Parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(2):242-264.
81. Henrickson KJ, Hoover S, Kehl KS, Hua W. National disease burden of respiratory viruses detected in children by polymerase chain reaction. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(1 Suppl):S11-S18.
82. Iwane MK, Edwards KM, Szilagyi PG, Walker FJ, Griffin MR, Weinberg GA, Coulen C, Poehling KA, Shone LP, Balter S, Hall CB, Erdman DD, Wooten K, Schwartz B; New Vaccine Surveillance Network. Population-based surveillance for hospitalizations associated with respiratory syncytial virus, influenza virus, and parainfluenza viruses among young children. *Pediatrics* 2004; 113(6):1758-1764.
83. Rabagliati BR, Serri VM, Perret PC, Guzmán DAM, Azócar AT, Habash AL, Espinoza LC, Ferrés GM. Perfil clínico-epidemiológico de las infecciones por virus respiratorios en adultos hospitalizados durante la estación de influenza 2004 . *Rev.Chil.Infectol* 2006; 23[2]:111-117.
84. Couch RB. Rhinoviruses. In: Knipe D, Howler P, editors. *Fields Virology* [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2001.
85. Blount RE, Lount RE, Jr., Morris JA, Savage RE. Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 92(3):544-549.
86. Berner R, Schwoerer F, Schumacher RF, Meder M, Forster J. Community and nosocomially acquired respiratory syncytial virus infection in a German paediatric hospital from 1988 to 1999. *Eur J Pediatr* 2001; 160(9):541-547.
87. Gelber SE, Ratner AJ. Hospital-acquired viral pathogens in the neonatal intensive care unit. *Semin Perinatol* 2002; 26(5):346-356.
88. Holladay RC, Campbell GD, Jr. Nosocomial viral pneumonia in the intensive care unit. *Clin Chest Med* 1995; 16(1):121-133.
89. Price WH. The isolation of a new virus associated with respiratory clinical disease in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1956; 42(12):892-896.
90. Dick EC. Chimpanzee kidney tissue cultures for growth and isolation of viruses. *J Bacteriol* 1963; 86:573-576.
91. Kellogg JA. Culture vs direct antigen assays for detection of microbial pathogens from lower respiratory tract specimens suspected of

- containing the respiratory syncytial virus. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115(5):451-458.
92. Monto AS, Bryan ER, Ohmit S. Rhinovirus infections in Tecumseh, Michigan: frequency of illness and number of serotypes. *J Infect Dis* 1987; 156(1):43-49.
  93. Erdman DD, Weinberg GA, Edwards KM, Walker FJ, Anderson BC, Winter J, González M, Anderson LJ. GeneScan reverse transcription-PCR assay for detection of six common respiratory viruses in young children hospitalized with acute respiratory illness. *J Clin Microbiol* 2003; 41(9):4298-4303.
  94. Szymis MW, Whiley DM, Thomas M, Mackay IM, Williamson J, Siebert DJ, Nissen MD, Sloots TP. A sensitive, specific, and cost-effective multiplex reverse transcriptase-PCR assay for the detection of seven common respiratory viruses in respiratory samples. *J Mol Diagn* 2004; 6(2):125-131.
  95. Templeton KE, Scheltinga SA, Beersma MF, Kroes AC, Claas EC. Rapid and sensitive method using multiplex real-time PCR for diagnosis of infections by influenza A and influenza B viruses, respiratory syncytial virus, and parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4. *J Clin Microbiol* 2004; 42(4):1564-1569.
  96. Weinberg GA, Erdman DD, Edwards KM, Hall CB, Walker FJ, Griffin MR, Schwartz B; New Vaccine Surveillance Network Study Group. Superiority of reverse-transcription polymerase chain reaction to conventional viral culture in the diagnosis of acute respiratory tract infections in children. *J Infect Dis* 2004; 189(4):706-710.
  97. Templeton KE, Scheltinga SA, van den Eeden WC, Graffelman AW, van den Broek PJ, Claas EC. Improved diagnosis of the etiology of community-acquired pneumonia with real-time polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 2005; 41(3):345-351.
  98. van Kraaij MG, van Elden LJ, van Loon AM, Hendriksen KA, Laterveer L, Dekker AW, Nijhuis M. Frequent detection of respiratory viruses in adult recipients of stem cell transplants with the use of real-time polymerase chain reaction, compared with viral culture. *Clin Infect Dis* 2005; 40(5):662-669.
  99. Kuypers J, Wright N, Ferrenberg J, Huang ML, Cent A, Corey L, Morrow R. Comparison of real-time PCR assays with fluorescent-antibody assays for diagnosis of respiratory virus infections in children. *J Clin Microbiol* 2006; 44(7):2382-2388.



100. Mitchell S, O'Neill HJ, Ong GM, Christie S, Duprex P, Wyatt DE, McCaughey C, Armstrong VJ, Feeney S, Metwally L, Coyle PV. Clinical assessment of a generic DNA amplification assay for the identification of respiratory adenovirus infections. *J Clin Virol* 2003; 26(3):331-338.
101. Legoff J, Guérot E, Ndjoyi-Mbiguino A, Matta M, Si-Mohamed A, Gutmann L, Fagon JY, Bélec L. High prevalence of respiratory viral infections in patients hospitalized in an intensive care unit for acute respiratory infections as detected by nucleic acid-based assays. *J Clin Microbiol* 2005; 43(1):455-457.
102. Beckham JD, Cadena A, Lin J, Piedra PA, Glezen WP, Greenberg SB, Atmar RL. Respiratory viral infections in patients with chronic, obstructive pulmonary disease. *J Infect* 2005; 50(4):322-330.
103. Falsey AR, Formica MA, Treanor JJ, Walsh EE. Comparison of quantitative reverse transcription-PCR to viral culture for assessment of respiratory syncytial virus shedding. *J Clin Microbiol* 2003; 41(9):4160-4165.
104. Falsey AR, Formica MA, Walsh EE. Diagnosis of respiratory syncytial virus infection: comparison of reverse transcription-PCR to viral culture and serology in adults with respiratory illness. *J Clin Microbiol* 2002; 40(3):817-820.
105. Bosso PAR, Candeias JMG, Paduan KS, Ricchetti SMQ, Miranda AFM, Rugolo LMSS, Durigon EL, Ventura AM. Human respiratory syncytial virus detection in children admitted at a community hospital in Botucatu, SP, Brazil. *Braz J Microbiol* 2004; 35(4):348-351.
106. Arruda E, Hayden FG. Detection of human rhinovirus RNA in nasal washings by PCR. *Mol Cell Probes* 1993; 7(5):373-379.
107. Ngama MJ, Ouma B, English ME, Nokes DJ. Comparison of three methods of collecting nasal specimens for respiratory virus analysis. *East Afr Med J* 2004; 81(6):313-317.
108. Heikkinen T, Salmi AA, Ruuskanen O. Comparative study of nasopharyngeal aspirate and nasal swab specimens for detection of influenza. *BMJ* 2001; 322(7279):138.
109. Heikkinen T, Salmi AA, Ruuskanen O. Comparative study of nasopharyngeal aspirate and nasal swab specimens for detection of influenza. *BMJ* 2001; 322(7279):138.

110. van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA, Osterhaus AD. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001; 7(6):719-724.
111. Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ, Halburnt-Rush LL, Pingsterhaus JM, Edwards KM, Wright PF, Crowe JE Jr. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med* 2004; 350(5):443-450.
112. Alto WA. Human metapneumovirus: a newly described respiratory tract pathogen. *J Am Board Fam Pract* 2004; 17(6):466-469.
113. van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJ, Wolthers KC, Wertheim-van Dillen PM, Kaandorp J, Spaargaren J, Berkhout B. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 2004; 10(4):368-373.
114. Bastien N, Anderson K, Hart L, Van Caesele P, Brandt K, Milley D, Hatchette T, Weiss EC, Li Y. Human coronavirus NL63 infection in Canada. *J Infect Dis* 2005; 191(4):503-506.
115. Arden KE, Nissen MD, Sloots TP, Mackay IM. New human coronavirus, HCoV-NL63, associated with severe lower respiratory tract disease in Australia. *J Med Virol* 2005; 75(3):455-462.
116. Ebihara T, Endo R, Ma X, Ishiguro N, Kikuta H. Detection of human coronavirus NL63 in young children with bronchiolitis. *J Med Virol* 2005; 75(3):463-465.
117. Woo PC, Lau SK, Chu CM, Chan KH, Tsoi HW, Huang Y, Wong BH, Poon RW, Cai JJ, Luk WK, Poon LL, Wong SS, Guan Y, Peiris JS, Yuen KY. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol* 2005; 79(2):884-895.
118. Sloots TP, Mackay IM, Bialasiewicz S, Jacob KC, McQueen E, Harnett GB, Siebert DJ, Masters BI, Young PR, Nissen MD. Human metapneumovirus, Australia, 2001-2004. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(8):1263-1266.
119. Ma X, Endo R, Ishiguro N, Ebihara T, Ishiko H, Ariga T, Kikuta H. Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2006; 44(3):1132-1134.

120. Greensill J, McNamara PS, Dove W, Flanagan B, Smyth RL, Hart CA. Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(3):372-375.
121. Takao S, Shimozone H, Kashiwa H, Shimazu Y, Fukuda S, Kuwayama M, Miyazaki K. Clinical study of pediatric cases of acute respiratory diseases associated with human metapneumovirus in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2003; 56(3):127-129.
122. Freymouth 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* 2003; 22(1):92-94.
123. Bastien N, Ward D, Van Caesele P, Brandt K, Lee SH, McNabb G, Klisko B, Chan E, Li Y. Human metapneumovirus infection in the Canadian population. *J Clin Microbiol* 2003; 41(10):4642-4646.
124. Stockton J, Stephenson I, Fleming D, Zambon M. Human metapneumovirus as a cause of community-acquired respiratory illness. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(9):897-901.
125. Falsey AR, Erdman D, Anderson LJ, Walsh EE. Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J Infect Dis* 2003; 187(5):785-790.
126. Chan PK, Ip M, Ng KC, Rickjason CW, Wu A, Lee N, Rainer TH, Joynt GM, Sung JJ, Tam JS. Severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(11):1453-1454.
127. Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ, Halburnt-Rush LL, Pingsterhaus JM, Edwards KM, Wright PF, Crowe JE Jr. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med* 2004; 350(5):443-450.
128. Kaye M. SARS-associated coronavirus replication in cell lines. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(1):128-133.
129. Semple MG, Cowell A, Dove W, Greensill J, McNamara PS, Halfhide C, Shears P, Smyth RL, Hart CA. Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis. *J Infect Dis* 2005; 191(3):382-386.
130. Cuevas L, Ben Nasser A, Dove W, Gurgel R, Greensill J, Hart C. Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 9[12], 1626-1628. 2006.

131. Vabret A, Mourez T, Dina J, van der Hoek L, Gouarin S, Petitjean J, Brouard J, Freymuth F. Human coronavirus NL63, France. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(8):1225-1229.
132. Garbino J, Crespo S, Aubert JD, Rochat T, Ninet B, Deffernez C, Wunderli W, Pache JC, Soccal PM, Kaiser L. A prospective hospital-based study of the clinical impact of non-severe acute respiratory syndrome (Non-SARS)-related human coronavirus infection. *Clin Infect Dis* 2006; 43(8):1009-1015.
133. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(36):12891-12896.
134. Bastien N, Brandt K, Dust K, Ward D, Li Y. Human Bocavirus infection, Canada. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(5):848-850.
135. Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters HG, Lehtinen P, Osterback R, Vuorinen T, Waris M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, van den Hoogen BG, Hyypiä T, Ruuskanen O. Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis* 2007; 44(7):904-910.
136. Maggi F, Andreoli E, Pifferi M, Meschi S, Rocchi J, Bendinelli M. Human bocavirus in Italian patients with respiratory diseases. *J Clin Virol* 2007; 38(4):321-325.
137. Naghipour M, Cuevas LE, Bakhshinejad T, Dove W, Hart CA. Human bocavirus in Iranian children with acute respiratory infections. *J Med Virol* 2007; 79(5):539-543.
138. Qu XW, Duan ZJ, Qi ZY, Xie ZP, Gao HC, Liu WP, Huang CP, Peng FW, Zheng LS, Hou YD. Human bocavirus infection, People's Republic of China. *Emerg Infect Dis* 2007; 13(1):165-168.
139. Vicente D, Cilla G, Montes M, Perez-Yarza EG, Perez-Trallero E. Human bocavirus, a respiratory and enteric virus. *Emerg Infect Dis* 2007; 13(4):636-637.
140. Peiris JS, Tang WH, Chan KH, Khong PL, Guan Y, Lau YL, Chiu SS. Children with respiratory disease associated with metapneumovirus in Hong Kong. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(6):628-633.
141. Peiris JS, Yuen KY, Osterhaus AD, Stöhr K. The severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003; 349(25):2431-2441.

142. Valenti WM, Betts RF, Hall CB, Hruska JF, Douglas RG, Jr. Nosocomial viral infections: II. Guidelines for prevention and control of respiratory viruses, herpesviruses, and hepatitis viruses. *Infect Control* 1980; 1(3):165-178.
143. Enarson DA, Chretien J. Epidemiology of respiratory infectious diseases. *Curr Opin Pulm Med* 1999; 5(3):128-135.
144. Horcajada JP, Pumarola T, Martínez JA, Tapias G, Bayas JM, de la Prada M, García F, Codina C, Gatell JM, Jiménez de Anta MT. A nosocomial outbreak of influenza during a period without influenza epidemic activity. *Eur Respir J* 2003; 21(2):303-307.
145. Hall CB. The nosocomial spread of respiratory syncytial viral infections. *Annu Rev Med* 1983; 34:311-319.
146. Langley JM, LeBlanc JC, Wang EE, Law BJ, MacDonald NE, Mitchell I, Stephens D, McDonald J, Boucher FD, Dobson S. Nosocomial respiratory syncytial virus infection in Canadian pediatric hospitals: a Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada Study. *Pediatrics* 1997; 100(6):943-946.
147. Hall CB. Nosocomial respiratory syncytial virus infections: the "Cold War" has not ended. *Clin Infect Dis* 2000; 31(2):590-596.
148. Graman PS, Hall CB. Epidemiology and control of nosocomial viral infections. *Infect Dis Clin North Am* 1989; 3(4):815-841.
149. Aintablian N, Walpita P, Sawyer MH. Detection of Bordetella pertussis and respiratory syncytial virus in air samples from hospital rooms. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19(12):918-923.
150. Hall CB, Douglas RG, Jr. Modes of transmission of respiratory syncytial virus. *J Pediatr* 1981; 99(1):100-103.
151. Nichols WG, Erdman DD, Han A, Zukerman C, Corey L, Boeckh M. Prolonged outbreak of human parainfluenza virus 3 infection in a stem cell transplant outpatient department: insights from molecular epidemiologic analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; 10(1):58-64.
152. Machado CM, Boas LS, Mendes AV, Santos MF, da Rocha IF, Sturaro D, Dulley FL, Pannuti CS. Low mortality rates related to respiratory virus infections after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31(8):695-700.

153. Verboon-Maciolek MA, Krediet TG, Gerards LJ, Fleer A, van Loon TM. Clinical and epidemiologic characteristics of viral infections in a neonatal intensive care unit during a 12-year period. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24(10):901-904.
154. Soler N, Torres A, Ewig S, Gonzalez J, Celis R, El-Ebiary M, Hernandez C, Rodriguez-Roisin R. Bronchial microbial patterns in severe exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) requiring mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(5 Pt 1):1498-1505.
155. Daubin C, Vincent S, Vabret A, du Cheyron D, Parienti JJ, Ramakers M, Freymuth F, Charbonneau P. Nosocomial viral ventilator-associated pneumonia in the intensive care unit: a prospective cohort study. *Intensive Care Med* 2005; 31(8):1116-1122.
156. Daubin C, Parienti JJ, Vincent S, Vabret A, du Cheyron D, Ramakers M, Freymuth F, Charbonneau P. Epidemiology and clinical outcome of virus-positive respiratory samples in ventilated patients: a prospective cohort study. *Crit Care* 2006; 10(5):R142.
157. Carrat F, Leruez-Ville M, Tonnellier M, Baudel JL, Deshayes J, Meyer P, Maury E, Galimand J, Rouzioux C, Offenstadt G. A virologic survey of patients admitted to a critical care unit for acute cardiorespiratory failure. *Intensive Care Med* 2006; 32(1):156-159.
158. Knobel E. *Conduitas no paciente grave*. 2<sup>a</sup> ed ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1998.
159. Englund JA, Piedra PA, Jewell A, Patel K, Baxter BB, Whimbey E. Rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infections in immunocompromised adults. *J Clin Microbiol* 1996; 34(7):1649-1653.
160. Wong K, Roberts MC, Owens L, Fife M, Smith AL. Selective media for the quantitation of bacteria in cystic fibrosis sputum. *J Med Microbiol* 1984; 17(2):113-119.
161. Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PM, van der NJ. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol* 1990; 28(3):495-503.
162. Wendel S, Levi JE, Takaoka DT, Silva IC, Castro JP, Torezan-Filho MA, Ghaname J, Gioachini R, Brandão J, Durigon EL. Primary screening of blood donors by nat testing for HCV-RNA: development of an "in-house" method and results. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2007; 49(3):177-185.

163. Esper F, Weibel C, Ferguson D, Landry ML, Kahn JS. Evidence of a novel human coronavirus that is associated with respiratory tract disease in infants and young children. *J Infect Dis* 2005; 191(4):492-498.
164. Sullender WM, Sun L, Anderson LJ. Analysis of respiratory syncytial virus genetic variability with amplified cDNAs. *J Clin Microbiol* 1993; 31(5):1224-1231.
165. Artilles-Campelo F, Perez-Gonzalez MC, Caballero-Hidalgo A, Pena-Lopez MJ. [Etiology of acute viral respiratory tract infections in children from Gran Canaria, the Canary Islands (Spain)]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24(9):556-561.
166. Nascimento JP, Siqueira MM, Suttmoller F, Krawczuk MM, de Farias V, Ferreira V, Rodrigues MJ. Longitudinal study of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro: occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1991; 33(4):287-296.
167. Rovida F, Percivalle E, Zavattoni M, Torsellini M, Sarasini A, Campanini G, Paolucci S, Baldanti F, Revello MG, Gerna G. Monoclonal antibodies versus reverse transcription-PCR for detection of respiratory viruses in a patient population with respiratory tract infections admitted to hospital. *J Med Virol* 2005; 75(2):336-347.
168. Druce J, Tran T, Kelly H, Kaye M, Chibo D, Kostecky R, Amiri A, Catton M, Birch C. Laboratory diagnosis and surveillance of human respiratory viruses by PCR in Victoria, Australia, 2002-2003. *J Med Virol* 2005; 75(1):122-129.
169. Vabret A, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. An outbreak of coronavirus OC43 respiratory infection in Normandy, France. *Clin Infect Dis* 2003; 36(8):985-989.
170. Diniz EM, Vieira RA, Ceccon ME, Ishida MA, Vaz FA. Incidence of respiratory viruses in preterm infants submitted to mechanical ventilation. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2005; 47(1):37-44.
171. Guidry GG, Black-Payne CA, Payne DK, Jamison RM, George RB, Bocchini JA, Jr. Respiratory syncytial virus infection among intubated adults in a university medical intensive care unit. *Chest* 1991; 100(5):1377-1384.
172. Guidry GG, Black-Payne CA, Payne DK, Jamison RM, George RB, Bocchini JA, Jr. Respiratory syncytial virus infection among intubated adults in a university medical intensive care unit. *Chest* 1991; 100(5):1377-1384.

173. Legoff J, Guérot E, Ndjoyi-Mbiguino A, Matta M, Si-Mohamed A, Gutmann L, Fagon JY, Bélec L. High prevalence of respiratory viral infections in patients hospitalized in an intensive care unit for acute respiratory infections as detected by nucleic acid-based assays. *J Clin Microbiol* 2005; 43(1):455-457.
174. Legoff J, Guérot E, Ndjoyi-Mbiguino A, Matta M, Si-Mohamed A, Gutmann L, Fagon JY, Bélec L. High prevalence of respiratory viral infections in patients hospitalized in an intensive care unit for acute respiratory infections as detected by nucleic acid-based assays. *J Clin Microbiol* 2005; 43(1):455-457.
175. Elder AG, O'Donnell B, McCrudden EA, Symington IS, Carman WF. Incidence and recall of influenza in a cohort of Glasgow healthcare workers during the 1993-4 epidemic: results of serum testing and questionnaire. *BMJ* 1996; 313(7067):1241-1242.
176. Hall CB. Nosocomial respiratory syncytial virus infections: the "Cold War" has not ended. *Clin Infect Dis* 2000; 31(2):590-596.
177. Ho HT, Chang MS, Wei TY, Hsieh WS, Hung CC, Yang HM, Lu YT. Colonization of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus Among Health-Care Workers Screened by Nasopharyngeal Swab. *Chest* 2006; 129(1):95-101.
178. Falsey AR, Criddle MC, Walsh EE. Detection of respiratory syncytial virus and human metapneumovirus by reverse transcription polymerase chain reaction in adults with and without respiratory illness. *J Clin Virol* 2006; 35(1):46-50.
179. Wright PF, Deatly AM, Karron RA, Belshe RB, Shi JR, Gruber WC, Zhu Y, Randolph VB. Comparison of results of detection of rhinovirus by PCR and viral culture in human nasal wash specimens from subjects with and without clinical symptoms of respiratory illness. *J Clin Microbiol* 2007; 45(7):2126-2129.
180. Viazov S, Ratjen F, Scheidhauer R, Fiedler M, Roggendorf M. High prevalence of human metapneumovirus infection in young children and genetic heterogeneity of the viral isolates. *J Clin Microbiol* 2003; 41(7):3043-3045.
181. Toufen JC, Hovnanian AL, Franca SA, Carvalho CR. Prevalence rates of infection in intensive care units of a tertiary teaching hospital. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 2003; 58(5):254-259.



182. Hugonnet S, Sax H, Eggimann P, Chevrolet JC, Pittet D. Nosocomial bloodstream infection and clinical sepsis. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(1):76-81.
183. Garbino J, Gerbase MW, Wunderli W, Kolarova L, Nicod LP, Rochat T, Kaiser L. Respiratory viruses and severe lower respiratory tract complications in hospitalized patients. *Chest* 2004; 125(3):1033-1039.
184. Krasinski K. Severe respiratory syncytial virus infection: clinical features, nosocomial acquisition and outcome. *Pediatr Infect Dis* 1985; 4(3):250-257.
185. Gardner PS. Respiratory syncytial virus infections. *Postgrad Med J* 1973; 49(577):788-791.
186. Weigl JA, Puppe W, Schmitt HJ. The incidence of influenza-associated hospitalizations in children in Germany. *Epidemiol Infect* 2002; 129(3):525-533.
187. Malcolm E, Arruda E, Hayden FG, Kaiser L. Clinical features of patients with acute respiratory illness and rhinovirus in their bronchoalveolar lavages. *J Clin Virol* 2001; 21(1):9-16.
188. Hall CB, Powell KR, MacDonald NE, Gala CL, Menegus ME, Suffin SC, Cohen HJ. Respiratory syncytial viral infection in children with compromised immune function. *N Engl J Med* 1986; 315(2):77-81.
189. Aschan J, Ringden O, Ljungman P, Andersson J, Lewensohn-Fuchs I, Forsgren M. Influenza B in transplant patients. *Scand J Infect Dis* 1989; 21(3):349-350.
190. Englund JA, Anderson LJ, Rhame FS. Nosocomial transmission of respiratory syncytial virus in immunocompromised adults. *J Clin Microbiol* 1991; 29(1):115-119.
191. Harrington RD, Hooton TM, Hackman RC, Storch GA, Osborne B, Gleaves CA, Benson A, Meyers JD. An outbreak of respiratory syncytial virus in a bone marrow transplant center. *J Infect Dis* 1992; 165(6):987-993.
192. Mauch TJ, Bratton S, Myers T, Krane E, Gentry SR, Kashtan CE. Influenza B virus infection in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatrics* 1994; 94(2 Pt 1):225-229.

193. Whimbey E, Elting LS, Couch RB, Lo W, Williams L, Champlin RE, Bodey GP. Influenza A virus infections among hospitalized adult bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 1994; 13(4):437-440.
194. Whimbey E, Champlin RE, Englund JA, Mirza NQ, Piedra PA, Goodrich JM, Przepiorka D, Luna MA, Morice RC, Neumann JL. Combination therapy with aerosolized ribavirin and intravenous immunoglobulin for respiratory syncytial virus disease in adult bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16(3):393-399.
195. Lewis VA, Champlin R, Englund J, Couch R, Goodrich JM, Rolston K, Przepiorka D, Mirza NQ, Yousuf HM, Luna M, Bodey GP, Whimbey E. Respiratory disease due to parainfluenza virus in adult bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis* 1996; 23(5):1033-1037.
196. Orstavik I, Carlsen KH, Halvorsen K. Respiratory syncytial virus infections in Oslo 1972--1978. I. Virological and epidemiological studies. *Acta Paediatr Scand* 1980; 69(6):717-722.
197. Vieira SE, Gilio AE, Miyao CR, Pahl MM, Lotufo JP, Hein N, Betta SL, Durigon EL, Botosso V, Ejzenberg B, Okay Y. Nosocomial respiratory syncytial virus infection in a pediatric ward. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 24(7):468-469.
198. Thorburn K, Kerr S, Taylor N, van Saene HK. RSV outbreak in a paediatric intensive care unit. *J Hosp Infect* 2004; 57(3):194-201.
199. Gouyon JB, Pothier P, Guignier F, Portier H, Pujol HP, Kazmierczak A, Chatelain P, Alison M. Outbreak of respiratory syncytial virus in France. *Eur J Clin Microbiol* 1985; 4(4):415-416.
200. Gouyon JB, Pothier P, Guignier F, Portier H, Pujol HP, Kazmierczak A, Chatelain P, Alison M. Outbreak of respiratory syncytial virus in France. *Eur J Clin Microbiol* 1985; 4(4):415-416.
201. Hall CB, Geiman JM, Douglas RG, Jr., Meagher MP. Control of nosocomial respiratory syncytial viral infections. *Pediatrics* 1978; 62(5):728-732.
202. Hall CB, Douglas RG, Jr. Nosocomial respiratory syncytial viral infections. Should gowns and masks be used? *Am J Dis Child* 1981; 135(6):512-515.
203. Karlberg J, Chong DS, Lai WY. Do men have a higher case fatality rate of severe acute respiratory syndrome than women do? *Am J Epidemiol* 2004; 159(3):229-231.

204. File TM. The epidemiology of respiratory tract infections. *Semin Respir Infect* 2000; 15(3):184-194.
205. Heinrich J, Topp R, Brasche S. Rhinitis and blood pressure in adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168(10):1243-1245.
206. Kony S, Zureik M, Neukirch C, Leynaert B, Vervloet D, Neukirch F. Rhinitis is associated with increased systolic blood pressure in men: a population-based study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167(4):538-543.
207. Dales R, Chen Y, Lin M. Chronic sinusitis and arterial hypertension in a national population health survey. *Int J Cardiol* 2006; 107(2):230-234.
208. Burrell LM, Johnston CI, Tikellis C, Cooper ME. ACE2, a new regulator of the renin-angiotensin system. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15(4):166-9.
209. Huentelman MJ, Zubcevic J, Prada JAH, Xiao, X, Dimitrov DS, Raizada MK, Ostrov DA. Structure-based discovery of a novel angiotensin-converting enzyme 2 inhibitor. *Hypertension* 2004;44:903-906.
210. Jia HP, Look DC, Shi L, Hickey M, Pewe L, Netland J, Farzan M, Wohlford-Lenane C, Perlman S, McCray PB Jr. ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *J Virol* 2005;79(23):14614-14621.
211. Sims AC, Baric RS, Yount B, Burket, Collins PL, Pickes RJ. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of human ciliated airway epithelia: role of ciliated cells in viral spread in the conducting airways of the lungs. *J Virol* 2005;79(24):15111-15124.
212. Schade CP, McCombs MA. Influenza immunization and mortality among diabetic Medicare beneficiaries in West Virginia. *W V Med J* 2000; 96(3):444-448.
213. Cohen JP, Macauley C. Susceptibility to influenza A in HIV-positive patients. *JAMA* 1989; 261(2):245.
214. Fine AD, Bridges CB, De Guzman AM, Glover L, Zeller B, Wong SJ, Baker I, Regnery H, Fukuda K. Influenza A among patients with human immunodeficiency virus: an outbreak of infection at a residential facility in New York City. *Clin Infect Dis* 2001; 32(12):1784-1791.

215. Horcajada JP, Pumarola T, Martínez JA, Tapias G, Bayas JM, de la Prada M, García F, Codina C, Gatell JM, Jiménez de Anta MT. A nosocomial outbreak of influenza during a period without influenza epidemic activity. *Eur Respir J* 2003; 21(2):303-307.
216. Lin JC, Nichol KL. Excess mortality due to pneumonia or influenza during influenza seasons among persons with acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med* 2001; 161(3):441-446.
217. Ljungman P, Andersson J, Aschan J, Barkholt L, Ehrnst A, Johansson M, Weiland O. Influenza A in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 1993; 17(2):244-247.
218. Sherman CB. The health consequences of cigarette smoking. Pulmonary diseases. *Med Clin North Am* 1992; 76(2):355-375.
219. Nicholson KG, Kent J, Hammersley V, Cancio E. Risk factors for lower respiratory complications of rhinovirus infections in elderly people living in the community: prospective cohort study. *BMJ* 1996; 313(7065):1119-1123.
220. Housworth J, Langmuir AD. Excess mortality from epidemic influenza, 1957-1966. *Am J Epidemiol* 1974; 100(1):40-48.
221. Chan JW, Ng CK, Chan YH, Mok TY, Lee S, Chu SY, Law WL, Lee MP, Li PC. Short term outcome and risk factors for adverse clinical outcomes in adults with severe acute respiratory syndrome (SARS). *Thorax* 2003; 58(8):686-689.
222. Carballal G, Videla C, Sequeira MD, Mistchenko A, Requeijo PV, Arbiza J. Respiratory syncytial virus: changes in prevalence of subgroups A and B among Argentinian children, 1990-1996. *J Med Virol* 2000; 61(2):275-279.
223. Checon RE, Siqueira MM, Lugon AK, Portes S, Dietze R. Short report: seasonal pattern of respiratory syncytial virus in a region with a tropical climate in southeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 67(5):490-491.
224. Costa LF, Yokosawa J, Mantese OC, Oliveira TF, Silveira HL, Nepomuceno LL, Moreira LS, Dyonisio G, Rossi LM, Oliveira RC, Ribeiro LZ, Queiróz DA. 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* 2006; 101(3):301-306.

225. Straliozzo SM, Nestor SM, Siqueira MM. Respiratory syncytial virus groups A and B in Porto Alegre, Brazil, from 1990 to 1995 and 1998. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96(2):155-158.
226. Boivin G, De Serres G, Côté S, Gilca R, Abed Y, Rochette L, Bergeron MG, Déry P. Human metapneumovirus infections in hospitalized children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(6):634-640.
227. Boivin G, De Serres G, Côté S, Gilca R, Abed Y, Rochette L, Bergeron MG, Déry P. Human metapneumovirus infections in hospitalized children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(6):634-640.
228. Gwaltney JM, Jr. The Jeremiah Metzger lecture. Climatology and the common cold. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 1984; 96:159-175.
229. Mäkelä MJ, Puhakka T, Ruuskanen O, Leinonen M, Saikku P, Kimpimäki M, Blomqvist S, Hyypiä T, Arstila P. Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. *J Clin Microbiol* 1998; 36(2):539-542.
230. Lina B, Valette M, Foray S, Luciani J, Stagnara J, See DM, Aymard M. Surveillance of community-acquired viral infections due to respiratory viruses in Rhone-Alpes (France) during winter 1994 to 1995. *J Clin Microbiol* 1996; 34(12):3007-3011.
231. Monto AS. Occurrence of respiratory virus: time, place and person. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(1 Suppl):S58-S64.