



**PROGRAMA DE APRIMORAMENTO
PROFISSIONAL**
SECRETARIA DO ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS
SECRETARIA DA SAÚDE



**Avaliação do índice de positividade dos Testes de Vírus Respiratórios e Intestinais
em um Hospital de Emergências de Ribeirão Preto**

Ribeirão Preto
2019



**PROGRAMA DE APRIMORAMENTO
PROFISSIONAL**
SECRETARIA DO ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS
SECRETARIA DA SAÚDE



**Avaliação do índice de positividade dos Testes de Vírus Respiratórios e Intestinais
em um Hospital de Emergências de Ribeirão Preto**

Monografia apresentada ao Programa de Aprimoramento Profissional/CRH/SES-SP e Secretaria da Saúde, elaborada no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP/ Departamento de Apoio Médico.

Área: Microbiologia Clínica.

Orientadores: Profa. Dra. Denissani Ap.
Ferrari dos Santos Lima e
Prof. Dr. Roberto Martinez

Ribeirão Preto

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

CARRIJO, V.A. Avaliação do índice de positividade dos Testes de Vírus Respiratórios e Intestinais em um Hospital de Emergências de Ribeirão Preto. p.32.

Monografia apresentada ao Programa de Aprimoramento Profissional/CRH/SES-SP da Secretaria da Saúde, Programa de Microbiologia Clínica.

Orientadores: Profa. Dra. Denissani Ap. Ferrari dos Santos Lima e Prof. Dr. Roberto Martinez.

Palavras chaves: Rotavirus, Adenovirus, Influenza.

LISTA DE ABREVIACOES

IRA	Infecção Respiratória Aguda
VSR	Vírus Sincial Respiratório
CTI	Centro de Terapia Intensiva
USP	Universidade de São Paulo
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
UE	Unidade de Emergência

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01	Estrutura do Vírus Sincicial Respiratório	12
Figura 02	Esquema representativo da estrutura do vírus Influenza	15
Figura 03	Teste rápido para Rota-Adenovírus	23

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 01	Número total dos testes positivos e negativos de Vírus Sincicial Respiratório e Influenza realizados no ano de 2017.....	24
Gráfico 01	Incidência do Vírus Sincicial Respiratório no período de 2017 e 2018.....	25
Tabela 02	Número total dos testes de Vírus Sincicial Respiratório e Influenza realizados no ano de 2018.....	25
Tabela 03	Número total dos testes de Rotavírus e Adenovírus realizados no ano de 2017.....	32
Tabela 04	Número total dos testes de Rotavírus e Adenovírus realizados no ano de 2018.....	33

CARRIJO, V.A. Avaliação do índice de positividade dos Testes de Vírus Respiratórios e Intestinais em um Hospital de Emergências de Ribeirão Preto. Monografia apresentada ao Programa de Aprimoramento Profissional/CRH/SES-SP da SECRETARIA DA SAÚDE, Programa de Microbiologia Clínica, 2019.

RESUMO

As infecções respiratórias agudas (IRA) são responsáveis por um elevado índice de atendimento médico pediátrico ambulatorial e hospitalar no mundo, produzindo grandes custos diretos e indiretos com assistência à saúde. Os vírus são responsáveis por 50 a 90% das infecções do trato respiratório inferior em crianças, sobretudo os vírus respiratório sincicial humano (VRSH), vírus da Parainfluenza humana (VPIH) I, II, e III, Influenza A e B, Adenovírus. Baseado na prevalência destes vírus nas IRA, sendo responsáveis por aproximadamente 30% de todos os óbitos infantis nos países em desenvolvimento, este trabalho teve por objetivo principal estabelecer o índice de positividade dos Vírus Sincicial Respiratório, Influenza, Rotavírus e Adenovírus no período de Janeiro de 2017 a Dezembro de 2018, a partir de testes rápidos realizados na Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HC – FMRP – USP), visando comparar o número de testes positivos em 2017 com o número do respectivo teste em 2018, além de conscientizar a população acerca da importância da vacinação contra estes vírus. O estudo foi baseado no processamento de 556 amostras de aspirados traqueais e 171 amostras de fezes, para pesquisa de VRSH e Influenza, e Rotavírus e Adenovírus, respectivamente. Dentre os resultados obtidos, observamos uma elevação no índice de VRSH e Influenza nos meses de Maio e Junho dos dois anos estudados, justificada pela chegada da estação das chuvas. O número de testes positivos para Rotavírus e Adenovírus não foram relevantes, apresentando, ao todo, 16 casos positivos nos dois anos, dentre as 171 amostras analisadas. Em suma, concluímos que os resultados obtidos em nosso estudo vão de encontro aos dados obtidos por outros autores, bem como o período de maior positividade.

Palavras chaves: Rotavírus, Adenovírus, Influenza.

CARRIJO, V.A. Evaluation of the positive index of the Respiratory and Intestinal Virus Test at a Hospital of Emergencies of Ribeirão Preto.

SUMMARY

Acute respiratory infections (ARI) are responsible for a high rate of outpatient and hospital pediatric medical care in the world, producing large direct and indirect costs with health care. Viruses are responsible for 50-90% of lower respiratory tract infections in children, especially human RSV, human Parainfluenza virus I, II, and III, Influenza A and B, Adenovirus. Based on the prevalence of these viruses in ARI, accounting for approximately 30% of all infant deaths in developing countries, the main objective of this study was to establish the positive index of Respiratory Syncytial Virus, Influenza, Rotavirus and Adenovirus in January 2017 to December 2018, based on rapid tests performed at the Emergency Unit of the Hospital das Clínicas of the Medical School of Ribeirão Preto (HC - FMRP - USP), in order to compare the number of positive tests in 2017 with the respective test number in 2018, in addition to making the population aware of the importance of vaccination against these viruses. The study was based on the processing of 556 tracheal aspirate samples and 171 fecal samples for HRSV and Influenza, and Rotavirus and Adenovirus, respectively. Among the results obtained, we observed an increase in the index of HRS and Influenza in the months of May and June of the two years studied, justified by the arrival of the rainy season. The number of positive tests for Rotavirus and Adenovirus was not relevant, presenting, in all, 16 positive cases in the two years, among 171 samples analyzed. In conclusion, we conclude that the results obtained in our study are in agreement with the data obtained by other authors, as well as the period of greatest positivity.

Keywords: Rotavirus, Adenovirus, Influenza.

SUMÁRIO

1. Introdução	10
1.1 Vírus Sincicial Respiratório (VSR)	11
1.2 Vírus Influenza	12
1.3 Vacinação contra Influenza	15
1.4 Rotavírus	17
1.5 Vacinação contra Rotavírus	18
2. Objetivo	21
3. Materiais e Métodos	22
3.1 Características do local de estudo	22
3.2 Amostragem	22
3.3 Técnicas utilizadas	22
4. Resultado	25
5. Discussão	28
6. Conclusão	30
7. Referências	31

1. INTRODUÇÃO

As infecções respiratórias agudas (IRA) são responsáveis por um elevado índice de atendimento médico pediátrico ambulatorial e hospitalar no mundo; são ainda as causas mais comuns de morbidade e mortalidade entre pacientes pediátricos, sendo responsáveis por aproximadamente 30% de todos os óbitos infantis nos países em desenvolvimento. Embora raramente constituam causa de morte em países industrializados, as IRAs produzem grandes custos diretos e indiretos com assistência à saúde (**Thomazelli** ^{ET ALL}; GARCIA LOURENÇÃO, Luciano).

No Brasil, as Infecções Respiratórias Agudas e as doenças diarréicas são as principais causas de mortalidade em crianças com menos de cinco anos de idade. Os vírus são considerados os agentes predominantes de IRA, seja como patógeno principal ou predispondo a infecções bacterianas secundárias, sendo responsáveis por 20% a 30% dos casos que evoluem para o óbito (MOURA, Fernanda). Esses agentes têm grande variedade antigênica, distribuição universal e acometem pessoas em todas as faixas etárias, podendo causar várias síndromes clínicas, com acometimento tanto de trato respiratório superior (IRA alta), quanto inferior (IRA baixa) (RAKES, Gary).

Os vírus são responsáveis por 50 a 90% das infecções do trato respiratório inferior em crianças pequenas, sendo a maioria das infecções identificadas atribuída aos vírus: vírus respiratório sincicial humano (VRSH), vírus da parainfluenza humana (VPIH) I, II, e III, influenza A e B, adenovírus.

Os principais agentes virais associados à patogenia destas infecções das vias aéreas inferiores são, em ordem decrescente de frequência, o vírus respiratório sincicial (VRS), seguido do para-influenza, influenza e adenovírus, e mais recentemente, o metapneumovírus humano (MPVH) (MIYAO, Cristina). Entre os portadores de doenças crônicas, imunodeprimidos e institucionalizados, a infecção respiratória viral e suas complicações têm se mostrado mais graves, o que reforça a necessidade de vigilância virológica, medidas profiláticas e, no caso da influenza, da indicação da vacina específica contra as cepas circulantes (DONALISIO, Maria Rita).

O vírus Influenza é o principal responsável pelo aumento das taxas de hospitalização e morte durante o inverno, todos os anos. Juntamente com o Vírus

Sincicial Respiratório (VSR) são os grandes responsáveis pelas hospitalizações devido à complicação de quadros respiratórios, sendo o vírus Influenza de maior prevalência em adultos e idosos e os VSR em crianças. Estimativas recentes de dados norte americanos aponta para um impacto direto do vírus influenza como responsável por cerca de 31 milhões de atendimentos em serviços de saúde e 3 milhões de dias de hospitalização dos casos com complicações, a cada ano. Toda essa demanda de serviços e recursos da área da saúde resultam em custos diretos e indiretos estimados em mais de 80 milhões de dólares americanos (CARRARO, Emerson).

1.1 Vírus Sincicial Respiratório (VSR)

O vírus sincicial respiratório (VSR) está classificado dentro do gênero Pneumovírus da família Paramyxoviridae. São vírus com tamanho médio de 120 a 300nm, de simetria helicoidal e morfologia esférica, cujo envelope é composto de uma bicamada lipídica derivada de membrana plasmática. O genoma do VSR é composto por RNA de fita simples sense negativa, não segmentada, com cerca de 15.200 nucleotídeos. Possui um único RNA que codifica dez proteínas e é transcrito em mRNAs poliadenilados monocistrônicos.

O VSR é um vírus muito frágil, de conhecida labilidade, muito sensível a extremos de temperatura e pH. Estudos realizados utilizando condições diferentes de temperatura demonstraram que a perda de infecciosidade quando estocado a -30°C , por apenas quatro semanas, pode chegar a 90% e a 4°C por uma semana resta somente 1% de partículas virais infecciosas. Apesar da maior estabilidade a -65°C , mesmo a essa temperatura a perda de infectividade ainda ocorre. Esta instabilidade do VSR causa perdas virais importantes durante o transporte e armazenamento de amostras clínicas, o que pode interferir no diagnóstico adequado principalmente quando realizado o isolamento viral (MORERA, Luciana).

O VSR possui distribuição mundial e constitui a causa mais comum de pneumonia viral em crianças com menos de 5 anos de idade. Em adultos, o VSR se manifesta como uma gripe comum, mas nas crianças o vírus atinge as vias aéreas inferiores causando bronquiolite (sua mais clássica apresentação), pneumonia e broncopneumonia. Em crianças com menos de cinco anos de idade, a infecção pelo VSR é a causa mais comum de pneumonia viral. Este vírus pode causar, ainda, pneumonia no indivíduo idoso ou em pacientes imunocomprometidos. A infecção grave pelo VSR tem

um significativo impacto na função da via aérea e pode induzir ou exacerbar a resposta a uma provocação alérgica. (GARCIA LOURENÇÃO, Luciano). A figura 01 representa a estrutura do vírus sincicial respiratório e os genes que compõe seu material genético.

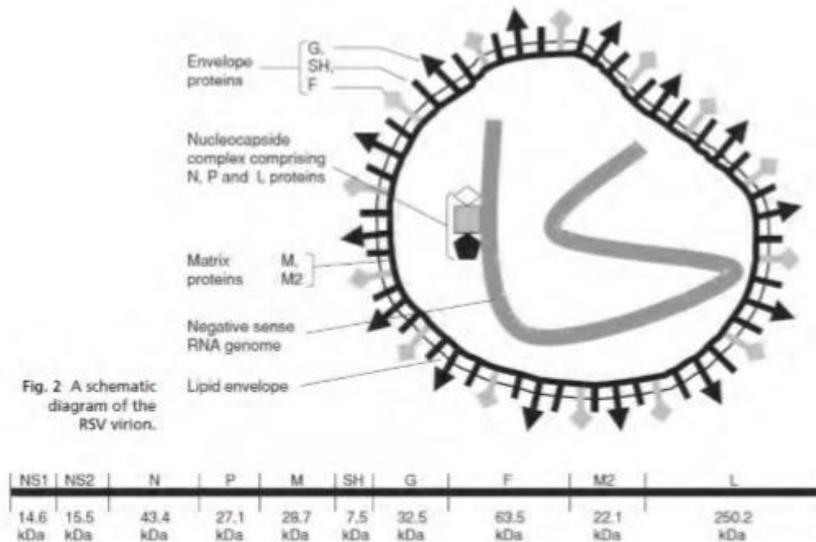


Figura 01: Estrutura do Vírus Sincicial Respiratório (MOREIRA, Luciana)

A sazonalidade é uma das principais características epidemiológicas do VSR, com epidemias anuais sendo observadas a intervalos regulares que variam de acordo com o clima e que podem se comportar de forma diferente de ano para ano. No Brasil, como em outros países, o VSR frequentemente circula na mesma estação que o vírus influenza e sendo o maior país da América do Sul, a diversidade climática aqui encontrada parece afetar a sazonalidade do vírus nos diferentes estados, tornando a ocorrência do VSR não uniforme entre as diferentes regiões. Estudo realizados na região Nordeste demonstram marcada sazonalidade do vírus no primeiro semestre do ano com associação entre a ocorrência de picos de infecção e a estação das chuvas (MOREIRA, Luciana)

1.2 Vírus Influenza

A influenza é uma doença respiratória infecciosa de origem viral, que pode levar ao agravamento e ao óbito, especialmente nos indivíduos que apresentam fatores ou condições de risco para as complicações da infecção (crianças menores de 5 anos de idade, gestantes, adultos com 60 anos ou mais, portadores de doenças crônicas não transmissíveis e outras condições clínicas especiais). A transmissão ocorre

principalmente através do contato com partículas eliminadas por pessoas infectadas ou mãos e objetos contaminados por secreções. É muito elevada em ambiente domiciliar, creches, escolas e em ambientes fechados ou semi fechados, dependendo não apenas da infectividade das cepas, mas também do número e intensidade dos contatos entre pessoas de diferentes faixas etárias. A transmissão também é elevada em aviões, navios e outros meios de transporte coletivo, onde são frequentemente registrados surtos de influenza A e B que acometem passageiros e tripulantes. (INFORME INFLUENZA)

O vírus Influenza é uma partícula esférica que tem um diâmetro interno de aproximadamente 110 nm* e um núcleo central de 70 nm. A superfície é coberta por proteínas de aproximadamente 10 nm de comprimento com funções essenciais ao vírus: a hemaglutinina, responsável pela entrada do vírus nas nossas células onde este se irá multiplicar; e a neuraminidase permite a libertação dos novos vírus que irão à conquista de novas células. O vírus da gripe apresenta um genoma constituído por segmentos de ácido ribonucleico (ARN), o qual codifica, entre uma grande variedade de proteínas virais, as proteínas acima mencionadas (CDC,2000).

Existem três tipos de vírus Influenza – A, B e C. Apenas os vírus A e B causam doença com impacto significativo na saúde humana, sendo os principais causadores das epidemias anuais. O Influenza A é essencialmente um vírus das aves que se adapta ocasionalmente aos humanos podendo causar pandemias (isto é, epidemias que se propagam ao mundo todo). Os vírus B e C infetam apenas humanos. O Influenza B é responsável por surtos localizados em pequenas comunidades (por exemplo, em escolas). O tipo C causa uma gripe ligeira e está, por isso, menos estudado (CDC,2000).

A variabilidade das proteínas virais, Hemaglutinina (H) e Neuraminidase (N), no vírus da gripe A, está na base da sua classificação em diferentes subtipos (por exemplo, H5N1 ou H1N1). Atualmente conhecem-se 16 tipos diferentes de hemaglutinina (H1-H16) e 9 de neuraminidase (N1-N9). É a sua combinação que define o subtipo de vírus da gripe A expresso, o qual apresentará uma resposta epidemiológica e clínica específica (NETO, 2003; CDC, 2000).

Os vírus influenza, particularmente o vírus influenza tipo A, são caracterizados por sua capacidade de sofrer mutações e reorganizações genéticas que podem determinar alterações antigênicas de maior ou menor magnitude em suas proteínas externas, e que resultam no surgimento de variantes virais que diferem parcial ou totalmente daqueles imunologicamente conhecidos. A eficácia dos programas de

vacinação contra esta doença é principalmente dependente da semelhança antigênica entre a vacina utilizada e circulação de vírus da gripe na comunidade (LEVINE, Myron). Quando a composição da vacina é coincidente com as cepas de vírus circulante, sua eficácia em adultos saudáveis atinge 70 a 90%, enquanto cai para 30 a 40% em maiores de 60 anos (FRANCISCO, Priscila).

As características biológicas e a complexidade do processo de transmissão dos vírus influenza tornam a vigilância desta doença, por si só, um grande desafio para o Sistema Único de Saúde (SUS). Em vista da necessidade da monitorização da atividade do vírus Influenza em nosso meio e considerando a existência de vacinas para a prevenção da doença e/ou da morbimortalidade associada às suas complicações em determinados grupos de risco, o Ministério da Saúde iniciou no ano 2000 a implantação de um Sistema de Vigilância da Influenza em âmbito nacional, caracterizado pelo desenvolvimento das atividades de assistência médica aos casos, no monitoramento da doença na população, na investigação epidemiológica de surtos, no diagnóstico etiológico e nas ações de prevenção e controle.

Atualmente, o Sistema de Vigilância da Influenza está implantado em 30 unidades sentinela, a maioria delas localizada nas capitais de 16 estados das cinco regiões brasileiras, com previsão de implantação em outros seis estados. No entanto, independente da participação nesta rede sentinela, toda suspeita da ocorrência de surto de influenza deve ser notificada, em consonância com as normas atuais sobre a notificação de doenças transmissíveis no país (CARMO, Eduardo).

No Brasil, a rede de laboratórios de referência para vírus respiratórios é composta de três (03) laboratórios credenciados junto à OMS como centros de referência para influenza (NIC - Nacional Influenza Center), os quais fazem parte da rede global de vigilância da influenza. Entre estes laboratórios há um laboratório de referência nacional, a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), no Rio de Janeiro, e dois laboratórios de referência regional: o Instituto Adolfo Lutz (IAL), em São Paulo, e o Instituto Evandro Chagas (IEC), em Belém.

A utilização de testes laboratoriais diagnósticos específicos para agentes virais em caso de IRAs é limitada, devido a problemas financeiros e técnicos ou ainda devido

ao fato de os vírus serem subestimados como agentes de infecções respiratórias que necessitam de hospitalização (MOURA, Fernanda).

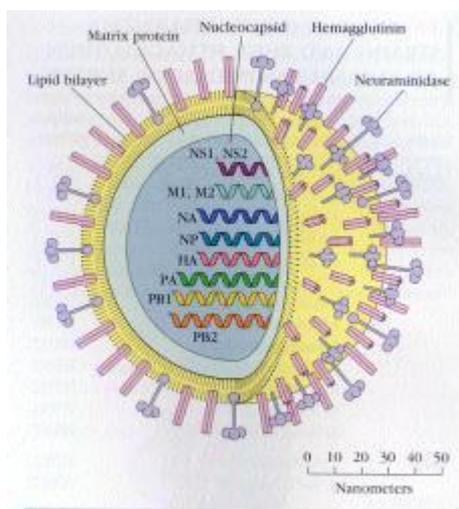


Figura 2: Esquema representativo da estrutura do vírus Influenza. Adaptado do Goldsby *et al.*; Kubby Immunology, 2000.

1.3 – Vacinação contra Influenzae

A estratégia de vacinação contra a influenza foi incorporada no Programa Nacional de Imunizações em 1999, com o propósito de reduzir internações, complicações e mortes na população alvo para a vacinação no Brasil.

A vacinação contra influenza mostra-se como uma das medidas mais efetivas para a prevenção da influenza grave e de suas complicações.^{2,3,6,7,12} Existem diversas vacinas contra a influenza que diferem quanto à sua composição (tipo e quantidade de antígenos, presença de adjuvantes e conservantes) e que podem ter diferentes indicações, de acordo com faixa etária. Alguns estudos demonstram que a vacinação pode reduzir entre 32% a 45% o número de hospitalizações por pneumonias, de 39% a 75% a mortalidade global e em, aproximadamente, 50% nas doenças relacionadas à influenza.

Em populações não vacinadas, a maioria das mortes por influenza sazonal é registrada em idosos. Entretanto, as taxas de hospitalizações em crianças menores de cinco anos são tão elevadas quanto às observadas no grupo de idosos.

Em adultos saudáveis, a detecção de anticorpos protetores se dá entre 2 a 3 semanas, após a vacinação e apresenta, geralmente, duração de 6 a 12 meses. O pico máximo de anticorpos ocorre após 4 a 6 semanas, embora em idosos os níveis de anticorpos possam ser menores. Os níveis declinam com o tempo e se apresentam aproximadamente duas vezes menores após seis meses da vacinação, em relação aos obtidos no pico máximo, podendo ser reduzidos mais rapidamente em alguns grupos populacionais, como indivíduos institucionalizados, doentes renais, entre outros. A proteção conferida pela vacinação é de aproximadamente um ano, motivo pelo qual é feita anualmente.

A imunogenicidade em crianças varia de 30 a 90% sendo diretamente proporcional à idade. Em crianças menores de seis anos de idade, aproximadamente 40 a 80% apresentam soroconversão após uma única dose da vacina, enquanto para crianças maiores de 6 anos, a taxa de soroconversão sobe para 70 a 100%. Mais de 50% das crianças menores de três anos e cerca de 30% das crianças até nove anos de idade são soronegativas para o vírus da influenza. Tal fato resulta na recomendação de duas doses da vacina influenza sazonal em primovacinados e uma dose nos anos subsequentes.

Apesar de todas essas controvérsias, as políticas de vacinação contra influenza devem ser mantidas, lembrando-se que a vacinação embora não confira proteção completa nem proteção contra todas as causas de morte, previne aproximadamente 30% dos casos fatais e não fatais em idosos, independentemente da etiologia, 40% dos casos de síndrome gripal e 50 a 70% das mortes em que o vírus influenza foi identificado em laboratório. A vacinação contra influenza, mesmo quando a eficácia é reduzida, pode impedir milhares de internações. Adicionalmente, existem evidências de que a vacinação reduz em pelo menos dois dias o tempo de hospitalização, um benefício substancial tanto do ponto de vista individual, como para a sociedade.

Em doenças agudas febris moderadas ou graves recomenda-se adiar a vacinação até a resolução do quadro com o intuito de não se atribuir à vacina as manifestações da doença.

1.4 Rotavírus

Rotavírus é um vírus da família Reoviridae, do gênero Rotavírus, identificado a partir de 1973. São classificados sorologicamente em grupos, subgrupos e sorotipos. O genoma dos rotavírus é composto por 11 genes de RNA de fita dupla, que codificam 6 proteínas estruturais e 5 proteínas não estruturais. Até o momento foram identificados 7 grupos (A–G), ocorrendo em diversas espécies animais, sendo que os grupos A, B, e C são associados a doença no homem. O grupo A é o de melhor caracterização, predominando na natureza, associado à doença no homem e em diversas outras espécies animais, para o qual foram desenvolvidos Kits diagnósticos comerciais (ELISA). Possuem antígeno comum de grupo, localizado no componente VP6, no capsídeo intermediário, detectável pela maioria dos testes sorológicos. Esta proteína também determina o subgrupo (I, II, I e II, não I – não II) a que pertence a cepa. Os sorotipos são determinados por duas proteínas (VP4 e VP7) situadas no capsídeo externo. Dos 14 sorotipos G (VP7) conhecidos, 10 têm sido descritos como patógenos humanos e os tipos G1 a G4, os mais frequentemente encontrados em todo o mundo. Os sorotipos G5, G6 e G10, que eram encontrados exclusivamente como patógenos animais, também foram isolados em humanos. Nas décadas de 80 e 90 o sorotipo G5 foi encontrado em segmentos da população no Brasil. Em uma revisão global dos genótipos G e P circulantes ficou demonstrada a predominância do genótipo G1P[8], com a emergência do genótipo G9 em diferentes países. Atualmente o genótipo G2P[4] é predominante em todo o Brasil.

O reservatório é o trato gastrointestinal dos humanos e animais infectado. Apesar de ocorrer infecção em muitos mamíferos não humanos, a transmissão do rotavírus animal ao homem não é comum e acredita-se que não cause manifestação clínica. Apesar dos imunocomprometidos poderem eliminar o rotavírus por períodos prolongados, a condição de portador não tem sido descrito.

A transmissão é pela via fecal-oral, através do contato direto (pessoa-a-pessoa) ou indireto (alimentos, águas contaminadas ou fômites). Pode ocorrer ainda a transmissão por perdigotos respiratórios. A replicação viral ocorre nas vilosidades epiteliais do intestino delgado, sendo incomum a replicação viral em outros órgãos ou a circulação via sistêmica do vírus. O período de incubação é normalmente curto, de 1 a 3 dias.

Pessoas infectadas podem eliminar grandes quantidades de vírus pelas fezes a partir do segundo dia antes do início das diarreias, tendo a máxima excreção viral no 3º e 4º dia a partir dos primeiros sintomas e perdurar por até 10 dias depois de finda as manifestações sintomatológicas. O rotavírus pode ser detectado em fezes de imunocomprometidos por até 30 dias após a infecção.

1.5 - Vacinação contra Rotavírus

A partir do ano 2006 duas novas vacinas contra o rotavírus, devidamente licenciadas e consideradas seguras, foram introduzidas no calendário infantil de imunização, nos Estados Unidos e em vários países da América Latina, incluindo-se o Brasil. Estudos recentes mostram que essas vacinas conferem proteção contra as infecções graves que requerem internação, em torno de 85 a 95%, e no total das infecções por rotavírus, de 72 a 74%. A vacina utilizada contra o Rotavírus, incluída no calendário infantil brasileiro, em outros países da América Latina e Europa, é o Rotarix® do laboratório Glaxo Smith Kline Biologicals. Trata-se de uma vacina oral, atenuada, monovalente (G1P1A[8]), cepa RIX4414, com elevada imunogenicidade, eficácia e segurança. A vacina é aplicada nas idades de 2 meses (1ª. dose) e 4 meses (2ª. dose) (para maiores orientações veja o calendário de vacinação para o estado de São Paulo).

A eficácia da vacina Rotarix®, segundo alguns estudos com lactentes de 6 a 13 semanas de idade, de 11 países da América Latina, incluindo o Brasil (Belém/PA), para a prevenção de diarreia grave foi de 84,7% e 85% para hospitalização. A eficácia para prevenção de diarreia grave para todos os sorotipos do grupo G foi de 91,8%, para sorotipos G3P[8], G4P[8] e G9P[8] foi de 87,3% e para o sorotipo G2P[4] foi de 41,0%. A proteção teve início cerca de duas semanas após a segunda dose.

Sete estudos de vários países avaliaram a eliminação fecal dos antígenos do rotavírus vacinal e observaram que após sete dias da primeira dose, os antígenos foram detectados em 50% a 80% (dependendo do estudo) das fezes e em até 24% depois de 30 dias. Após a segunda dose, a eliminação detectada por ELISA foi de 4% a 18% após 7 dias e de até 1,2% após 30 dias da vacinação. (CDC 2012).

A cobertura vacinal manteve-se em média de 88,66% no período de 2006 a 2011, tendo a cobertura mínima em 2007 com 85,09% e a máxima em 2011 com 92,65%.

Após a introdução da vacinação, a vigilância do rotavírus no estado de São Paulo incorporou algumas estratégias que possibilitem identificar com maior precisão o perfil epidemiológico pós-vacinação e as possíveis mudanças na incidência da doença no grupo populacional alvo, consequentemente e a efetividade do programa de imunização.

2. OBJETIVOS

Considerando as Infecções Respiratórias Agudas e as doenças diarreicas como sendo as principais causas de mortalidade em crianças com menos de cinco anos de idade e, tendo em vista a importância clínica dos vírus como os principais causadores dessas infecções, este trabalho teve por objetivo:

- Estabelecer o índice de positividade dos Vírus Sincicial Respiratório, Influenza, Rotavírus e Adenovírus no período de Abril de 2017 a Dezembro de 2018 a partir de testes rápidos realizados na Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP – USP);
- Comparar o número de testes positivos em 2017 com o número do respectivo teste em 2018;
- Discutir a sazonalidade dos vírus estudados;
- Conscientizar a população acerca da importância da vacinação contra estes vírus.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Características do local do estudo

A Unidade de Emergência Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (U.E.- HCFMRP-USP) é caracterizada como um hospital de atendimento terciário para traumas e agravos clínicos graves da região da DRS XIII. Possui 160 leitos divididos em: clínica médica, unidade de terapia intensiva, pediatria, ortopedia, neurologia e unidade de queimados.

3.2 - Amostragem

As amostras de aspirados traqueais para análise em nosso estudo foram obtidas no período entre abril de 2017 a dezembro de 2018 de pacientes internados na UE-HCFMRP-USP. Obtivemos um total de 556 amostras.

Para a análise do Rotavírus, selecionamos amostras de fezes do período entre janeiro de 2017 a dezembro de 2018 provenientes dos pacientes internados na UE-HCFMRP-USP, das quais 171 foram incluídas no estudo.

3.3 - Técnicas Utilizada

Utilizamos para os testes os kits de Teste Rápido de Influenza A + B, Rotavirus e Adenovirus, cujas especificações técnicas estão descritas a seguir.

Influenza

Princípio: A Tira de Teste Rápido de Influenza A + B (Swab / Aspirado Nasal) é um imunoensaio qualitativo de fluxo lateral para a detecção de nucleoproteínas de Influenza A e Influenza B em swab nasal, swab de garganta ou amostras de aspirado nasal. Neste ensaio, um anticorpo específico para nucleoproteínas de Influenza A e Influenza B é revestido separadamente nas regiões da linha de teste da tira de teste. Durante o teste, a amostra extraída reage com o anticorpo para Influenza A e/ou Influenza B, que estão revestidos sobre partículas. A mistura migra pela membrana para reagir com o anticorpo para Influenza A e/ou Influenza B na membrana, gerando uma ou duas linhas coloridas nas regiões de teste. A presença desta linha colorida em uma ou ambas as regiões de teste indicam um resultado positivo. Para servir como controle de

procedimento, uma linha colorida sempre aparecerá na região de controle, caso o teste seja realizado adequadamente.

RSV

Princípio: O Cartão RSV BinaxNOW da Alere é um ensaio de membrana imuno-cromatográfico utilizado para detectar o antígeno da proteína de fusão do RSV em zaragatoas com amostras nasofaríngeas e de lavagem nasal. Anticorpo anti-RSV, a Linha da Amostra, é adsorvido na nitrocelulose. O anticorpo de controle é adsorvido na mesma membrana como uma segunda tira. Tanto o anti-RSV como os anticorpos de controle são conjugados para visualização das partículas secas sobre um suporte fibroso inerte. A compressa de conjugado resultante e a membrana em tira são combinadas para construir a tira de teste. Esta tira de teste é montada no lado direito de um cartão de teste em cartão articulado em forma de livro.

As zaragatoas com amostras (de controle e do paciente) requerem um passo de preparação, no qual a amostra é eluída da zaragatoa para uma solução apropriada. As amostras de lavagem nasal não requerem qualquer preparação.

Para a realização do teste, a amostra a ser testada é adicionada à compressa branca no topo da tira de teste, e o cartão de teste é fechado. O antígeno do RSV presente na amostra reage para limitar o anticorpo conjugado anti-RSV. Os complexos de antígeno-conjugado resultantes são capturados pelo anticorpo anti-RSV imobilizado, formando a Linha de Amostra. O anticorpo imobilizado da Linha de Controle captura um conjugado de visualização, formando uma linha de controle rosa. A Linha de Controle é azul num cartão que não foi testado.

Os resultados do teste são interpretados pela presença ou ausência de linhas visualmente detectáveis de cor rosa a violeta. Um resultado de teste positivo, lido em 15 minutos, incluirá a detecção de uma Linha de Amostra e de uma Linha de Controle. Um resultado de teste negativo, lido em 15 minutos, produzirá apenas uma Linha de Controle, que indica que o antígeno do RSV não foi detectado na amostra. Caso a Linha de Controle não apareça, ou a Linha de Controle continue azul, isso indica um ensaio inválido, quer a Linha de Amostra esteja presente ou não.

Rota-Adeno

Princípio: O bioNexia ® Rota-Adeno é um teste imunocromatográfico.

- **Se a amostra contiver** antígeno de Rotavírus, este liga-se ao anticorpo anti-Rotavírus que, por sua vez, é conjugado com microesferas de poliestireno de cor azul.
- **Se a amostra contiver** antígeno de Adenovírus, este liga-se ao anticorpo anti-Adenovírus que, por sua vez, é conjugado com microesferas de poliestireno de cor vermelha.

O complexo formado migra pela membrana até à linha de teste (R ou A) através da ação de capilaridade.

O complexo liga-se aos anticorpos anti-Rotavírus e/ou anti-Adenovírus presentes na região da linha de teste (R e/ou A). Forma-se uma linha colorida, vermelha (A) e/ou azul (R) (de intensidade variável), na região da linha de teste. A presença de uma linha colorida na região da linha de teste (R e/ou A) indica um resultado positivo.

- **Se a amostra não contiver** o antígeno de Rotavírus e/ou de Adenovírus, o anticorpo não irá formar um complexo e não surgirá uma linha na região da linha de teste (R e A).

O teste só é válido se surgir uma linha na região da linha de controle (C).

A linha de controle (C) é o resultado da reação entre o anticorpo de ovelha anti-ratinho imobilizado na membrana (zona C) e os anticorpos anti-Rotavírus e anti-Adenovírus conjugados com microesferas de poliestireno. A linha de controle (C) indica que a migração do teste foi executada corretamente.

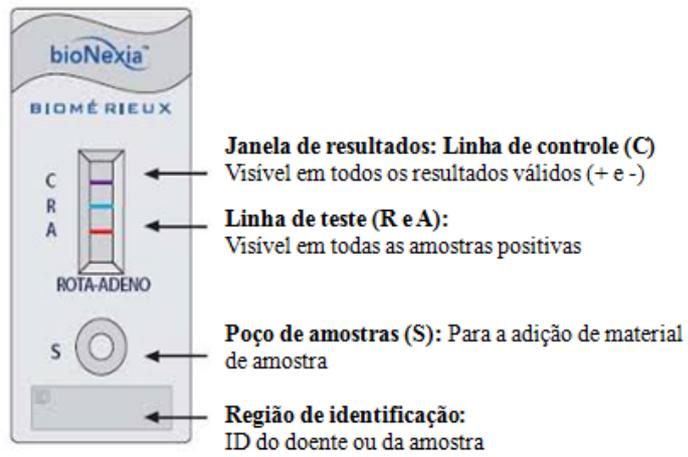


Figura 03: Teste rápido para Rota-Adenovírus.

4. RESULTADOS

No período para a realização deste trabalho, os resultados obtidos foram:

Tabela 01: Número total dos testes positivos e negativos de Vírus Sincicial Respiratório e Influenza realizados no ano de 2017.

Período 2017 - n total=634								
MÊS	POSITIVOS n= 37				NEGATIVOS n= 597			
	VSR	A	H1N1	B	VSR	A	H1N1	B
ABR	3	0	0	0	3	6	6	6
MAI	18	0	0	0	16	35	35	35
JUN	10	0	0	1	23	23	23	22
JUL	4	0	0	0	21	20	20	20
AGO	0	0	0	0	14	14	14	14
SET	0	0	0	0	20	18	18	18
OUT	0	0	0	0	8	8	8	8
NOV	0	0	1	0	14	12	11	12
DEZ	0	0	0	0	18	18	18	18

A tabela 01 expressa os valores totais dos teste de Vírus Sincicial Respiratório e Influenza (A, H1N1 e B) realizados entre os meses de Abril e Dezembro de 2017, onde observamos o maior índice de positividade para o VSR, especialmente nos meses de Maio e Junho, cuja incidência foi de 48% e 27% testes positivos, respectivamente. A comparação entre os valores desse teste neste período foi expressa no gráfico a seguir (Gráfico 01). Em relação aos testes de Influenza, o índice de positividade obtido neste período não foi relevante no estudo.

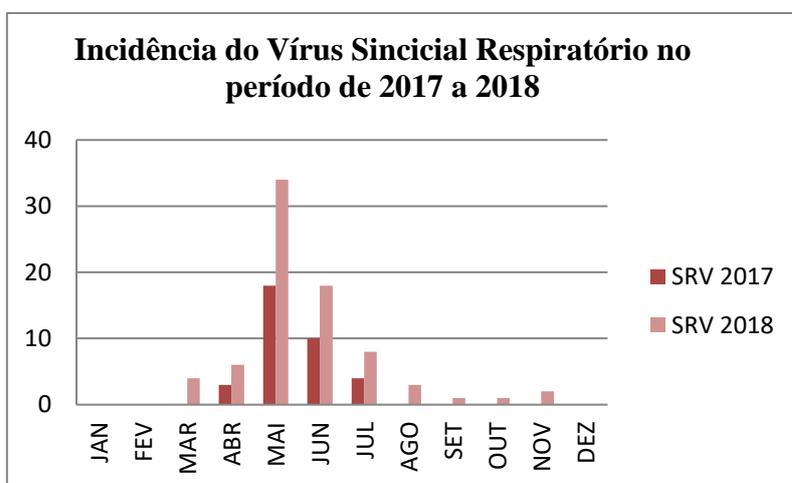


Gráfico 01: Incidência do Vírus Sincicial Respiratório no período de 2017 a 2018

Tabela 02: Número total dos testes positivos e negativos de Vírus Sincicial Respiratório e Influenza realizados no ano de 2018.

Período 2018 N total= 1152								
MÊS	POSITIVOS n= 110				NEGATIVOS n= 1042			
	SRV	A	H1N1	B	SRV	A	H1N1	B
JAN	0	0	0	0	8	8	8	8
FEV	0	0	0	0	11	12	12	12
MAR	4	0	0	0	21	22	22	22
ABR	6	0	2	2	29	33	31	31
MAI	34	4	0	5	31	63	67	62
JUN	18	7	0	0	29	40	37	47
JUL	8	6	0	0	32	36	1	42
AGO	3	2	0	0	25	25	0	27
SET	1	0	0	0	21	22	0	22
OUT	1	2	0	0	25	25	0	27
NOV	2	0	0	3	15	17	0	14
DEZ	7	0	0	0	21	30	30	30

A tabela 02 expressa os valores totais dos testes de Vírus Sincicial Respiratório e Influenza (A, H1N1 e B) realizados entre os meses de Janeiro e Dezembro de 2018, onde observamos o maior índice de positividade para o vírus VSR, especialmente nos meses de Maio e Junho, cuja incidência foi de 40,5% e 21,4% testes positivos, respectivamente. O aumento na taxa de positividade para esse tipo de vírus neste período pode ser justificada com a chegada das chuvas no primeiro semestre do ano.

Em relação ao vírus Influenza, classificado em Influenza A, Influenza H1N1 e Influenza B, observamos o maior índice de positividade para a Influenza A a partir do mês de maio, seguido por um decréscimo nesse índice após o mês de agosto. Neste ano, poucos casos de Influenza H1N1 foram observados.

O maior índice de positividade para o vírus Influenza B foi observado no mês de maio, apresentando apenas 5 casos positivos, seguido pelo mês de novembro, com 3.

Tabela 03: Número total dos testes de Rotavírus e Adenovírus realizados no ano de 2017.

Rotavírus-Adenovírus 2017				
	POSITIVOS		NEGATIVOS	
	Rota n=1	Adeno n=0	Rota n=74	Adeno n=75
JAN	0	0	8	8
FEV	0	0	5	5
MAR	0	0	2	2
ABR	0	0	5	5
MAI	0	0	4	4
JUN	0	0	7	7
JUL	0	0	9	9
AGO	0	0	11	11
SET	0	0	4	4
OUT	0	0	8	8
NOV	0	0	6	6
DEZ	1	0	5	6

Tabela 04: Número total dos testes de Rotavírus e Adenovírus realizados no ano de 2018

Rotavírus-Adenovírus n= 192 em 2018				
	POSITIVOS		NEGATIVOS	
	Rota n=12	Adeno n=3	Rota n=84	Adeno n=93
JAN	0	0	8	8
FEV	0	0	9	9
MAR	0	0	8	8
ABR	0	0	5	5
MAI	4	0	10	14
JUN	1	2	8	7
JUL	1	0	4	5
AGO	2	0	9	11
SET	3	0	8	11
OUT	1	1	7	7
NOV	0	0	8	8

As tabelas 3 e 4 expressam os valores obtidos na análise dos testes de Rotavírus e Adenovírus no anos de 2017 e 2018, respectivamente. No ano de 2017, o número de resultados positivos obtidos nos testes de Rotavírus e Adenovírus não foram relevantes, com apenas um teste positivo para Rotavírus em dezembro, dentre os 75 testes realizados para os dois vírus.

Em 2018, notamos uma elevação no índice de positividade para ambos os vírus. Os meses de maior incidência do Rotavírus foram Maio, Agosto e Setembro, com 4, 2 e 3 testes positivos, respectivamente e, para o Adenovírus, o mês de maior incidência foi

Junho, com 2 testes positivos. Neste ano, foram realizados, ao todo, 96 testes rápidos para ambos os vírus. Durante o período de estudo, observou-se que a incidência de rotavírus e adenovírus são em crianças, em sua maioria com idade inferior a 5 anos.

5. DISCUSSÃO

As Infecções Respiratórias Agudas (IRAs) são causas importantes de morbidade e mortalidade infantil em todo o mundo, apresentando, no entanto, um maior impacto em países em desenvolvimento, onde as taxas de mortalidade infantil relacionadas a esse problema são bem maiores (MOURA, Fernanda), como foi observado no nosso estudo.

O VRS é considerado o principal causador de infecções do trato respiratório inferior, principalmente bronquiolite e pneumonia em crianças e recém nascidos, e tem se mostrado também um importante agente de infecção respiratória aguda em imunocomprometidos (MOREIRA, Luciana).

Um estudo realizado por Moura et al. (2002), onde foram analisados 482 casos de infecção respiratória aguda em crianças atendidas na emergência e nas enfermarias do Centro Pediátrico Professor Hosannah de Oliveira, da Universidade Federal da Bahia, teve por objetivo conhecer o papel dos vírus na etiologia dessas infecções. Neste estudo, O VSR foi o mais prevalente, responsável por 55,2% dos casos, seguido pelos vírus Influenza A (17,5%) e parainfluenza 3 (16,2%), adenovírus (7,1%), Influenza B (3,8%) e parainfluenza 1 (0,64%). O período epidêmico de VSR foi relacionado à estação de chuvas.

Em seu estudo, D'Elia e colaboradores (2005), analisaram as características clínicas e evolutivas em crianças menores de um ano internadas com infecção do trato respiratório inferior por vírus sincicial respiratório (VSR), através de um estudo transversal com 89 lactentes hospitalizados durante as épocas de maior incidência do VSR, em 1997 e 1998, na cidade do Rio de Janeiro. Foram pesquisados antígenos virais, nas secreções de nasofaringe, com anticorpos monoclonais anti-VSR, antiinfluenza A e B e antiparainfluenza tipo 3, por ensaio de imunofluorescência indireta, concluindo que o VSR foi o principal causador de infecções do trato respiratório inferior em lactentes que necessitaram de hospitalização, havendo positividade em 42 (47,1%) pacientes.

Os dados obtidos por Moura et al. (2002) e D'Elia e colaboradores (2005),vão de encontro aos resultados obtidos neste estudo onde o índice de positividade foi maior para o VSR (48%) no período de estudo.

A Influenza é uma infecção viral aguda que afeta o sistema respiratório. É de elevada transmissibilidade e distribuição global, com tendência a se disseminar facilmente em epidemias sazonais e também podendo causar pandemias.

A doença pode ser causada pelos vírus Influenza A, B e C. Os vírus A e B apresentam maior importância clínica; estima-se que, em média, as cepas A causem 75% das infecções, mas em algumas temporadas, ocorre o predomínio das cepas B, observamos em nosso estudo que em 2018 houve maior presença do vírus Influenza A.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se a ocorrência de casos da Influenza pode variar de leve a grave e até a morte. A hospitalização e a morte ocorrem principalmente entre os grupos de alto risco. Em todo o mundo, estima-se que epidemias anuais resultem em cerca de 3 a 5 milhões de casos de doença grave e cerca de 290.000 a 650.000 mortes.

A OMS estima que cerca de 1,2 bilhões de pessoas apresentam risco elevado para complicações da influenza; 385 milhões de idosos acima de 65 anos de idade, 140 milhões de crianças, e 700 milhões de crianças e adultos com doença crônica.

Segundo estudo realizado por Chaves SS *et. al* crianças menores de três meses de idade tiveram maior risco de hospitalizações por influenza que as crianças de três a 12 meses. A maioria das internações foi registrada em crianças previamente saudáveis (75%); destas, 10% foram internadas na UTI e 4% tiveram insuficiência respiratória. Essas proporções foram 2 a 3 vezes maiores em crianças com condições de alto risco (< três meses). Lactentes com menos de seis meses de idade tiveram risco 40% maior de serem hospitalizados em UTI em comparação com bebês com idade entre 6 a 12 meses.

No período de 1999 a 2010, a vacinação contra a influenza sazonal estava disponível apenas para idosos e alguns grupos de risco. A partir de 2011 novos grupos populacionais foram beneficiados com a vacina, aumentando de forma significativa o quantitativo de doses administradas. As doses aplicadas nos idosos elevaram-se de 7,5 milhões em 1999 para 19,7 milhões em 2017, com consequente aumento das coberturas vacinais que oscilaram entre 88,17% e 110,43%, no mesmo período, devido ao crescimento populacional deste grupo etário e da melhor adesão desta população à vacinação. Foram incluídos para vacinação, em 2017, os professores das escolas públicas e privadas.

A partir de 2017 a meta foi de vacinar, pelo menos, 90% dos grupos elegíveis para a vacinação. A nível nacional houve alcance da meta apenas nos grupos populacionais prioritários das puérperas, indígenas, idosos e professores. As coberturas vacinais alcançaram ou superaram a meta de 80% preconizada nos anos anteriores, na maioria dos grupos elegíveis. A Região Sul apresentou a maior cobertura vacinal na Campanha contra Influenza, com 89,59% de Cobertura Vacinal, seguida da região Sudeste. Apenas os Estados do Amapá, Pernambuco, Alagoas, Paraná, Amazonas, Goiás, Espírito Santo, Minas Gerais, Maranhão, e o Distrito Federal atingiram a meta de cobertura vacinal na Campanha contra Influenza.

Em 2018, a meta passa a ser vacinar, pelo menos, 90% de cada um dos grupos prioritários: trabalhadores de saúde, povos indígenas, crianças na faixa etária de seis meses a menores de cinco anos (4 anos 11 meses e 29 dias), gestantes em qualquer idade gestacional, puérperas, indivíduos com 60 anos ou mais de idade. (INFORME INFLUENZA)

Estes dados vacinais poderiam justificar a grande parcela de testes negativos observados em 2017 quando foi introduzido o teste no hospital, já que a adesão foi em torno de 90% na região sudeste de acordo com o boletim informativo da Campanha Nacional de Vacinação contra a Influenza 2018.

Donalísio et al. (2006), em um estudo ecológico de série temporal, analisaram a tendência das taxas de mortalidade por doença respiratória padronizadas de 1980 a 2004, examinando-se o período antes e depois das campanhas de vacinação do idoso contra Influenza. Neste estudo, as taxas de mortalidade mostraram queda nos dois anos posteriores às campanhas vacinais, 2000 e 2001, seguida de recuperação a níveis similares aos anteriores a 1999.

Já no estudo realizado por Façanha (2005), cujo objetivo foi avaliar o impacto da vacina da influenza sobre internações e óbitos por doenças respiratórias e circulatórias em Fortaleza, a distribuição mensal das internações não foi modificada pela vacinação, não demonstrando os resultados desejados com a vacinação de idosos.

Sabendo que o Rotavírus se constitui na mais importante causa de gastroenterite aguda entre crianças de baixa idade, determinando expressiva mortalidade nos países

que integram o chamado “Terceiro Mundo”, é inquestionável a importância em termos de saúde pública que assume esse vírus.

Um estudo prospectivo acerca das diarreias agudas foi levado a efeito no período de abril de 1990 a setembro de 1992, com o propósito primário de avaliar a imunogenicidade, inocuidade e eficácia de uma candidata a vacina para rotavírus, tetravalente, recombinante símio-humana (“RRV-TV”), envolvendo 540 crianças habitantes de Belém, Pará, Brasil (Linhares et al., 1994). Neste estudo, foram registrados 2.789 episódios de diarreia no período estipulado. Desse total, 86 (3,1%) se revelaram associados a rotavírus, com destaque para o sorotipo 1, que concorreu com 67,9% dos casos em que foi possível proceder-se à sorotipagem. As taxas mensais de diarreias ocasionadas por rotavírus variaram de 0,8 a 9,6%, com picos de incidência durante os meses mais secos do ano.

Numa pesquisa sobre gastroenterites infantis realizada por Baldacci et. al (1979), em crianças internadas no Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Brasil, foram identificados rotavírus em 35,2% dos pacientes. Esta pesquisa compreendeu, além do estudo etiológico, outros aspectos, como distribuição etária, estado nutricional, tipo e grau de desidratação e duração média da diarreia. No que diz respeito à distribuição etária, os resultados obtidos mostram uma maior incidência pela faixa etária de 0 a 6 meses, com 84,6% dos casos, concordando com nosso estudo.

Em um estudo realizado por Cardoso et. al. (1989), foram analisadas 300 amostras fecais de crianças na faixa etária de até 8 anos, na cidade de Goiânia, objetivando-se determinar o percentual de rotavirus e adenovirus em processos diarreicos, frente a outros microorganismos patogênicos entéricos (bactérias ou parasitos). Rotavirus foram detectados isoladamente em 47 casos e, associando-se a outros agentes, em 21 casos. Adenovirus foram encontrados em 7 casos, sendo que em 6 ocorreram isoladamente e em 1, associaram-se a outro microrganismo.

6. CONCLUSÃO

Concluimos que os resultados positivos obtidos para VSR vão de encontro aos dados obtidos por outros autores, ou seja, obteve o maior índice de positividade nos anos estudados.

O período de incidência de VSR também foi o mesmo observado, com prevalência em épocas mais frias e úmidas.

Em relação às taxas de Influenza, observamos maior incidência do vírus A, em concordância com a literatura pesquisada.

A vacinação pode ter sido uma das causas que influenciaram a pouca frequência de identificação do vírus Influenza no período de 2017.

Observamos que em 2018 voltamos a identificar vírus Influenza, sendo o tipo A o mais frequente, mas a análise deste aumento de casos não seja ainda possível analisar.

Observamos que a prevalência do Rotavírus e Adenovírus em crianças com idade inferior a 5 anos, vai em concordância com os dados obtidos por outros autores.

7. REFERÊNCIA

THOMAZELLI, Luciano M. et al. Surveillance of eight respiratory viruses in clinical samples of pediatric patients in southeast Brazil. **Jornal de pediatria**, v. 83, n. 5, p. 422-428, 2007.

LOURENÇÃO, Luciano Garcia et al. Infecções pelo vírus sincicial respiratório em crianças. **Pulmão RJ**, v. 14, n. 1, p. 59-68, 2005.

MOURA, Fernanda Edna Araújo et al. **Estudo de infecções respiratórias agudas virais em crianças atendidas em um centro pediátrico em Salvador (BA)**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, p. 275-282, 2003.

RAKES, Gary P. et al. Rhinovirus and respiratory syncytial virus in wheezing children requiring emergency care: IgE and eosinophil analyses. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 159, n. 3, p. 785-790, 1999.

MIYAO, Cristina R. et al. Infecções virais em crianças internadas por doença aguda do trato respiratório inferior. **J Pediatr (Rio J)**, v. 75, n. 5, p. 334-44, 1999.

DONALISIO, Maria Rita et al. Tendência da mortalidade por doenças respiratórias em idosos antes e depois das campanhas de vacinação contra influenza no Estado de São Paulo-1980 a 2004. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 9, p. 32-41, 2006.

CARRARO, Emerson. **Aplicação de recursos laboratoriais no diagnóstico de infecções respiratórias de etiologia viral**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo, 2007.

MOREIRA, Luciana Peniche. **Comparação de testes laboratoriais para detecção de Vírus Respiratório Sincicial Humano (VRS) em amostras clínicas de crianças ambulatoriais e adultos transplantados de medula óssea com suspeita de infecção respiratória aguda atendidos no Hospital São Paulo**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo, 2011.

Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Morbidity and Mortality Weekly Report* 50 (RR-4): 1-44, 2001.

FORLEO-NETO, Eduardo et al. Influenza. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 267-274, 2003.

FRANCISCO, Priscila Maria Stolses Bergamo et al. Impacto da vacinação contra influenza na mortalidade por doenças respiratórias em idosos. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, p. 75-81, 2005.

CARMO, Eduardo Hage et al. O desafio da influenza: epidemiologia e organização da vigilância no Brasil. 2004.

D'ELIA, Cláudio et al. Infecções do trato respiratório inferior pelo vírus sincicial respiratório em crianças hospitalizadas menores de um ano de idade. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 38, n. 1, p. 7-10, 2005.

CHAVES, Sandra S. et al. The burden of influenza hospitalizations in infants from 2003 to 2012, United States. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 33, n. 9, p. 912-919, 2014.

BALDACCI, Evandro Roberto et al. Etiologia viral e bacteriana de casos de gastroenterite infantil: uma caracterização clínica. **Revista de Saúde Pública**, v. 13, p. 47-53, 1979.

FAÇANHA, Mônica Cardoso. Impacto da vacinação de maiores de 60 anos para influenza sobre as internações e óbitos por doenças respiratórias e circulatórias em Fortaleza-CE-Brasil. **J Bras Pneumol**, v. 31, n. 5, p. 415-20, 2005.

CARDOSO, Divina das Dores P. et al. Ocorrência de rotavirus e adenovirus em amostras fecais de crianças com gastroenterite, na cidade de Goiânia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 22, n. 2, p. 67-71, 1989.