



Anuncie na **RBM ESPECIAL DEZEMBRO/12**
 Portal Moreira Jr:
 200.000 visitantes/mês
 comunidade médica!



Ganhe 37 dias de banner
 do produto veiculado!



11 de Dezembro de 2012

Imprimir

- » Busca Avançada
- » Revistas
- » Livros
- » Expediente
- » Conheça a Editora
- » Dados das Publicações
- » Agenda
- » Cápsulas
- » Serviços
- » Links

Artigo Original

Diagnóstico laboratorial de infecções respiratórias agudas de etiologia viral: uma opção diagnóstica disponível para clínicos no Nordeste do Brasil

Fernanda Edna Araújo Moura *

Médica. Professora assistente de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará, mestre em Farmacologia, doutoranda do Curso de Patologia do Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz (FIOCRUZ-UFBA) - Salvador - BA.

Dulce Helena Ribeiro

Médica pediatra da Enfermaria de Pequenos Lactentes do Hospital Pediátrico Hosanah de Oliveira da Universidade Federal da Bahia (HPHO-UFBA) - Salvador - BA.

Leonardo Carletto Borges

Acadêmico de Medicina, bolsista de Iniciação à Pesquisa, PIBIC.

Eduardo A. Gonçalves Ramos

Médico patologista, pesquisador titular do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (FIOCRUZ) - Salvador - BA. Professor adjunto de Patologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

* Laboratório de Patologia e Doenças Virais do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz - FIOCRUZ - Salvador - BA.

Endereço para correspondência: Dra. Fernanda Edna Araújo Moura - Rua Alice 58, c-07 - Cidade dos Funcionários - Tel.: (85)279-2297 - Fax: 272-4755 - CEP 60822-610 - Fortaleza - CE - E-mail: hugom@daterranet.com.br

Unitermos: infecções respiratórias agudas virais, vírus sincicial respiratório, adenovírus, cultura celular e imunofluorescência.

Unters: viral acute respiratory infections, respiratory syncytial virus, adenovirus, cell culture, indirect immunofluorescence.

Numeração de páginas na revista impressa: **255 à 260**

INTRODUÇÃO

As infecções respiratórias agudas (IRA) são uma das maiores causas de morbidade e mortalidade infantis em todo o mundo e, de modo especial, nos países em desenvolvimento(1). Cerca de 200 agentes virais antigenicamente diferentes são considerados os agentes etiológicos de casos esporádicos ou epidêmicos de infecções respiratórias agudas, altas ou baixas, em lactentes, crianças e adultos(2).

A utilização de métodos laboratoriais, sejam eles rápidos ou convencionais, no

diagnóstico de IRA virais ocorre rotineiramente em países desenvolvidos, enquanto que em países em desenvolvimento o diagnóstico de IRA virais é baseado principalmente nos achados clínicos, ficando a utilização de tais técnicas restrita à área de pesquisa, quando ela existe. A implantação de métodos diagnósticos na rotina de um hospital gera custos e a necessidade de treinamento de pessoal e isso tem se tornado um grande obstáculo à introdução de uma rotina laboratorial para diagnóstico de IRA virais em nosso país.

Apesar do número reduzido de estudos que avaliam o custo-efetividade e o impacto clínico do diagnóstico viral(3,4,5), alguns benefícios do diagnóstico viral são sugeridos por eles:

1) coleta de informações epidemiológicas para o controle e prevenção de doenças; 2) restrição de uso de antibióticos; 3) redução do número de dias de permanência hospitalar; 4) guia para o uso da terapia antiviral.

Estudos que mostram a importância dos vírus como agentes de IRA em crianças, no Brasil, têm sido realizados principalmente nas regiões Sudeste, Sul e Norte(6,7,8,9,10,11), pouco conhecendo-se sobre o mesmo assunto no Nordeste brasileiro(12,13,14,15,16).

O objetivo deste estudo é comparar a sensibilidade e a especificidade de duas técnicas utilizadas no diagnóstico de infecções respiratórias agudas causadas pelo vírus sincicial respiratório e adenovírus, em crianças até cinco anos de idade atendidas no Hospital Pediátrico Hosannah de Oliveira, da Universidade Federal da Bahia (HPOH-UFBA), durante o período de um ano. Os métodos diagnósticos empregados foram: o isolamento viral em cultura de células, um método diagnóstico convencional, considerado como padrão-ouro e a imunofluorescência indireta, um método rápido de diagnóstico. A seleção do adenovírus e do VSR entre um grande número de vírus se baseia na importância desses agentes como causadores de grande número de infecções respiratórias em crianças. O VSR é o principal agente etiológico de pneumonias e bronquiolites em crianças com idade inferior a dois anos e o adenovírus é citado como o segundo vírus mais prevalente em infecções respiratórias agudas graves em vários estudos(6,17,18).

Considerando-se que a maioria das IRA virais, mesmo aquelas que geram a necessidade de hospitalização, em nossa região, são diagnosticadas basicamente a partir de dados clínicos, propusemo-nos comparar os resultados obtidos pela utilização das duas técnicas, oferecendo, dessa maneira, aos clínicos a opção do diagnóstico etiológico laboratorial rápido e seguro dessas infecções.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras

Foram coletadas 482 amostras de secreção nasofaríngea (SNF) de crianças de 0 a 5 anos, atendidas nos serviços de emergência e enfermaria do HPOH-UFBA, apresentando aspectos clínicos sugestivos de infecção respiratória aguda, alta ou baixa. Aproximadamente 2 ml de secreção nasofaríngea eram coletados por sucção, através de sonda uretral no 6 ou 8, segundo Gardner & McQuillin(19). Após a coleta, a amostra era imediatamente colocada em geladeira (4°C), permanecendo sob esta temperatura até ser transportada, em banho de gelo,

para o laboratório, o que era feito em no máximo três horas. As amostras eram coletadas até o sétimo dia do início dos sintomas.

Processamento das amostras

Cada amostra coletada era dividida em duas alíquotas. Uma era tratada com meio de transporte de vírus (VTM), ao qual era adicionado o antibiótico penicilina. A outra era homogeneizada com solução salina tamponada com fosfato (PBS), para facilitar a diluição do muco e liberar as células presentes nessas secreções. Lâminas com vários spots celulares, destinadas à imunofluorescência, eram preparadas de acordo com Nascimento e cols., 1991 (6).

Técnica de imunofluorescência indireta (IFI)

A coloração e identificação de vírus sincicial respiratório e adenovírus (além de Influenza A e B e Parainfluenza 1, 2 e 3) eram feitas de acordo com procedimentos padrões do fabricante do kit utilizado (Chemicon), para a técnica de imunofluorescência indireta. As lâminas eram, então, montadas e examinadas em microscópio de epifluorescência da marca Zeiss. O resultado era expresso como positivo caso se identificasse a presença de fluorescência característica no citoplasma ou núcleo das células da mucosa do aparelho respiratório.

Isolamento viral em cultura de células

Realizado de acordo com método descrito por Wash & Hall(20). As culturas inoculadas eram examinadas durante 21 dias, em dias alternados, para a detecção do efeito citopático (ECP) ou da queda da monocamada celular. Quando o ECP se tornava evidente, as células da monocamada eram raspadas, centrifugadas a 1.000 rpm por cinco minutos e processadas para realização de IFI específica para o vírus sincicial respiratório ou adenovírus.

RESULTADOS

Foram coletadas 482 amostras de SNF, sendo 360 de pacientes atendidos na emergência e 122 de pacientes internados. Desse total de amostras examinadas, 154 apresentaram algum dos sete vírus citados na seção de materiais e métodos, sendo que em 84 foram detectados antígenos do VSR e em 11, antígenos do adenovírus. A prevalência do VSR e do adenovírus entre a população estudada foi de 17,4 % e 2,3%, respectivamente. O VSR e o adenovírus representaram 54,5% e 7,1% das amostras positivas, respectivamente. Dados sobre número, procedência das amostras, resultados das duas técnicas diagnósticas empregadas para o vírus sincicial respiratório e adenovírus são vistos nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Houve contaminação de 126 entre todas as amostras inoculadas em Hep-2 (26,1%).O acompanhamento das amostras foi impedido pelo descolamento rápido da monocamada, após a inoculação das amostras, em 56 casos (11,6%).

Resultados sobre a comparação da IFI e CC para diagnóstico das infecções por adenovírus podem ser vistos na Tabela 3. O isolamento de adenovírus a partir da SNF inoculada em cultura de células ocorreu em 11 amostras diferentes. Em três amostras o adenovírus foi isolado sem que houvesse sido detectado pela IFI. Adenovírus foram detectados por IFI em oito amostras.

A IFI da SNF foi positiva para o VSR em 81 amostras. Trinta VSR foram isolados em CC; desses, três não tinham sido detectados por IFI. Dados sobre a comparação entre IFI e CC para o diagnóstico das infecções pelo vírus sincicial respiratório são vistos na Tabela 4.

TABELA 1
Diagnóstico de infecções respiratórias agudas pelo vírus sincicial respiratório, através do isolamento em cultura de células ou imunofluorescência indireta, no período de janeiro a dezembro de 1998

Local de coleta	Nº de amostras	VSR (IFI +) CC contaminada	Amostras positivas		CC/ IFI %
			CC	IFI	
Emergência	360	08	15 (50%)	52 (64,2%)	28,8
Enfermaria	122	17	15 (50%)	29 (35,8%)	51,7
Total	482	25	30	81	

CC= cultura celular; IFI= Imunofluorescência; + = positiva; - = negativa.

TABELA 2
Diagnóstico de infecções respiratórias agudas causadas pelo adenovírus, através do isolamento em cultura de células ou imunofluorescência indireta, no período de janeiro a dezembro de 1998

Local de atendimento	Nº de amostras	Amostras positivas		IFI/CC %
		CC	IFI	
Emergência	360	08 (72,7%)	07 (87,5%)	87,5%
Enfermaria	122	02 (27,3%)	01 (12,5%)	50%
Total	482	11	08	

CC= cultura celular; IFI = imunofluorescência indireta.

TABELA 3
Correlação entre imunofluorescência indireta (IFI) e isolamento viral em cultura celular (CC) no diagnóstico de infecções causadas pelo adenovírus

IFI	CC		Total
	Positiva	Negativa	
Positiva	08	00	08
Negativa	03	471	474
Total	11	471	482

Sensibilidade da IFI, 73%, especificidade 100%.
Sensibilidade da CC, 100%, especificidade 100%.

TABELA 4
Comparação entre resultados das técnicas de isolamento viral em cultura celular (CC) e imunofluorescência indireta (IFI) no diagnóstico de infecções causadas por vírus sincicial respiratório

IFI	CC		Total
	Positiva	Negativa	
Positiva	27	54	81
Negativa	03	398	401
Total	30	452	482

Sensibilidade da IFI 90%, especificidade 88%.
Sensibilidade da CC 38%, especificidade 94%.

DISCUSSÃO

Apenas na década de 90 surgiram os resultados dos primeiros estudos sobre infecções respiratórias agudas virais no Nordeste do Brasil, quando da publicação de um estudo sobre IRA virais em crianças atendidas em nível ambulatorial em Fortaleza(12). Posteriormente, interesses conjuntos de pesquisadores do Laboratório de Patologia e Doenças Virais do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, da FIOCRUZ de Salvador - Bahia, e pediatras do HPHO-UFBA e do Hospital Aliança permitiram que infecções respiratórias virais fossem diagnosticadas em crianças na cidade de Salvador(13,14,15,16). Para isso foi necessário o treinamento de pessoal em técnicas como isolamento viral em cultura de células e imunofluorescência, no Laboratório de Vírus Respiratórios da FIOCRUZ do Rio de Janeiro. Dando continuidade a estudos iniciados em 1993, em Salvador, o presente estudo foi desenvolvido numa população de 482 crianças com IRA, atendidas na emergência e na enfermaria do HPHO-UFBA, durante o ano de 1998.

A utilização da técnica de imunofluorescência, em nosso estudo, baseou-se no impacto clínico e epidemiológico resultante de seu emprego, além do fato da mesma ser uma das técnicas recomendadas pela Organização Mundial da Saúde, especialmente quando se refere a países em desenvolvimento(21). A sensibilidade, especificidade e rapidez da execução da IFI faz com que a mesma seja de grande importância para os clínicos que a utilizam como método auxiliar no tratamento individual de pacientes, tornando a terapia mais racional e econômica, reduzindo a permanência hospitalar e o uso de antibióticos, além de poder ser usada no controle de infecções cruzadas hospitalares(21,22). Além disso, a IFI permite ao pesquisador analisar a qualidade da amostra através da microscopia. O processamento da amostra, a execução da técnica de IFI e sua leitura podem ser feitos dentro de quatro horas após coletada a amostra. Outra vantagem da IFI, feita a partir do aspirado de nasofaringe, é que, mantendo o espécime acondicionado sob refrigeração (4°C), os antígenos virais nele existentes podem ser detectados até 48 horas após a coleta.

De acordo com os nossos resultados, a IFI se mostrou muito sensível no diagnóstico de infecções causadas pelo VSR, pois de um número total de 84 casos encontrados, 81 foram positivos por essa técnica. No que se refere ao VSR, a sensibilidade da IFI, em nosso estudo, foi de 90%, enquanto a especificidade foi de 88%, índices que se mostram semelhantes aos citados em vários estudos, onde as taxas de sensibilidade e especificidade da IFI em relação ao VSR variam entre 80% e 90%(22,23,24,25). A sensibilidade da técnica de IFI com relação à pesquisa de adenovírus tem se mostrado inferior àquela encontrada para o VSR, variando entre 28% e 75%, segundo vários estudos(26,27,28,29). Nossos resultados mostram uma sensibilidade de 73% para IFI, quando o agente pesquisado era o adenovírus.

Vale a pena lembrar que outros 59 casos de IRA, causadas por outros vírus, foram também diagnosticados por esse método. A utilização de um kit comercial, que permitia detectar os vírus mais comumente envolvidos em casos de infecções de trato respiratório inferior em crianças, foi de grande utilidade para os pediatras, que puderam também contar, no desenvolvimento da pesquisa, com resultados positivos para Influenza A (27 casos), Influenza B (6

casos), Parainfluenza 3 (25 casos) e Parainfluenza 1 (1 caso).

O isolamento viral em cultura de células foi utilizado pelo fato de ser considerado o método mais sensível para o diagnóstico do VSR, adenovírus e outros vírus respiratórios, em laboratórios com grande experiência. Outra vantagem do isolamento viral em CC é a de viabilizar a realização de estudos posteriores, a partir de um maior número de vírus, replicados nas células empregadas, quando comparado ao número original na amostra clínica. Células HEp-2 foram empregadas em nosso estudo, devido à disponibilidade das mesmas em nosso laboratório e ao fato de se mostrarem sensíveis à replicação dos dois vírus pesquisados. Podemos citar, como desvantagens da técnica de CC, o tempo utilizado para sua realização, custos elevados de materiais e a necessidade de treinamento de pessoal para sua execução. O aparecimento do efeito citopático (ECP) de VSR pode ser visto dentro de três a cinco dias após a inoculação da amostra em células HEp-2 e no caso dos adenovírus pode ser mais demorado. Uma cultura celular para isolamento viral deve ser acompanhada por até 21 dias, para que se possa liberar o resultado como negativo por essa técnica. Algumas vezes, as culturas celulares que estão sendo acompanhadas, mas que não apresentam nenhum ECP dentro dos primeiros sete dias, têm as células raspadas para serem novamente inoculadas, em novos tubos, com o mesmo tipo de célula, com objetivo de aumentar a possibilidade de isolamento viral.

No nosso estudo, adenovírus e VSR foram isolados a partir de 11 e 30 amostras, respectivamente. Três adenovírus e três VSR foram isolados em CC, sem que tivessem sido demonstrados pela IFI. A observação do ECP para ambos os vírus, no presente estudo, ocorreu em mais de 70% dos casos entre o terceiro e o sexto dia após a inoculação. Há relato na literatura de que o antígeno viral pode ser detectado no citoplasma da célula dentro de dez horas após a inoculação(30). A concordância de resultados entre o isolamento viral convencional e a IFI, na detecção de VSR em SNF, pode atingir valores superiores a 90%; contudo, no presente trabalho isso ocorreu em apenas 33,3% dos casos. Entre vários fatores que podem ter influenciado esse baixo percentual, podemos citar a diferença na sensibilidade das células HEp-2 empregadas, o desenvolvimento da neutralização dos vírus por anticorpos do paciente, a deterioração do antígeno ou, ainda, a elevada contaminação das amostras, que pode ter impedido o isolamento viral nas mesmas. Nesse trabalho, as amostras inoculadas em HEp-2, que durante os 21 dias de observação não demonstraram ECP, foram consideradas negativas. O antígeno viral do VSR, entretanto, pode ser detectado em culturas celulares em que não houve o desenvolvimento de ECP e também em culturas contaminadas por bactérias(25), sendo então aconselhável a raspagem de culturas consideradas negativas para realização de IFI, o que não foi feito em nosso material.

O VSR é extremamente lábil e requer manejo especial. Sabe-se que a perda de sua infectividade ocorre após uma hora a 37°C e após o congelamento seguido de descongelamento(31). Portanto, a própria sensibilidade do VSR a variações de temperatura pode colaborar para uma dificuldade maior no isolamento desse vírus. No presente estudo, nem todas as amostras eram inoculadas em células HEp-2 no mesmo dia em que eram coletadas. Muitas foram congeladas no freezer a -70°C por alguns dias, antes de serem submetidas à cultura celular, pois nem sempre contávamos com tubos de células HEp-2 prontos para serem inoculados. Isso pode ter contribuído para um menor isolamento do VSR, cuja labilidade a variações de temperatura é bem

maior do que a do adenovírus.

Outro fator importante nesse resultado foi o fato de utilizarmos apenas um tipo de célula para o isolamento do VSR, enquanto em outros estudos é empregado um número maior de tipos celulares, com a finalidade de se obter maior isolamento viral(32,33). O setor de atendimento, onde foi coletada a amostra, pode ter interferido na taxa de isolamento viral, uma vez que pacientes levados à sala de emergência se encontram, geralmente, numa fase mais inicial do processo infeccioso, enquanto aqueles que necessitam de hospitalização têm um maior período de evolução de sua infecção, até serem internados. As amostras coletadas de pacientes atendidos na emergência são mais representativas da fase inicial da infecção, enquanto aquelas coletadas de pacientes hospitalizados representam melhor os quadros infecciosos mais graves e com maior tempo de evolução.

A coleta de amostras realizada numa fase mais tardia está sujeita a maior risco de contaminação por bactérias ou fungos. Pacientes hospitalizados geralmente apresentam um quadro clínico mais grave, são submetidos mais freqüentemente ao uso de antibióticos e isso pode ser outro fator que influi na contaminação das amostras. A maioria das amostras de adenovírus e VSR do nosso estudo foi procedente de pacientes atendidos na emergência (09/11 e 54/84, respectivamente). Vinte e cinco amostras positivas para VSR pela IFI, mas negativas na cultura celular, apresentaram problemas de contaminação. Dessas 25 amostras, 17 foram coletadas de pacientes internados e 8 de pacientes atendidos na emergência. Nenhuma das amostras positivas para adenovírus pela IFI, submetida à CC, apresentou contaminação. Diferentemente do VSR, os adenovírus se mostram relativamente estáveis a variações de temperatura. O transporte de amostras de adenovírus em gelo (4°C) ou seu congelamento é indicado visando maior sensibilidade, mas esses vírus podem ser isolados de amostras transportadas à temperatura ambiente (34). Essa característica de estabilidade dos adenovírus tem implicações muito fortes no seu isolamento em cultura de células. Em nosso estudo, sob as mesmas condições de coleta, transporte, estocagem e cultivo empregadas para amostras contendo o VSR, obtivemos uma taxa de isolamento de adenovírus semelhante ou superior à relatada em outros estudos(35,36,37). Em diferentes estudos, comparando a sensibilidade da CC convencional com a da imunofluorescência, a CC se mostra sempre uma técnica mais sensível que a imunofluorescência, no que diz respeito ao adenovírus(28,35,36,37). Resultado semelhante foi observado em nosso estudo, onde se conseguiu isolar adenovírus de três amostras de SNF cujos antígenos não foram demonstrados pela IFI.

Os resultados obtidos neste estudo nos levam a concluir que o isolamento viral em cultura de células Hep-2 mostrou ser um teste mais sensível que a IFI, no que se refere ao adenovírus e muito pouco sensível quando o vírus em questão era o VSR. Por tratar-se de técnica recentemente implantada, nossos resultados se mostram animadores, haja vista que resultados semelhantes são relatados em estudos que empregam a mesma técnica, realizados em outros laboratórios do Brasil, com maior experiência. A IFI se mostrou uma técnica muito útil e bastante sensível para detecção de VSR. A grande vantagem que a IFI mostrou, em relação à CC, foi a rapidez de sua execução e interpretação, permitindo que os resultados chegassem ao pediatra em, no máximo, 12 a 24 horas, facilitando assim que condutas terapêuticas adequadas fossem instituídas em menos tempo. A cultura, apesar de todos os empecilhos de ordem técnica, mostrou-se

ainda, pelo menos no nosso meio, a técnica mais sensível para o diagnóstico das infecções por adenovírus, ao mesmo tempo em que figura como importante técnica diagnóstica, ao detectar VSR e adenovírus em amostras negativas pela IFI, além de tornar possível que amostras isoladas e estocadas adequadamente possam ser analisadas no futuro.

Em decorrência dos objetivos do presente trabalho, não foi possível analisar o impacto do diagnóstico virológico na escolha da melhor conduta terapêutica. Isso será feito, oportunamente, em estudo retrospectivo desse mesmo material.

Como fruto dos trabalhos pioneiros do Laboratório de Patologia e Doenças Virais da FIOCRUZ (BA) e de pediatras do HPHO-UFBA, outros grupos de pesquisa em vírus respiratórios estão em plena atividade na Universidade Federal do Ceará e Universidade Federal de Alagoas. O interesse conjunto de pesquisadores, instituições científicas e de ensino, pediatras e médicos em geral, desses e outros Estados nordestinos, poderá resultar em benefícios que serão sentidos, principalmente, entre a população infantil, onde atuam impiedosamente as altas taxas de morbidade e mortalidade decorrentes de infecções respiratórias agudas.

Bibliografia

1. Berman S. Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. *Rev Infect Dis* 13: S454, 1991.
2. Hemming VG. Viral respiratory diseases in children: classification, etiology, epidemiology and risk factors. *J Pediatr* 124: S13-S6, 1994.
3. Schlesinger, Y., Sawyer MH & Sotrch GA. Enteroviral meningitis in infancy: potential role for polymerase chain reaction in patient management. *Pediatrics* 94:157-162,1994.
4. Adcock PM, Stout GG, Hauck MA, Marshall GS. Effect of rapid viral diagnosis on the management of children hospitalized with lower respiratory tract infection. *Pediatr Infect Dis J* 16: 842-6, 1997.
5. Woo PCY, Chiu SS, Seto WH, Peiris M. Cost-effectiveness of rapid diagnosis of viral respiratory tract infections in Pediatric patients. *J Clin Microbiol* 35(6): 1579-1581,1997.
6. Nascimento JP, Suttmoller F, Chaves JRS et al. Longitudinal study of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro: occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 33(4): 287-296, 1991.
7. Suttmoller F, Ferro ZPA, Asensi MD et al. Etiology of acute respiratory tract infections among children in a combined community and hospital study in Rio de Janeiro. *Clin Infect Dis* 20: 854-60, 1995.
8. Cintra OAL. Ocorrência e gravidade do vírus sincicial respiratório, grupos A e B, em crianças de 0 a 24 meses de idade atendidas em Pronto-Socorro de Pediatria na cidade de Ribeirão Preto - São Paulo. Ribeirão Preto, 1997. 110p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
9. Straliootto SS. Prevalência de vírus respiratórios em pacientes pediátricos. Porto Alegre, 1995. 105p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ciências Médicas e Irmandade da Santa Casa de Misericórdia.
10. Mello WA, Oliveira CS. Clinical and epidemiological aspects of viral respiratory diseases in Belém, Brazil. VI Encontro Nacional de Virologia. Livro de Resumos, pags. 121-122,1997.

11. Mello WA, Alves Jr JER, Carneiro FEV et al. Viral respiratory infections in children of Boa Vista, Roraima, Brazil. *Virologica* 99 - X Encontro Nacional de Virologia e II Encontro de Virologia do Mercosul. Livro de Resumos, pg 131, painel H-264,1999.
12. Arruda EN, Hayden FG, McAuliffe et al. Acute respiratory viral infections in ambulatory children of urban Northeast Brazil. *J Infect Dis* 164:252-8,1991.
13. Ramos EAG, Souza LSF, Ribeiro DHR et al. Acute respiratory infection associated with respiratory syncytial virus (RSV) in children from Salvador - Bahia. VIII Encontro Nacional de Virologia. Livro de Resumos, painel H-43,1996.
14. Moura FEA, Borges LC, Siqueira MM & Ramos EAG. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in children in Salvador. *Virologica* 99 - X Encontro Nacional de Virologia, Virus Reviews and Research, Vol. Supp. 144, painel H-307,1999a.
15. Souza LSF. Infecções respiratórias virais em crianças de uma creche. Salvador, 1999. 111p. Dissertação (Doutorado). Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia.
16. La Via WW et al. Clinical profile of Pediatric patients hospitalized with respiratory syncytial virus infection. *Clin Pediatr (Phila)* 32: 450-4,1993.
17. Savy V, Baumeister E, Bori F, Shiroma M, Campos A. Evaluación etiológica y clínica de infecciones respiratorias agudas bajas en una población infantil. *Medicina (Buenos Aires)* 56:213-217,1996.
18. Gardner PS, McQuillin J. Rapid virus diagnosis. Application of Immunofluorescence. 2nd. ed. London, Butterworth, 1980.
19. Walsh EE & Hall CB. Respiratory syncytial virus. In: *Diagnosis Procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections*. Schimidt NJ & Emmons RW eds. 6th edition. American Public Association, Washington DC, USA, pp 693-712,1989.
20. Orstavik I, Grandien M, Halonen P et al. Viral diagnosis using the rapid immunofluorescence technique and epidemiological implications of acute respiratory infections among children in different European countries. *Bull of the World Health Organization* 62(2):307-313,1984.
21. Carlsen KH & Orstavik I. Respiratory syncytial virus infections in Oslo, 1972-1978. II. Clinical and laboratorial studies. *Acta Paediatrica Scandinavica* 69:723-729,1980.
22. Johnston SLG, Siegel CS. Evaluation of direct immunofluorescence, enzyme immunoassay, centrifugation culture, and conventional culture for the detection of respiratory syncytial virus. *J Clin Microbiol* 28: 2394-2397, 1990.
23. Dominguez EA, Talber LH, Couch RB. Comparison of rapid diagnostic techniques for respiratory syncytial and influenza A virus respiratory infections in young children. *J Clin Microbiol* 31: 2286,1993.
24. Siqueira MM; Ferreira V & Nascimento JP. RS Virus Diagnosis: Comparison of isolation, immunofluorescence and enzyme immunoassay. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 81(2): 225-232, 1986.
25. Trabelsi A, Pozzetto B, Mbida AD. Evaluation of four methods for rapid detection of adenoviruses. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 11: 535, 1992.
26. Ray CG, Minnich LL. Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 25: 355, 1987.
27. Lehtomäki K, Julkunen I, Sandelin K et al: Rapid diagnosis of respiratory adenovirus infections in young adult men. *J Clin Microbiol* 24: 108, 1986.
28. World Health Organization. Use of monoclonal antibodies for rapid diagnosis of respiratory viruses: memorandum from WHO meeting. *Bulletin of the World Health Organization* 70 (6): 699-703,1992.
29. Kisch AL, Johnson KM, Chanock RM. Immunofluorescence with respiratory syncytial virus. *Virology* 16: 177, 1962.
30. Hall CB, McCarthy CA. Respiratory syncytial virus p. 1501. In: Mandell GL,

Bennett, JE, Dollin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th Ed. Churchill Livingstone, New York, 1995.

31. Halstead DC, Todd S; Fritch G. Evaluation of five methods for respiratory syncytial virus detection. J Clin Microbiol 28(5): 1021-1025,1990.

32. Navarro-Marí JM, Sanbonmatsu-Gámez S, Pérez-Ruiz M, De La Rosa-Fraile M. Rapid detection of respiratory viruses by shell vial assay using simultaneous culture of HEp-2, LLC-MK2 and MDCK cells in a single vial. J Clinical Microbiol 37 (7): 2346-2347, 1999.

33. Hierholtzer JC: Adenoviruses, p. 947. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA et al (eds): Manual of Clinical Microbiology. 6th Ed., ASM Press, Washington DC, 1995.

34. Kok T, Mickan LD & Burrell CJ. Routine diagnosis of seven respiratory viruses and Mycoplasma pneumoniae by enzyme immunoassay. J Virol Methods 50:87,1984.

35. Rabalais GP, Stout GG, Ladd KL, Cost KM. Rapid diagnosis of respiratory viral infections by using a shell vial assay and monoclonal antibody pool. J Clin Microbiol 30: 505,1992.

36. Takimoto S et al. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, indirect immunofluorescence assay, and virus isolation for detection of respiratory viruses in nasopharyngeal secretions. J. Clin Microbiol 29: 470,1991.

[Imprimir](#)

