

## DETECÇÃO RÁPIDA DO VÍRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL EM CRIANÇAS DA AMAZÔNIA PELO ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO.

Rina Maria Aquino da Silva<sup>(1)</sup>, Cristovão A. da Costa<sup>(2)</sup>, Klaus E. Stewien<sup>(3)</sup>  
Bolsista CNPq/INPA<sup>(1)</sup>. Pesquisador INPA/CPCS<sup>(2)</sup>. Pesquisador Visitante INPA/CNPq<sup>(3)</sup>

As infecções respiratórias agudas são frequentemente causadas por vírus, podendo causar desde quadros benignos, como um resfriado comum, até quadros mais graves como pneumonia e bronquiolite. O *Vírus Respiratório Sincicial* (VRS) é considerado o principal agente de infecções do trato respiratório inferior em lactentes (Miyao *et al.*, 1999) e quadros graves são observados principalmente em prematuros, idosos e portadores de doenças crônicas (Hall *et al.*, 1990). O agente também é conhecido como a principal causa de infecção nosocomial viral em pacientes pediátricos (Goldman, 1989).

A letalidade ocasionada pelas infecções respiratórias agudas é de cerca de 4 milhões/ano em todo o mundo e é mais elevada nos países em desenvolvimento (Sullender, 2000). A infecção pelo VRS apresenta um comportamento de natureza epidêmica, cuja sazonalidade varia com as condições climáticas locais: nas regiões de clima temperado o pico de incidência ocorre durante o inverno, nas de clima tropical, durante o período de estação das chuvas (Weber *et al.*, 1998).

O VRS é um *Pneumovirus*, cujo genoma consiste de uma cadeia simples de RNA, e partícula viral com diâmetro entre 150 e 300 nm, possuindo duas glicoproteínas importantes: a proteína G, responsável pela união do vírus à célula do hospedeiro e a F, pela fusão das membranas celulares, promovendo a penetração do vírus na célula e a formação de sincício (células gigantes multinucleadas). A principal via de transmissão do VRS é a inoculação na mucosa nasal ou conjuntival pelas mãos contaminadas com secreções das vias aéreas superiores, e seu período de incubação gira em torno de 2 a 8 dias. São conhecidos dois grupos antigenicamente distintos de vírus respiratório sincicial, A e B, contendo cada qual múltiplos genótipos e variantes. O diagnóstico do VRS pode ser feito por diversas técnicas, como a imunofluorescência indireta (IFI), o isolamento em cultura de células, o ensaio imunoenzimático (EIE), a imunoperoxidase (IPE), e a reação de hibridação e de polimerização em cadeia (PCR). O ensaio imunoenzimático (EIE) se baseia em uma reação enzimática, utilizando anticorpos ou antígenos marcados, para revelar a interação antígeno-anticorpo específico que ocorre com espécimes positivos. O presente estudo visa avaliar o

EIE na detecção rápida das estirpes do *Vírus Respiratório Sincicial*, encontradas na região subtropical do Brasil, comparando-a com a técnica da imunofluorescência indireta (IFI).

Foram selecionadas crianças com idade < 5 anos, com infecção aguda das vias respiratórias inferiores, internadas no Pronto Socorro da Criança de Manaus. As amostras foram obtidas selecionando-se 2 crianças internadas a cada dia, em um total de 8 a 10 espécimes semanais, com início da coleta no mês de Maio de 1999 e término em Outubro de 2000. Foram colhidas 323 amostras, mediante swab e um equipamento de soro adaptado, conectado a uma sonda de aspiração. As amostras eram colhidas em frascos coletores, acondicionadas e transportadas ao Laboratório de Virologia (CPCS- INPA), onde foram examinadas pelo Ensaio Imunoenzimático do tipo direto, não competitivo (Testpack RSV, Abbott® Laboratories, Inc., USA) e pela técnica da imunofluorescência indireta (IFI), que utiliza anticorpos monoclonais.

Na análise dos resultados obtidos, em um total de 252 crianças, 160 eram do sexo masculino e 95 do sexo feminino. A incidência segundo a faixa etária foi a seguinte: 4 recém-nascidos, 59 crianças entre 1-5 meses, 75 entre 6-11 meses e 117 entre 1-4 anos de idade. Por ocasião da sua internação, os pacientes examinados apresentaram as seguintes patologias: 223 crianças apresentaram pneumonia ou broncopneumonia, 12 bronquiolite, 8 pneumonia e bronquiolite, 7 bronquite, 2 laringotraqueobronquite (crupe) e 3 pneumopatia.

Foram detectados agentes virais em um total de 55 pacientes (21,6%), dos quais 4 apresentaram dois vírus patogênicos (1,6%). O VRS foi identificado em 40 (15,7%) das crianças examinadas, seguido por adenovírus em 8 (3,1%), vírus parainfluenza 3 em 5 (2,0%), vírus influenza A ou B em 4 (1,6%) e vírus parainfluenza 1 em 2 (0,8%) dos pacientes. A ocorrência das infecções causadas pelo VRS durante os 3 primeiros anos de vida revela que as faixas etárias mais atingidas foram as de 0-5 meses e de 6-11 meses, com índices semelhantes de 40% (16/40) e de 37,5% (15/40), respectivamente (Figura 1). Houve significativamente mais meninos infectados pelo VRS do que o correspondente número de meninas (65% x 35%) (Qui<sup>2</sup> com p<0,01), sendo a razão entre os sexos de 1,9:1.

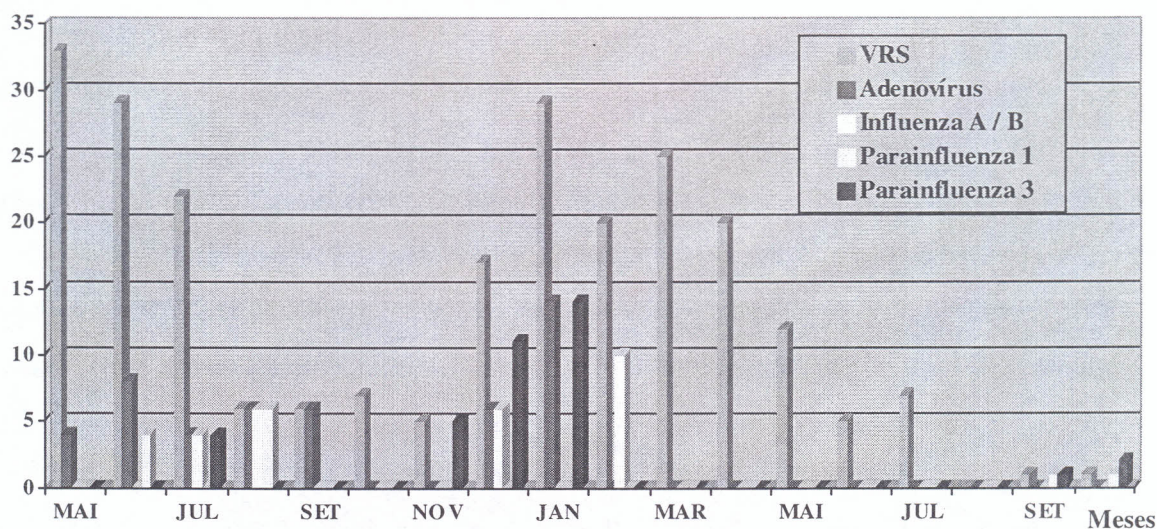
A distribuição mensal das infecções causadas por vírus respiratórios mostra a ocorrência de 2 surtos epidêmicos do VRS durante o período, acontecendo o 1° surto por ocasião do início do estudo (Maio a Julho de 1999) e o 2° surto, de Dezembro de 1999 a Maio de 2000 (Figura 2). Ambas as epidemias estiveram associadas a um substancial aumento do número de internações hospitalares e transcorreram durante a estação das chuvas (Dezembro a Junho).

**Figura 1:** Identificações virais em crianças hospitalizadas com infecção do trato respiratório inferior, por grupo etário

	Número (%) das identificações por grupo etário			
	0-5 meses	6-11 meses	1-4 anos	Total
<b>Resultados</b>				
Crianças examinadas	63 (100.0)	75 (100.0)	117 (100.0)	255 (100.0)
Crianças positivas	16 (25.4)	20 (26.7)	29 (24.8)	55 (21.6)
<b>Agentes virais</b>				
VRS	16 (25.4)	15 (20.0)	9 (7.7)	40 (15.7)
Adenovírus	1 (1.6)	2 (2.7)	5 (4.3)	8 (3.1)
Influenza A/B	0	2 (2.7)	2 (1.7)	4 (1.6)
Parainfluenza 1	0	0	2 (1.7)	2 (0.8)
Parainfluenza 3	0	2 (2.7)	3 (2.6)	5 (2.0)
Total	17	21	31	59

**Figura 2:** Distribuição mensal das infecções causadas por vírus respiratórios em 124 crianças internadas (< 5 anos de idade) com doença da vias aéreas inferiores. Pronto Socorro da Criança, Manaus – AM, 1999 a 2000

Frequência (%)



O presente estudo prospectivo é o primeiro realizado no Estado do Amazonas sobre a incidência e a distribuição etária e sazonal das infecções causadas pelos vírus respiratórios humanos. Seus resultados foram comparados com os obtidos na cidade de São Paulo, durante o mesmo período, para identificar diferenças importantes quanto à epidemiologia destas viroses nas duas regiões geográficas estudadas. O VRS predominou amplamente sobre os demais vírus respiratórios em crianças hospitalizadas em Manaus, menores de 5 anos de idade, apresentando infecção respiratória aguda (IRA). Entretanto, os picos epidêmicos observados em Manaus (29% e 33%) têm sido menos elevados do que os encontrados em São

Paulo para os anos de 1999 e 2000 (72% e 76%). Na região subtropical, os surtos ocorrem durante as estações mais frias do ano (Abril a Agosto), enquanto na região tropical eles foram observados durante a estação das chuvas (Dezembro a Junho). Casos de infecção pelo VRS foram observados durante o ano todo na região amazônica, formando um patamar de 5% a 7% nos meses inter-epidêmicos, o que não acontece na região subtropical.

Os maiores índices de infecção foram registrados durante o 1º ano vida, o que coincide com os resultados encontrados na cidade de São Paulo (Miyao *et al*, 1999). Contudo, o índice aí observado para pacientes da faixa etária de 0-5 meses supera o índice correspondente verificado em Manaus (65% versus 40%). Verificou-se também que a idade mediana dos pacientes com infecção pelo VRS foi mais elevada na região tropical do que na região subtropical, durante o período estudado (7 meses contra 2 meses).

O conhecimento de parâmetros epidemiológicos, como o início, o pico e a duração dos surtos, oferece importante contribuição à classe médica, que assim poderá avaliar o risco que o VRS oferece à comunidade e a sua transmissão durante os surtos epidêmicos.

Goldmann, D. A. 1989. Nosocomial viral infections: recent developments and new strategies. *European Journal Clinical Microbiology Infection Disease*. 8: 75-81.

Hall, C. B. *et al* 1990. Respiratory syncycial virus. In G.L. Mandell, R.G. Douglas, e J.E. Bennett (ed.), *Principles and practice of infections disease*, 3ª ed., Churchill Living-Stone, Nova York, p. 1265-1279.

Miyao, C.R.; Vieira, S.; Hein, N.; Pahl, C.M.M.; Betta, L.S.; Durigon, L.E.; Stewien, E.K.; Queiroz, O.A.D.; Botoso, F.V.; Gomes, S.C.M.; Lopes, C.B.L.C.; Ejzenberg, B.;

Okay, K. 1999. Infecções Virais em crianças internadas por doença aguda do trato respiratório inferior. *Jornal de Pediatria*, 75(5): 334-344.

Sant'anna, C.C. & D'Elia, C. 1998. Bronquiolite e Infecções respiratórias em crianças. Washington, DC, OPAS, p. 263.

Sullender, W.M. 2000. *Respiratory Syncycial Virus Genetic and Antigenic Diversity*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(1): 1-15.

Weber, M.W.; Mulholland, E.K.; Greenwood, B.M. 1998. Respiratory syncycial virus infection in tropical and developing countries. *Tropical Medical Internacional Health*, 3: 268-80.