

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 18/06/2025.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Tatiana de Campos Melo

**Estudo do vírus sincicial respiratório (VSR) em
pacientes pediátricos com uso de técnicas de biologia
molecular para triagem de patógenos respiratórios**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do
título de Doutora em Pesquisa e Desenvolvimento
(Biotecnologia Médica).

Orientador (a): Prof (a). Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto

Coorientador (a): Prof (a). Dra. Joelma Gonçalves Martin

Coorientador (a): Dra. Karen Ingrid Tasca

**Botucatu
2023**

Tatiana de Campos Melo

Estudo do vírus sincicial respiratório (VSR) em pacientes pediátricos com uso de técnicas de biologia molecular para triagem de patógenos respiratórios

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Pesquisa e Desenvolvimento (Biotecnologia Médica).

Orientador (a): Prof(a). Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto

Coorientador (a): Prof(a). Dra. Joelma Gonçalves Martin

Coorientador (a): Dra. Karen Ingrid Tasca

Botucatu
2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Melo, Tatiana de Campos.

Estudo do vírus sincicial respiratório (VSR) em pacientes pediátricos com uso de técnicas de biologia molecular para triagem de patógenos respiratórios / Tatiana de Campos Melo.
- Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Rejane Maria Tommasini Grotto

Coorientador: Joelma Gonçalves Martin

Coorientador: Karen Ingrid Tasca

Capes: 90400003

1. Infecções respiratórias em crianças. 2. Pediatria.
3. Vírus Sincicial Respiratório Humano.

Palavras-chave: Infecções respiratórias; Pediatria; Vírus sincicial respiratório.

Aos meus meninos, Aquiles (filho) e Guilherme (marido).
Por acreditarem em mim, me apoiarem e me amarem sempre.
Para vocês, minha família, dedico todo meu amor e minha vida.

Agradecimentos

Inicio meus agradecimentos com uma fala de Paulo Freire, “o ser humano é um ser inacabado”. E baseado nesse pensamento é que procurei me dedicar a esse trabalho de doutorado, sempre sedenta por mais conhecimento e aprendizado. E nesse caminho de aprendizado muitas pessoas boas, que muito me inspiraram e ajudaram no desenvolvimento deste trabalho, estiveram comigo.

Aqui venho com todo amor e carinho agradecer ao meu marido, que sempre foi para meus olhos, um exemplo de professor, pesquisador e pessoa. Que sempre se dedicou com muito amor e carinho às suas pesquisas e ao ensino de seus alunos, procurando sempre de forma ética e com limitados recursos, promover o desenvolvimento da ciência e atuar no ensino de seus alunos. Além disso, há anos vem sendo meu companheiro de vida, me estimulando e apoiando a enfrentar as inúmeras dificuldades que a vida nos impõe.

Agradeço ao meu querido e amado filho, Aquiles, que muito pacientemente entendeu a necessidade da mãe se ausentar de casa e que nos momentos em família, deixou as brincadeiras e os filmes de lado, para se dedicar ao desenvolvimento deste trabalho. Querido filho, você é o “meu tudo”, te amo infinitamente.

Agradeço, à minha orientadora Dra. Rejane, que aceitou me orientar, mesmo sabendo dos problemas que minha profissão traria para o desenvolvimento desta tese. Ela, muito me ensinou durante todo esse ano, com muito carinho e paciência, não ensinando apenas para o desenvolvimento do trabalho de doutorado, mas também sobre administração, burocracias e tantos outros assuntos.

Sou muito grata à minha coorientadora Dra. Joelma, que é um grande exemplo de médica pediatra e emergencista, que me acolheu de volta na Pediatria assim que retornei ao Brasil e prontamente me apoiou para realização deste trabalho de doutorado.

Muito obrigada, digo também, a minha coorientadora Dra. Karen, que me enviou inúmeros recados perguntando se precisava de alguma ajuda. É sempre muito preocupada com o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço, aos meus queridos pais, irmãos e sobrinhos que abdicaram inúmeras vezes da minha companhia por saberem e entenderem o quanto estudar e trabalhar é algo importante na minha vida.

A todos os colegas do laboratório de biologia molecular, em especial ao Luís, Gabriela e Maércio, que com muita paciência, atendiam aos meus pedidos para realização dos testes de painel viral para os pacientes pediátricos.

Aos médicos da Comissão de controle de infecção hospitalar (CCIH), Dra. Sandra e Dr. Bruno, que ajudaram e ajudam na implementação da testagem das crianças no nosso hospital.

A todos os médicos e residentes da pediatria, que ajudaram na coleta dos exames para desenvolvimento do projeto, e a todos os amigos e companheiros de trabalho, que com palavras de apoio e carinho me ajudaram a passar por mais essa etapa na vida, deixo meus agradecimentos.

E por último, o meu agradecimento aos pacientes que fizeram parte deste projeto e, a Fapesp e ao projeto “Fazer o bem” da JBS que tornaram possível a realização deste trabalho.

“Pesquisa para constatar, constatando, intervenho, intervindo educo e me educo.”
(Paulo Freire)

Resumo

O vírus sincicial respiratório (VSR) é o um vírus altamente transmissível, afetando seres humanos em todas as idades, com altas taxas em crianças até 2 anos de idade. Ele é o agente mais comum nos quadros de bronquiolite aguda, pneumonia e bronquite. Pode desencadear quadros infecciosos graves em lactentes entre 1 e 6 meses de idade. Por ser o VSR um agente prevalente nos pacientes pediátricos, o presente estudo objetivou reconhecimento da prevalência do subtipo de VSR nos quadros infecciosos, assim como, faixa etária dos pacientes acometidos, a avaliação das manifestações clínicas, laboratoriais, tempo de permanência, suporte ventilatório e uso de antibioticoterapia nos pacientes internados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, Brasil, no período de janeiro de 2023 até setembro de 2023. Pelo uso da Reação em Cadeia da Polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR) seguida de hibridização com sondas foi possível realizar a identificação e subtipagem dos VSR presentes nas amostras de secreção de nasofaríngea dos pacientes no presente estudo. De forma geral, foi possível observar que as atuais técnicas diagnósticas (teste rápido para VSR) utilizadas no serviço demonstraram grande número de resultados falso negativos. Entre as infecções causadas por VSR, o VSR-A foi o mais prevalente e afetou principalmente pacientes menores de 1 ano de idade. Os principais sintomas referidos nas infecções por ambos os tipos de VSR foram tosse e dispneia. A febre não foi um sinal clínico frequente nestas infecções. Como conclusão geral, o VSR-A é o principal agente infeccioso na pediatria responsável pelo maior número de internações hospitalares.

Palavras- chave: vírus sincicial respiratório, pediatria, infecções respiratórias

Abstract

Respiratory syncytial virus (RSV) is a highly transmissible virus, affecting humans at all ages, with high rates in children up to 2 years of age. It is the most common agent in acute bronchiolitis, pneumonia and bronchitis. It can trigger serious infections in infants between 1 and 6 months of age. As RSV is a prevalent agent in pediatric patients, the present study aimed to recognize the prevalence of the RSV subtype in infectious conditions, as well as the age range of affected patients, the evaluation of clinical and laboratory manifestations, length of stay, ventilatory support and use of antibiotic therapy in patients admitted to the Hospital das Clínicas of the Faculty of Medicine of Botucatu, Brazil, from January 2023 to September 2023. Through the use of Polymerase Chain Reaction preceded by reverse transcription (RT-PCR) followed by hybridization With probes, it was possible to identify and subtype RSV present in nasopharyngeal secretion samples from patients in the present study. In general, it was possible to observe that the current diagnostic techniques (rapid RSV test) used in the service demonstrated a large number of false negative results. Among infections caused by RSV, RSV-A was the most prevalent and mainly affected patients under 1 year of age. The main symptoms reported in infections with both types of RSV were cough and dyspnea. Fever was not a common clinical sign in these infections. As a general conclusion, RSV-A is the main infectious agent in pediatrics responsible for the largest number of hospital admissions.

Keywords: respiratory syncytial virus, pediatrics, respiratory infections

Lista de Figuras

Figura 1: Representação simplificada do RNA do VSR e a proteínas codificadas.....	16
Figura 2: Demonstra o VSR humano e suas proteínas.....	17
Figura 3: Fluxo de seleção da coorte do estudo.....	29
Figura 4: Agentes virais identificados pelo PR24 multiplex e as precauções recomendadas para cada agente etiológico.....	45

Lista de tabelas

Tabela 1: Frequência dos sintomas conforme o subtipo de VSR.....	31
Tabela 2: Internações em UTI pediátrica, tipos de suporte ventilatório e uso de antibioticoterapia nos pacientes infectados pelo VSR.....	32
Tabela 3: Características clínicas e laboratoriais e tempo de internação conforme o subtipo de VSR.....	33

Lista de quadros

Quadro 1: Estudo de frequência das manifestações clínicas das infecções por VSR notadas no presente estudo.	31
Quadro 2: Tratamento para influenza.....	41

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Faixa etária dos pacientes no momento da internação hospitalar, devido a quadros infecciosos ocasionados por VSR, no Hospital Johns Hopkins no período de 1993- 1996.....	19
Gráfico 2: Frequências das infecções pelos VSR A e VSR B e alguns parâmetros clínicos.....	34
Gráfico 3: MFA baseado na idade.....	35

Lista de Abreviações e Siglas

VSR: vírus sincicial respiratório

CCA: *chimpanzé coryza agent 2*

ICTV: *Committee on Virus Taxonomy*

RNA: ácido ribonucleico

F: glicoproteína de fusão

SH: pequena proteína hidrofóbica

IgG: imunoglobulina G

IgE: imunoglobulina E

IVAS: infecções de vias aéreas superiores

RADT: detecção rápida do antígeno

DFA: imunofluorescência direta

PCR: reação em cadeia da polimerase

SatO₂: saturação de oxigênio

VNI: ventilação não invasiva

VM: ventilação mecânica

EU: União Europeia

FDA: Food and Drug Administration

RN: recém- nascido

DNA: ácido desoxirribonucleico

MFA: análises multifatoriais

PCO₂: pressão parcial de gás carbônico

HCFMB: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu

RT-PCR: reação de cadeia polimerase precedida de transcrição reversa

EPI: equipamento de proteção individual

NHE: Núcleo Hospitalar de Epidemiologia

TMP-SMX: sulfametoxazol-trimetoprim

SUMÁRIO

Capítulo I:	Levantamento teórico sobre vírus sincial	
respiratório.....		15
Capítulo II:	Manuscrito.....	26
Capítulo III:	Produção tecnológica gerada pela tese.....	38
Referências Bibliográficas.....		46

Capítulo I: Levantamento teórico sobre vírus sincicial respiratório

1. Classificação, estrutura viral, genômica e replicação do vírus sincicial respiratório (VSR)

Em 1956, Morris e seus colaboradores, através de uma pesquisa realizada em um grupo de 14 chimpanzés que apresentavam quadro de coriza e resfriado, identificaram um vírus que inicialmente chamaram de *chimpanzé coryza agent 2* (CCA) (1).

Um ano após a descoberta deste vírus, Chanock e seus colaboradores confirmaram que esse agente também infectava humanos e causava doenças respiratórias. Eles também encontraram em crianças de idade escolar evidências sorológicas: um anticorpo neutralizante específico para CCA (2,3). Devido a capacidade do CCA fazer com que as células se fundam nas células vizinhas criando sincícios multinucleados, o vírus analisado passou a ser chamado de vírus sincicial respiratório (VSR) (2,4).

Segundo o Comitê Internacional de Taxonomia Viral (*Committee on Virus Taxonomy* - ICTV), o VSR está classificado na ordem dos *Mononegavirales*, família *Pneumoviridae*, gênero *Orthopneumovirus* e espécie *Human orthopneumovirus*. Esse vírus possui um RNA de cadeia simples não segmentado, de sentido negativo composto por aproximadamente 15 mil nucleotídeos envoltos por um envelope (5). Ele é composto por 10 genes que codificam 11 proteínas e o genoma possui dois quadros de leitura abertos sobrepostos no RNA M2 que produzem as proteínas de matriz distintas M2-1 e M2-2 (**Figura 1**) (6). O genoma viral codifica as seguintes proteínas: proteínas estruturais internas chave (proteína de matriz [M] e nucleoproteína [N]), proteínas necessárias para formação de complexo polimerase funcional (fosfoproteína [P] e polimerase [L]), proteínas não estruturais que estão envolvidas na evasão da resposta imune inata (NS-1 e NS-2), glicoproteínas transmembrana expostas externamente (pequena proteína hidrofóbica [SH], glicoproteína [G] e proteína de fusão [F]) e as proteínas regulatórias M2 (proteína antiterminação M2-1 e M2-2, envolvidas na regulação da transcrição/replicação) (7).

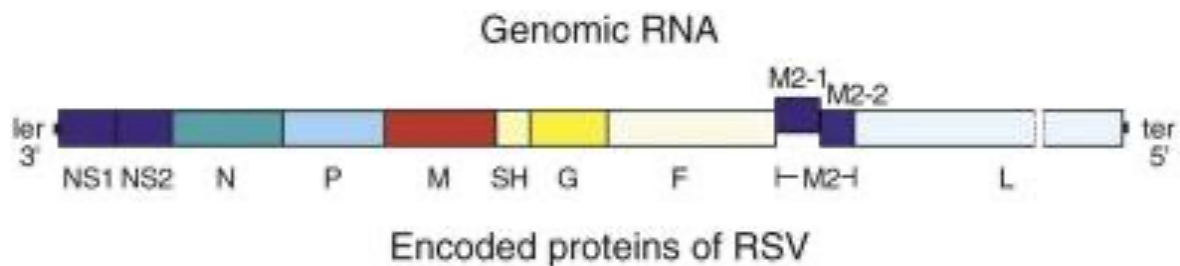


Figura 1: Adaptada de Walsh EE e Hall CB (6). Representação simplificada do RNA do VSR e a proteínas codificadas.

O envelope viral do VSR é composto por: glicoproteína G, glicoproteína de fusão (F) e a pequena proteína hidrofóbica (SH). Enquanto a proteínas G se liga a célula hospedeira e faz neutralização mediada por anticorpos, a proteína F atua na fusão e entrada na célula (8,9). Tanto a proteína F, como a proteína G induzem a imunidade protetora em animais e a formação de anticorpos neutralizantes (10) e são alvos antígenicos para anticorpos neutralizantes de vírus (11). Estudos recentes realizados em camundongos indicam que sequências no gene da proteína F estão associadas à virulência, enquanto, a proteína G é mais variável do que a proteína F, e é o foco da maior parte do desenvolvimento de vacinas. A proteína G modula a resposta inflamatória da doença e a ligação de anticorpos a G previne uma porção significativa desta doença (10). Embora tenha sido sugerido que a proteína G desempenha um papel significativo na patogenicidade e na evasão imune do VSR (9,12), pesquisas adicionais sugerem que os genótipos G não explicam as diferenças de cepa na virulência. A **figura 2** demonstra o VSR humano e suas proteínas.

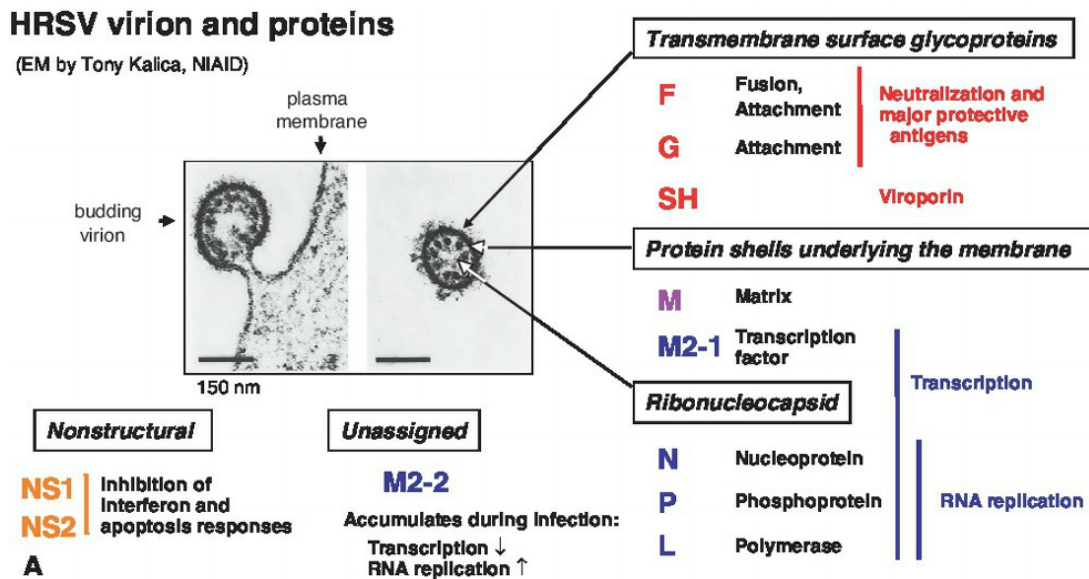


Figura 2. VSR humano e suas proteínas. Adaptada de Buchholz UJ et al. (13).

O ciclo de replicação do VSR começa com a ligação da proteína G à superfície apical das células epiteliais das vias aéreas ciliadas e polarizadas (14). Em seguida a proteína F se funde à membrana celular permitindo a entrada do vírus na célula (15). No citoplasma da célula hospedeira, dentro dos corpos de inclusão viral (16), o RNA viral é transcrito pelo complexo RNA viral- RNA polimerase dependente e, através da intermediação do anti-genoma de sentido positivo, ocorre a replicação de novos genomas de sentido negativo (17), seguido do agrupamento e o envelopamento viral, o qual ocorre próximo a membrana plasmática celular (18).

O VSR é dividido em 2 subgrupos principais: o VSR-A e o VSR-B. Até o momento há relato de 13 genótipos identificados para o vírus VSR-A (GA1-GA7, NA1-NA4, ON1 e SAA1) e 37 genótipos para o VSR-B (GB1, GB2, GB3, GB4, GB5, GB6, GB12, GB13, SAB1, SAB2, SAB3, SAB4, URU1, URU2, CB1, THB, BA1, BA2, BA3, BA4, BA5, BA6, BA7, BA8, BA9, BA10, BA11, BA12, BA13, BA14, BA-C, BA-CCA, BA-CCB, JAB1, NZB1 e NZB2) (19).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Morris J, Blount R, Savage R. Recovery of Cytopathogenic Agent from Chimpanzees with Goryza. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1956;544–9.
2. CHANOCK R, ROIZMAN B, MYERS R. RECOVERY FROM INFANTS WITH RESPIRATORY ILLNESS OF A VIRUS RELATED TO CHIMPANZEE CORYZA AGENT (CCA). *Am J Epidemiol*. 1957 Nov;66(3):281–90.
3. Beem M, Wright FH, Hamre D, Egerer R, Oehme M. Association of the Chimpanzee Coryza Agent with Acute Respiratory Disease in Children. *New England Journal of Medicine*. 1960 Sep 15;263(11):523–30.
4. Mufson MA, Orvell C, Rafnar B, Norrby E. Two Distinct Subtypes of Human Respiratory Syncytial Virus. *Journal of General Virology*. 1985 Oct 1;66(10):2111–24.
5. Rima B, Collins P, Easton A, Fouchier R, Kurath G, Lamb RA, et al. ICTV virus taxonomy profile: Pneumoviridae. *Journal of General Virology*. 2017 Dec 1;98(12):2912–3.
6. Walsh EE, Hall CB. Respiratory Syncytial Virus (RSV). In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier; 2015. p. 1948-1960.e3.
7. Griffiths C, Drews SJ, Marchant DJ. Respiratory Syncytial Virus: Infection, Detection, and New Options for Prevention and Treatment. *Clin Microbiol Rev*. 2017 Jan;30(1):277–319.
8. Borchers AT, Chang C, Gershwin ME, Gershwin LJ. Respiratory Syncytial Virus—A Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2013 Dec 12;45(3):331–79.
9. Kazimierczyk, Kasproicz, Kasprzyk, Wrzesinski. Human Long Noncoding RNA Interactome: Detection, Characterization and Function. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 4;21(3):1027.
10. Anderson L, Jadhao S, Paden C, Tong S. Functional Features of the Respiratory Syncytial Virus G Protein. *Viruses*. 2021 Jul 1;13(7):1214.
11. Tabor DE, Fernandes F, Langedijk AC, Wilkins D, Lebbink RJ, Tovchigrechko A, et al. Global Molecular Epidemiology of Respiratory Syncytial Virus from the 2017–2018 INFORM-RSV Study. *J Clin Microbiol*. 2020 Dec 17;59(1).
12. Jha A, Jarvis H, Fraser C, Openshaw PJ. Respiratory Syncytial Virus. 2016.
13. Buchholz UJ, Anderson LJ, Collins PL, Mejias A. Respiratory Syncytial Virus and Metapneumovirus. In: Howley PM, Knipe DM, Damania BA, Cohen JI, Whelan SPJ, Freed EO, editors. *Fields Virology: RNA viruses*. 7°. Philadelphia: ISBN: 978-1-9751-1260-8 ; 2023. p. 266–317.
14. Zhang L, Peeples ME, Boucher RC, Collins PL, Pickles RJ. Respiratory Syncytial Virus Infection of Human Airway Epithelial Cells Is Polarized, Specific to Ciliated Cells, and without Obvious Cytopathology. *J Virol*. 2002 Jun;76(11):5654–66.
15. Collins PL, Huang YT, Wertz GW. Nucleotide sequence of the gene encoding the fusion (F) glycoprotein of human respiratory syncytial virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1984 Dec;81(24):7683–7.
16. García J, García-Barreno B, Vivo A, Melero JA. Cytoplasmic Inclusions of Respiratory Syncytial Virus-Infected Cells: Formation of Inclusion Bodies in Transfected Cells That Coexpress the Nucleoprotein, the Phosphoprotein, and the 22K Protein. *Virology*. 1993 Jul;195(1):243–7.

17. Noton SL, Fearn R. Initiation and regulation of paramyxovirus transcription and replication. *Virology*. 2015 May;479–480:545–54.
18. Bergeron HC, Tripp RA. RSV Replication, Transmission, and Disease Are Influenced by the RSV G Protein. *Viruses*. 2022 Oct 29;14(11):2396.
19. Muñoz-Escalante JC, Comas-García A, Bernal-Silva S, Robles-Espinoza CD, Gómez-Leal G, Noyola DE. Respiratory syncytial virus A genotype classification based on systematic intergenotypic and intragenotypic sequence analysis. *Sci Rep*. 2019 Dec 27;9(1):20097.
20. Crowe Jr. JE. Vírus Sincicial Respiratório. In: Kliegman RM, ST Geme JW, Blum NJ, Shah SS, Tasker RC, Wilson KM, editors. *Nelson Tratado de Pediatria*. 21st ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan ; 2022. p. 1858–62.
21. American Academy of Pediatrics. Respiratory syncytial virus. In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield R, Sawyer MH, editors. *Red Book: 2021–2024 Report of the Committee on Infectious Diseases*. 32nd ed. Itasca: American Academy of Pediatrics ; 2021. p. 628–36.
22. Barr FE, Grahnan BS, Edwards MS, Blake D. Uptodate. 2023 [cited 2023 Nov 13]. Respiratory syncytial virus infection: Clinical features and diagnosis. Available from: https://www.uptodate.com/contents/respiratory-syncytial-virus-infection-clinical-features-and-diagnosis/print?search=RSV%20infection:%20Clinical%20features%20and%20diagnosis%20&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
23. Kobińska M, Jackowska T, Wrotek A. Risk Factors for Severe Respiratory Syncytial Virus Infection in Hospitalized Children. *Viruses*. 2023 Aug 9;15(8):1713.
24. Silva DGBP da, Almeida FJ, Arnoni MV, Sáfiadi MAP, Mimica MJ, Jarovsky D, et al. First report of two consecutive respiratory syncytial virus outbreaks by the novel genotypes ON-1 and NA-2 in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr (Rio J)*. 2020 Mar;96(2):233–9.
25. Taylor G. Animal models of respiratory syncytial virus infection. *Vaccine*. 2017 Jan;35(3):469–80.
26. Amantéa SL, Leon CA. Bronquiolite viral aguda. In: Simon Junior H, Pascolat G, editors. *Sociedade Brasileira de Pediatria [Internet]*. Porto Alegre: Artmed Panamericana; 2018 [cited 2023 Nov 13]. p. 105–48. Available from: <https://portal.secad.artmed.com.br/artigo/bronquiolite-viral-aguda>
27. Dawson-Caswell M, Muncie HL. Respiratory syncytial virus infection in children. *Am Fam Physician*. 2011 Jan 15;83(2):141–6.
28. Jain H, Schweitzer JW, Justice NA. Respiratory Syncytial Virus Infection. 2023.
29. Dall'Olio CC, Aurilio RB. Bronquiolite viral aguda: identificação e manejo pediátrico. In: Leone C, Cabral SA, editors. *Sociedade Brasileira de Pediatria PROPED Programa de Atualização em Terapêutica Pediátrica: Ciclo5 [Internet]*. Porto Alegre: Artmed Panamericana; 2019 [cited 2023 Nov 13]. p. 81–107. Available from: <https://portal.secad.artmed.com.br/artigo/bronquiolite-viral-aguda-identificacao-e-manejo-pediatrico>
30. Rodrigues Souza Goncalves J, Bhering CA. Vírus Sincicial Respiratório (VSR): Avanços Diagnósticos. *Revista de Saúde*. 2021 Mar 23;12(1):2399.
31. Ambrożej D, Makrinioti H, Whitehouse A, Papadopoulos N, Ruszczyński M, Adamiec A, et al. Respiratory virus type to guide predictive enrichment approaches in the management of the first episode of bronchiolitis: A systematic review. *Front Immunol*. 2022 Oct 27;13.

32. Manti S, Staiano A, Orfeo L, Midulla F, Marseglia GL, Ghizzi C, et al. UPDATE - 2022 Italian guidelines on the management of bronchiolitis in infants. *Ital J Pediatr*. 2023 Feb 10;49(1):19.
33. Piedra PA, Edwards MS, Blake D. UpToDate. 2023 [cited 2023 Nov 13]. Bronchiolitis in infants and children: Treatment, outcome, and prevention. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/bronchiolitis-in-infants-and-children-treatment-outcome-and-prevention?search=Bronchiolites%20in%20infantis...\)&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/bronchiolitis-in-infants-and-children-treatment-outcome-and-prevention?search=Bronchiolites%20in%20infantis...)&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1)
34. Robert Koch Institut [Internet]. 2018 [cited 2023 Nov 13]. Respiratorische Synzytial-Virus-Infektionen (RSV). Available from: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_RSV.html#doc2394298bodyText1
35. de Ávila Kfourir R, dos Santos Rodrigues Sadeck L, Avila Moura A, Chassot Bresolin A, Lopes Miralha A, Moraes Pimentel A, et al. DIRETRIZES PARA O MANEJO DA INFECÇÃO CAUSADA PELO VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO (VSR)-2017 DIRETRIZES Departamentos Científicos de Cardiologia, Imunizações, Infectologia, Neonatologia e Pneumologia Colaboradores: Revisores [Internet]. Available from: www.redeneonatal.fi
36. Martín-Torres F, Navarro-Alonso JA, Garcés-Sánchez M, Soriano-Arandes A. The Path Towards Effective Respiratory Syncytial Virus Immunization Policies: Recommended Actions. *Arch Bronconeumol*. 2023 Sep;59(9):581–8.
37. Laham FR, Mansbach JM, Piedra PA, Hasegawa K, Sullivan AF, Espinola JA, et al. Clinical Profiles of Respiratory Syncytial Virus Subtypes A AND B Among Children Hospitalized with Bronchiolitis. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2017 Aug;36(8):808–10.
38. Jiang MY, Duan YP, Tong XL, Huang QR, Jia MM, Yang WZ, et al. Clinical manifestations of respiratory syncytial virus infection and the risk of wheezing and recurrent wheezing illness: a systematic review and meta-analysis. *World Journal of Pediatrics*. 2023 Nov 2;19(11):1030–40.
39. Jung HE, Kim TH, Lee HK. Contribution of dendritic cells in protective immunity against respiratory syncytial virus infection. *Viruses*. 2020;12(1).
40. Déborah Elisa de Almeida Winter, Lúcio Henrique de Oliveira. RECOMENDAÇÕES QUANTO AO USO DE ANTIMICROBIANOS EM INFECÇÕES DE VIAS AÉREAS SUPERIORES EM PEDIATRIA. *Residência Pediátrica*. 2019 Jun 26;9(3).
41. Silva MG, Bezerra NP, de Moraes LN, Alho M de O, Poli GB, Grotto RMT, et al. INDICAÇÃO DE PAINEL RESPIRATÓRIO PARA DETECÇÃO DE INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS VIRAIS EM PESSOAS QUE VIVEM COM HIV/AIDS. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2022 Jan;26:101845.
42. Silva DA, Carmo GM, Li HY, Lima JC, Costa MS, Bellei NC, et al. Guia de manejo e tratamento de influenza 2023 [Internet]. 1st ed. Silva DA, Carmo GM, Li HY, Lima JC, Costa MS, Bellei NC, et al., editors. Brasília: Ministério da Saúde ; 2023 [cited 2023 Nov 13]. 01–59 p. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/influenza/guia-de-manejo-e-tratamento-de-influenza-2023/view>

43. American Academy of Pediatrics. Influenza. In: Barnett E, Lynfield R, Sawyer M, editors. Red Book: 2021- 2024 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32nd ed. ITASCA: American Academy of Pediatrics; 2021. p. 447–57.
44. Munoz FM, Flomenberg P, Hirsch MS, Edwards MS, Bogorodskaya M. UpToDate. 2023 [cited 2023 Nov 14]. Diagnosis, treatment, and prevention of adenovirus infection . Available from: https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-treatment-and-prevention-of-adenovirus-infection?search=Diagnosis,%20treatment,%20and%20prevention%20of%20adenovirus%20infection%20&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
45. American Academy of Pediatrics. Adenovirus Infections. 32nd ed. Red Book®: Relatório de 2021-2024 do Comitê de Doenças Infecciosas, editor. Itasca: American Academy of Pediatrics; 2021. 188–190 p.
46. Barnett ED, Lynfield R, Sawyer MH. Bocavirus [Internet]. 32nd ed. Red Book®: Relatório de 2021-2024 do Comitê de Doenças Infecciosas, editor. Itasca: American Academy of Pediatrics; 2021 [cited 2023 Nov 14]. 233–235 p. Available from: https://www.springermedizin.de/emedpedia/paediatric/adenovirus-infektionen-bei-kindern-und-jugendlichen?epediaDoi=10.1007/978-3-642-54671-6_124
47. Deville JG, Song E, Quellette CP, Edwards MS, Blake D. UpToDate. 2013 [cited 2023 Nov 14]. COVID-19: Management in children. Available from: https://www.uptodate.com/contents/covid-19-management-in-children?search=COVID-19:%20Management%20in%20children&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
48. Barnett ED, Lynfield R, Sawyer MH. Coronaviruses, Including SARS-CoV-2 and MERS-CoV . 32nd ed. Red Book®: Relatório de 2021 do Comitê de Doenças Infecciosas, editor. Itasca: American Academy of Pediatrics; 2021. 280–285 p.
49. Sinclair W, Omar M. Statpearls. 2023 [cited 2023 Nov 14]. Enterovirus. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562330/>
50. Crowe Jr JE. Metapneumovírus Humano. In: Kliegman RM, ST Geme JW, Blum NJ, Tasker RC, Wilson KM, editors. Nelson Tratado de Pediatria. 21st ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2022. p. 1862–4.
51. Panning M, Forster J. Respiratorische Viren bei Kindern und Jugendlichen. In 2019. p. 1–7.
52. Lopez SM, Williams J V. Rinovírus. In: Kliegman RM, ST Geme JW, Blum NJ, Shah SS, Tasker RC, Wilson KM, editors. Nelson Tratado de Pediatria. 21st ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2022. p. 1864–6.
53. American Academy of Pediatrics. Rhinovirus Infections. In: Kimberlin D, Barnett E, Lynfield R, Sawyer M, editors. Red Book: 2021-2024 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32nd ed. Itasca: American Academy of Pediatrics; 2021. p. 636–8.
54. American Academy of Pediatrics. Mycoplasma pneumoniae and Other Mycoplasma Species Infections. In: Kimberlin D, Barnett E, Lynfield R, Sawyer MH, editors. Red Book: 2021-2024 Report of the Committee on Infectious Diseases . 32nd ed. American Academy of Pediatrics; 2021. p. 543–6.
55. Elboukari H, Ashraf M. Parainfluenza Virus Continuing Education Activity [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560719/>

56. American Academy of Pediatrics. Parainfluenza Viral Infections. In: Kimberlin D, Barnett E, Lynfield R, Sawyer M, editors. Red Book: 2021- 2024 Report of the Committee on Infectious Diseases. 32nd ed. Itasca: American Academy of Pediatrics; 2021. p. 555–7.
57. American Academy of Pediatrics. Pertussis (Whooping Cough). In: Kimberlin DW, Barnett ED, Lynfield R, Sawyer M, editors. Red Book: 2021- 2024 Report of the Committee on Infectious Diseases . 32nd ed. Itasca: American Academy of Pediatrics; 2021. p. 578–89.
58. Vallejo JG, Edwards MS, Blake diane. UpToDate. 2023 [cited 2023 Nov 14]. Mycoplasma pneumoniae infection in children. Available from:
https://www.uptodate.com/contents/mycoplasma-pneumoniae-infection-in-children?search=Mycoplasma%20pneumoniae%20infection%20in%20children%20&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1