

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO  
GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MEDICINA/PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA**

**JACQUELINE RAMOS DA SILVA**

**COMPARAÇÃO DA GRAVIDADE DAS CRISES DE  
SIBILÂNCIA EM LACTENTES CAUSADAS POR  
DIFERENTES VÍRUS RESPIRATÓRIOS**

**PORTO ALEGRE  
2013**

JACQUELINE RAMOS DA SILVA

**COMPARAÇÃO DA GRAVIDADE DAS CRISES DE SIBILÂNCIA EM LACTENTES  
CAUSADAS POR DIFERENTES VÍRUS RESPIRATÓRIOS**

Dissertação apresentada como requisito para  
obtenção do grau de mestre em Saúde da Criança pelo  
Programa de Pós-Graduação da faculdade de Medicina da  
Pontifícia Universidade Católica do Rio grande do sul.

Orientador: Prof.Dr. Leonardo Araújo Pinto

Co-orientadora: Dra. Rita Matiello

Porto Alegre

2013

## FICHA CATALOGRÁFICA

S586c Silva, Jacqueline Ramos da

Comparação da gravidade das crises de sibilância em lactentes causadas por diferentes vírus respiratórios / Jacqueline Ramos da Silva - Porto Alegre: PUCRS, 2013.

000 f.: gráf. Inclui um artigo científico submetido à publicação.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Araújo Pinto.

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rita Mattiello

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Mestrado em Medicina e Ciências da Saúde.

1. BRONQUIOLITE. 2. VÍRUS SINCICIAIS RESPIRATÓRIOS. 3. SONS RESPIRATÓRIOS/etiologia. 4. ÍNDICE DE GRAVIDADE DE DOENÇA. 5. LACTENTE. 6. HOSPITALIZAÇÃO. 7. ESTUDOS TRANSVERSAIS. I. Pinto, Leonardo Araújo. II. Mattiello, Rita. III. Título.

C.D.D. 616.246  
N.L.M.OW 168.5.P2

Rosária Maria Lúcia Prenna Geremia

Bibliotecária CRB 10/196

A minha mãe Loici, eterna e incondicional incentivadora dos meus sonhos, a pessoa que sempre está ao meu lado me dando força, coragem e constante apoio em todos os momentos, para seguir em busca de meus objetivos. Ao meu pai Sinval (in memoriam), que infelizmente não pode estar presente neste momento tão feliz da minha vida, mas não poderia deixar de dedicar a ele, pois se hoje estou aqui, devo muitas coisas a ele por seus ensinamentos e valores passados. Obrigada por tudo! Saudades eternas!

Aos pacientes que permitiram a realização deste estudo.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, primeiramente, por ter me dado força durante esses dois anos de curso, em meio de dificuldades. Por ter me iluminado nas decisões mais difíceis e por ter me guiado ao longo do curso para trilhar o caminho mais correto possível.

A minha família, em especial minha mãe e irmã Cristiane pelo apoio, dedicação e incentivo nos momentos de dificuldade, e por ficarem ao meu lado para a realização desse sonho.

Ao meu marido Ricardo, por todo carinho e dedicação, pela preocupação e zelo, presente em todos os momentos.

A todos os professores e em especial o meu orientador Leonardo, por exigir de mim muito mais do que eu supunha ser capaz de fazer. Agradeço por transmitir seus conhecimentos e por fazer da minha dissertação uma experiência positiva, e por ter confiado em mim, sempre estando ali me orientando e dedicando parte do seu tempo a mim.

Não poderia deixar de agradecer também a minha sobrinha Ana Paula que acaba de chegar e também dividiu sua mãe comigo. Muito obrigada por tudo, pela paciência, pela amizade e pelos ensinamentos que levarei para sempre.

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.”

F. S.

## **Resumo**

As crises de sibilância desencadeadas por vírus estão entre as principais causas de internação hospitalar em lactentes. Estudos prévios descreveram uma diferença na severidade da doença dependente do vírus identificado em amostra de via aérea, porém alguns trabalhos apresentam resultados conflitantes. Este estudo tem, portanto, o objetivo de avaliar a relação entre o patógeno causador da infecção e tempo de internação, em uma amostra de lactentes de Porto Alegre. As amostras de secreção nasofaríngea para pesquisa de vírus respiratórios por imunofluorescência direta (IFD) e polymerase chain reaction (PCR) foram coletadas no período 09/2009 e 09/2011. Foram recrutados pacientes internados no Hospital São Lucas da PUCRS com diagnóstico de infecção do trato respiratório inferior (ITRI). Foram analisadas 122 amostras de pacientes com ITRI, e destas, 65 (51,2%) foram positivas para infecção por vírus sincicial respiratório (VSR). Além destas amostras, 15 foram positivas para influenza, 5 para rinovírus, 10 para parainfluenza, 3 para metapneumovírus e 3 para adenovírus. Quando utilizamos o tempo de internação como um marcador de gravidade, pacientes com VSR ficaram, em média,  $6,74 \pm 4,39$  dias internados, enquanto pacientes sem VSR ficaram apenas  $4,97 \pm 2,64$  dias internados, em média, sendo esta diferença estatisticamente significativa. Porém quando avaliados outros fatores de risco como história familiar de asma da mãe, número de irmãos e sexo não houve uma diferença significativa. O estudo demonstrou uma positividade geral elevada para vírus, com a predominância do VSR. Este estudo indica a possibilidade de que a infecção por VSR possa influenciar marcadores gravidade em lactentes com ITRI.

**Palavras-Chave:** infecção respiratória, vírus respiratórios, hospitalização.

## **Abstract**

Acute wheezing is a leading cause of hospitalization in infants. Previous studies have described a difference in the severity of the disease depends on the virus identified in a sample of air, but some studies show conflicting results. This study is therefore to evaluate the relationship between the causative pathogen of lower respiratory tract infection (LRTI) and length of stay in a sample of infants from Porto Alegre. The nasopharyngeal specimens for testing of respiratory viruses by immunofluorescence and polymerase chain reaction were collected between 09/2009 and 09/2011. We recruited patients at the Hospital São Lucas diagnosed with LRTI. We analyzed 122 samples from patients with LTRI, and of these, 65 (51.2%) were positive for respiratory syncytial virus infection (RSV). Besides these samples, 15 were positive for influenza, 5 to rhinovirus, parainfluenza to 10, 3 to metapneumovirus and 3 for adenovirus. When we used length of stay as a marker of severity, patients with RSV were, on average,  $6.74 \pm 4.39$  days hospitalized, while patients infected with other viruses were only  $4.97 \pm 2.64$  days hospitalized, on average; this difference was statistically significant. However, when we used other risk factor as family history of asthma, number of siblings and sex, there was no significant difference. The study demonstrated high overall positive tests for virus, with the predominance of RSV. The study suggests that RSV may be considered as a risk factor for ITRI severity.

**Keywords:** respiratory infection, respiratory virus; hospitalization.



## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 1.</b>	Principais fatores de risco associados à bronquiolite aguda e referências que indicam cada um dos determinantes. ....31
<b>Tabela 2</b>	Principais fatores de risco associados à sibilância recorrente e referências que indicam cada um dos determinantes. ....32

### CAPÍTULO III

<b>Tabela 1.</b>	Características descritivas da amostra de lactentes com crise de sibilância. ....52
<b>Tabela 2.</b>	Historia médica pregressa dos pacientes incluídos no estudo. ....53
<b>Tabela 3.</b>	Características clínicas dos pacientes incluídos no estudo. ....54
<b>Tabela 4.</b>	Resultados da investigação etiológica por imunofluorescência e PCR dos pacientes incluídos. ....55
<b>Tabela 5.</b>	Relação entre os fatores de risco estudados e o tempo de internação, usado como marcador de gravidade da doença. ....56

## LISTA DE SIGLAS

BVA - bronquiolite viral aguda

IFD - imunofluorescência direta

PUCRS - pontifícia universidade católica do rio grande do sul

VSR – vírus sincicial respiratório

RV - rinovírus

ITRI - infecção do trato respiratório inferior

HBoV - bocavírus humano

UTIP- unidade de terapia intensiva pediátrica

IRAs - infecções respiratórias agudas

SUS - Sistema Único de Saúde

UCE - Unidade de Cuidados Especiais

HSL - Hospital São Lucas

IPB - instituto de pesquisas biomédicas

TCLE - termo de consentimento livre e esclarecido

UCE - Unidade de Cuidados Especiais Pediátricos

VI - Influenza

VP - Parainfluenza

VA - Adenovírus

DRAs - doenças respiratórias agudas

OPAS - organização pan-americana de saúde

OMS – organização mundial de saúde

MPVh - metapneumovírus humano

## LISTA DE SÍMBOLOS

ml - mililitros

O<sub>2</sub> - oxigênio

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO I

1 INTRIDUÇÃO.....	13
1.1 JUSTIFICATIVA.....	15
1.2 OBJETIVOS.....	16
1.2.1 Objetivo geral.....	16
1.2.2 Objetivo específico.....	16
1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

### CAPÍTULO II

2 ARTIGO DE REVISÃO.....	19
--------------------------	----

### CAPÍTULO III

3 ARTIGO ORIGINAL.....	34
------------------------	----

### CAPÍTULO IV

4 CONCLUSÃO.....	58
------------------	----

# **CAPÍTULO I**

## 1 INTRODUÇÃO

A bronquiolite viral aguda (BVA) é infecção do trato respiratório inferior mais frequente em lactentes e uma importante causa de internação hospitalar, sendo definida clinicamente como o primeiro episódio de sibilância nessa faixa etária<sup>1</sup>. A sibilância recorrente nos primeiros anos de vida é uma condição muito comum na infância e, na maioria das vezes, pode acarretar em um número expressivo de internações e de visitas a serviços de emergência<sup>2</sup>.

A infecção por vírus respiratórios é responsável por uma elevada morbidade em lactentes, especialmente, em pacientes portadores de doenças crônicas. A bronquiolite viral aguda é uma das situações clínicas mais comuns causadas por vírus respiratórios, apresentando uma distribuição sazonal com um pico de incidência nos meses de inverno<sup>3</sup>.

Os agentes etiológicos mais frequentemente associados a essa infecção são o vírus sincicial respiratório (VSR), adenovírus, parainfluenza e influenza. No entanto, outros vírus têm sido também associados a essa doença, como rinovírus (RV), metapneumovírus e coronavírus<sup>4</sup>. Dados epidemiológicos de países em desenvolvimento mostram que o VSR é uma importante causa de infecção do trato respiratório inferior (ITRI) em crianças, responsável por aproximadamente 70% de todos os casos<sup>5</sup>. Provavelmente devido à presença de fatores agravantes, como superpopulação, poluição do ar e desnutrição, a taxa de mortalidade após ITRI por VSR pode chegar a 7% nas crianças menores de 2 anos de idade<sup>6</sup>.

Além do conhecido VSR, responsável por grande número de bronquiolites, outros agentes recentemente identificados, tais como o rinovírus, metapneumovírus, bocavírus e ultimamente o influenza H1N1, parecem ter relevância em determinados períodos epidêmicos<sup>4,7,8</sup>. A identificação dos agentes virais causadores das crises de sibilância no primeiro ano de vida é fundamental para a definição de medidas terapêuticas que considerem os diferentes agentes etiológicos nos casos de BVA e sibilância recorrente. A partir deste contexto questiona-se especialmente qual é a frequência e as taxas de co-infecção em lactentes com sibilância recorrente, já que os dados de BVA (primeiro episódio) têm sido descritos em estudos internacionais e também em dados locais.

Dessa forma, o estudo visa determinar a prevalência de infecção viral em lactentes hospitalizados por BVA e sibilância recorrente e comparar as características clinica dos pacientes de acordo com a identificação do vírus.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

A bronquiolite viral aguda e a sibilância recorrente são responsáveis por uma elevada morbidade em todo o mundo durante a infância. As doenças respiratórias agudas são a primeira causa de mortalidade em crianças abaixo dos 5 anos em países em desenvolvimento. No Brasil há dados indicando que o VSR é muito prevalente na faixa etária pediátrica. Ciente que a infecção viral está fortemente associada a essas condições de saúde, o melhor entendimento do papel dos diferentes agentes causadores da BVA e da sibilância recorrente é fundamental para criação de medidas de prevenção e para o tratamento dessas condições.



## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

Determinar a prevalência de infecção viral em lactentes hospitalizados por BVA e sibilância recorrente.

### 1.2.2 Objetivo Especifico

Avaliar a relação entre o patógeno causador da infecção e tempo de internação hospitalar, em uma amostra de lactentes de Porto Alegre.

### 1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pitrez PM, Stein RT, Stuermer L, Macedo IS, Schmitt VM, Jones MH, et al. Bronquiolite aguda por rinovírus em lactentes jovens. *J Pediatr (Rio J)*. 2005;81:417-20.
2. Weiss LN. The diagnosis of wheezing in children. *Am Fam Physician*. 2008 Apr; 15;77(8):1109-14.
3. Everard ML, Milnes AD. The respiratory syncytial virus and role in acute bronchiolitis. *Eur J Pediatr* 1992; 151:638-51.
4. Jartti T, Lehtinen P, Vuorinen T, Ruuskanen O. Bronchiolitis: age and previous wheezing episodes are linked to viral etiology and atopic characteristics. *Pediatr Infect Dis J*. 2009; 28(4):311-7.
5. Fischer GB, Teper A, Colom AJ. Acute viral bronchiolitis and its sequelae in developing countries. *Paediatr Respir Rev*. 2002; 3(4): 298-302.
6. Stralioatto SM, Siqueira MM, Muler RL, et al. Viral etiology of acute respiratory infections among in Porto Alegre, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002; 35:283-91.
7. Hull J, Thomson A, Kwiatkowski D. Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families. *Thorax*. 2000; 55: 1023-1027.
8. Wright AL. Epidemiology of asthma and recurrent wheeze in childhood. *Clin Rev Allergy Immunol. Review*. 2002 Feb;22(1):33-44.

## **CAPÍTULO II**

## **2 ARTIGO DE REVISÃO**

**Titulo: Fatores de risco para bronquiolite grave e sibilância recorrente em lactentes e pré-escolares**

Autores: Jacqueline Ramos da Silva, Leonardo Araujo Pinto

## Resumo

**Objetivo:** Apresentar uma revisão da literatura sobre fatores de risco determinantes para bronquiolite aguda grave e sibilância recorrente em lactentes e pré-escolares.

**Fontes de dados:** Artigos originais, revisões e consensos indexados nos bancos de dados PubMed, LILACS, SCIELO e outras publicações *on line*, nos últimos 10 anos.

**Resultados:** A bronquiolite viral aguda (BVA) é uma das causas mais relevantes de morbidade em lactentes jovens. É a condição mais comum do trato respiratório inferior e a razão mais frequente para a admissão hospitalar no primeiro ano de vida. O vírus sincicial respiratório (VSR) é o vírus mais frequentemente identificado seguido de rinovírus (RV), metapneumovírus e bocavírus humano (HBoV). Os principais fatores determinantes para bronquiolite aguda grave foram à história de prematuridade e comorbidades associadas à doença pulmonar. Quando o desfecho medido foi a sibilância recorrente nos primeiros 6 anos, os principais determinantes são BVA grave, frequência a pré-escola e história familiar ou pessoal de atopia.

**Conclusões:** Muitos fatores de risco para bronquiolite aguda e sibilância recorrente são diferentes e indicam a possibilidade de etiologias diferentes. O aprofundamento de pesquisas epidemiológicas que identifiquem os determinantes destas síndromes clínicas pode facilitar a implantação de medidas preventivas e terapêuticas mais adequadas.

**Palavras chave:** bronquiolite, sibilância recorrente, lactente, pré-escolares.

## **Abstract**

**Objective:** To review the literature on risk factors that influence severe acute bronchiolitis and recurrent wheezing in infants and preschoolers.

**Data Sources:** Original articles, reviews and consensus indexed in the databases PubMed, LILACS, SciELO and other online publications in the past 10 years.

**Results:** Acute viral bronchiolitis (AVB) is one of the leading causes of morbidity in young infants. It is the most common condition of the lower respiratory tract and the most common reason for hospital admission in the first year of life. Respiratory syncytial virus (RSV) is the most frequently identified viruses followed by rhinovirus (RV), metapneumovirus and human bocavirus (HBoV). The main factors for severe acute bronchiolitis were the history of comorbidities associated with prematurity and pulmonary disease. When the outcome measured was the recurrent wheezing in the first 6 years, the main determinants are severe AVB, frequency in the pre-school and family or personal history of atopy.

**Conclusions:** Risk factors for acute bronchiolitis and recurrent wheezing are different and indicate the possibility of different etiologies. Epidemiological research to identify the determinants of these clinical syndromes can facilitate the implementation of appropriate preventive and therapeutic measures.

**Keywords:** bronchiolitis, recurrent wheezing, infant, preschoolers.

## Introdução

A bronquiolite viral aguda (BVA) é uma afecção respiratória causada por vírus sazonais mais frequentes em crianças com menos de 6 meses de vida, responsável muitas vezes pela hospitalização destas<sup>1</sup>. Muitos fatores ambientais e genéticos podem desempenhar um papel em pacientes com bronquiolite ou sibilância recorrente<sup>2</sup>. A BVA é caracterizada por inflamação aguda, edema e necrose celular de epitélios que revestem as vias aéreas. Dessa forma, a doença leva a um aumento de muco e a obstrução das vias aéreas, hiperexpansão dos pulmões e hipóxia<sup>3</sup>.

A BVA pode manifestar-se de forma leve, moderada ou grave, sendo que neste último caso pode haver necessidade de ventilação mecânica invasiva<sup>2</sup>. Os pacientes hospitalizados têm um aumento de risco de desenvolver sibilância recorrente na infância<sup>4</sup>. O risco de apresentar a doença é muito frequente em crianças com menos de um ano de idade, já que o calibre das vias aéreas é pequeno e os sistemas respiratórios e imunes ainda não estão completamente desenvolvidos<sup>2</sup>.

Dados de estudos epidemiológicos demonstram que cerca de 30-50% das crianças terão pelo menos uma ocorrência de sibilância antes do terceiro ano de vida, com reincidência de 50% até o sexto ano de idade<sup>5</sup>.

Em países desenvolvidos, lactentes e crianças pré-escolares desenvolvem uma média de 6-10 infecções virais por ano, e crianças em idade escolar e adolescentes, de 3-5 doenças anualmente<sup>3</sup>. As doenças respiratórias agudas representam importante causa de óbito em crianças com menos de 1 ano de idade nos países em desenvolvimento<sup>6</sup>. No Brasil não há um consenso em relação ao tratamento aplicado e cada serviço desenvolve a rotina de acordo com cada caso específico<sup>6</sup>.

Dados da literatura mostram que os médicos devem diagnosticar e avaliar esta patologia com base na história e exame físico do paciente, avaliar os fatores de risco para a doença, tais como idade inferior a 12 semanas, história de prematuridade, doença cardiopulmonar subjacente e imunodeficiência<sup>7</sup>. Este trabalho busca coletar dados da literatura pertinentes a bronquiolite e sibilância recorrente que descrevam fatores de risco determinantes da gravidade e recorrência da das crises de sibilância.

## **Metodologia**

Revisão e inclusão de artigos obtidos através de busca nas bases de dados Medline, Lilacs e Scielo. Os estudos considerados relevantes para a análise da bronquiolite viral e sibilância recorrente foram utilizados nesta pesquisa. Foram incluídos apenas artigos publicados em português ou inglês, no período entre 2000 e 2012.

## **Fatores associados BVA grave e risco de sibilância recorrente**

### **Vírus respiratórios:**

A BVA é causada principalmente pelo vírus sincicial respiratório (VSR) e afeta predominantemente os bronquíolos. Estudos sobre as características de identificação etiológica relataram positividade mais frequente para o VSR e vírus influenza<sup>8</sup>. Além destes vírus já descritos com frequência, outros vírus identificados em diversas populações foram o adenovírus e parainfluenza<sup>7</sup>. O vírus sincicial respiratório (VSR) é o agente etiológico principal responsável pela bronquiolite e é identificado em cerca de 70% dos casos de bronquiolite viral aguda<sup>9</sup>.

Embora o principal agente etiológico da bronquiolite permaneça o VSR, novos vírus descritos em estudos com polymerase chain reaction (PCR) foram o rinovírus (RV), metapneumovírus ou bocavírus humano (HBoV). Este último tem demonstrado uma elevada taxa de co-deteção com o VSR, sendo que as características demográficas e a gravidade clínica da doença podem depender do número de vírus<sup>10</sup>. Em um estudo recente, os vírus mais frequentemente detectados foram o VSR (41,2%), HBoV (12,2%) e RV (8,8%)<sup>11</sup>.

Quando comparadas as características clínicas de infecção por RV associado à sibilância e o VSR, observam-se alguns dados interessantes<sup>12</sup>. As crianças com infecção por RV, em comparação com pacientes com VSR, apresentaram mais frequentemente dermatite atópica e eosinofilia. Embora haja características clínicas semelhantes entre sibilância associada ao RV ou ao VSR, eles diferem significativamente em relação à idade, presença de dermatite atópica e eosinofilia<sup>12</sup>.



Em outro estudo, dois grupos foram divididos, um grupo de VSR-positivo e um grupo de VSR-negativo, e foram observadas diferenças na severidade da doença. A intensidade dos sintomas agudos e susceptibilidade à sibilância recorrente entre os grupos foram investigados. O grupo VSR-positivo representou 57,4% das crianças da amostragem, sendo estas significativamente mais jovens que o grupo negativo. Características como o sibilos causado por VSR na infância é mais comum em crianças menores, porém não foi mais grave do que a causada por outros patógenos<sup>13</sup>.

### **Co-infecções:**

Estudos sobre fatores de risco para BVA indicam como principais fatores a renda familiar, tempo de aleitamento materno, idade gestacional, bem como a exposição ao fumo materno<sup>14</sup>. Além disso, alguns trabalhos têm definido a presença de co-infecções como um dos fatores associados a casos mais graves de bronquiolite.

A avaliação da importância das múltiplas infecções virais tem sido facilitada pelas metodologias de diagnóstico que utilizam PCR para patógenos respiratórios para avaliar a etiologia em lactentes com bronquiolite aguda<sup>15</sup>. Em um estudo com PCR, vírus foram detectados em 73,7% dos pacientes. Infecções múltiplas representaram 19,5% dos casos. A maioria dos quais (69%) foram combinações de RV com VSR. Rinovírus, neste estudo, foi à segunda causa de bronquiolite e está associado com doenças mais graves. Segundo este estudo, a presença de mais de um agente patogênico pode influenciar a história natural de bronquiolite aguda.

Outro trabalho avaliou a importância da infecção viral dupla em lactentes com bronquiolite grave internados em unidade de internação convencional comparados com os de uma unidade de terapia intensiva pediátrica (UTIP)<sup>16</sup>. Um agente viral foi identificado em 96,1% das crianças com bronquiolite. O vírus sincicial respiratório (70,6% e 73,6% respectivamente na unidade de internação e UTIP) e rinovírus (18,5% e 25,3% respectivamente na unidade de internação e UTIP) foram os vírus mais detectados em crianças internadas nas duas unidades. A infecção viral dupla foi um fator de risco relevante para a admissão de crianças com bronquiolite grave na UTIP.

## **Função pulmonar:**

Mais da metade dos pacientes que se infectam pelo vírus sincicial respiratório (VSR) durante a infância passaram a ter episódios de sibilância recorrente durante esta fase. Os sintomas estão muitas vezes associados a uma função pulmonar anormal, incluindo medidas indiretas do calibre da via aérea e hiper-responsividade brônquica. A função anormal das vias aéreas pode ser congênita ou adquirida após infecção do trato respiratório inferior (ITRI). A maioria dos estudos em seres humanos não revela um papel importante da atopia no desenvolvimento de sibilância recorrente após ITRI por VSR, nos primeiros anos de vida<sup>17</sup>.

Além da função pulmonar, outros fatores de risco relevantes para hospitalização e sibilância recorrente são a história de prematuridade, doença cardiopulmonar subjacente ou mesmo imunodeficiência<sup>18</sup>. Anormalidades da função pulmonar associadas à sibilância recorrente ou persistente se estabelecem na primeira infância, sugerindo que as exposições iniciais de vida são fundamentais na determinação no início e na história natural das doenças obstrutivas<sup>19</sup>.

Para maior parte dos pacientes, o acompanhamento de lactentes sibilantes na infância aponta para melhora da função pulmonar e, conseqüentemente, melhora da sibilância na idade escolar<sup>20</sup>. Por outro lado, a função pulmonar diminuída nos primeiros meses de vida é reconhecida como fator de risco para obstrução das vias aéreas em crianças, adolescentes e adultos jovens.

Autores relatam que a função pulmonar diminuída, embora sem manifestação clínica, pode significar que o indivíduo está em risco aumentado de obstrução das vias aéreas associado a infecções respiratórias<sup>21</sup>.

## **Hospitalização:**

Muitos autores avaliaram o papel da internação por bronquiolite aguda, que é um marcador de gravidade, como fator de risco recorrente para sibilância<sup>22</sup>. Os resultados mostraram que o fator hospitalização em período pós-natal precoce parece ter relação direta com o

desenvolvimento de sibilância recorrente. Há dúvidas quanto à instalação da doença, se a infecção causa anormalidades na função pulmonar ou se identifica os pacientes que possuem pequenas vias aéreas em seus primeiros anos de vida<sup>22</sup>.

Um estudo que acompanhou crianças hospitalizadas com bronquiolite demonstrou que uma média de 50% da amostragem avaliada possui sibilância recorrente durante a infância<sup>21</sup>. O vírus podem ser um marcador para esta condição ou a predisposição pode estar associada à hiper-reatividade de vias aéreas e até mesmo a algum distúrbio relacionado à fisiologia ou anatomia pulmonar presentes antes do surgimento da bronquiolite. O mais provável é que existam diferentes grupos de crianças em que cada uma das alterações citadas esteja presentes, incluindo uma combinação ou inter-relação entre elas, ou mesmo estarem relacionadas a outros fatores ambientais.

Outro trabalho acompanhou 140 crianças hospitalizadas com ITRI com até 3 anos de idade que apresentavam sibilância recorrente. Os resultados mostraram uma diminuição significativa de características como o sibilo durante os primeiros anos de acompanhamento<sup>23</sup>.

Análises multivariadas na pesquisa mostraram que o tipo de vírus transportado foi independentemente associado com a duração da hospitalização<sup>24</sup>. Neste estudo, nenhum efeito adicional de infecção por VSR/RV dupla foi observado em relação à gravidade.

## **Discussão**

Alguns autores afirmam que o risco de apresentar a BVA é maior em crianças com menos de 1 ano de idade<sup>2</sup>. A evolução da ocorrência da sibilância recorrente pode acontecer antes dos 2 anos de vida<sup>5</sup>. Os episódios de sibilância recorrente são comuns em crianças que apresentam contato com o vírus sincicial respiratório durante a infância<sup>17</sup>. Persiste uma indefinição se a instalação da doença é consequência de anormalidades na função pulmonar secundária a infecção ou se seria identificável em pacientes que possuem pequenas vias aéreas nos primeiros anos de vida.

As causas das patologias divergem entre os autores estudados. Fatores genéticos e ambientais foram associados ao desenvolvimento tanto da sibilância quanto da bronquiolite<sup>20</sup>. Já outro trabalho demonstra dúvidas quanto à instalação da doença, se a infecção é a causadora de

anormalidades pulmonares ou se a doença está diretamente relacionada a pacientes que possuem vias aéreas diminutas em seus primeiros anos de vida<sup>22</sup>. Muitos trabalhos demonstram que a predisposição pode estar associada à hipersensibilidade a alérgenos comuns, hiperrreatividade de vias aéreas e até mesmo distúrbios relacionados à fisiologia ou anatomia pulmonar características antes da incidência da bronquiolite<sup>21</sup>.

O tipo de vírus identificado foi independentemente associado com a duração da hospitalização de lactentes jovens com bronquiolite aguda<sup>24</sup>. Isto indicaria que as características demográficas e a gravidade da doença também podem depender do número de vírus ou do vírus detectado<sup>10</sup>. As medidas de prevenção (imunização ou afastamento da escola) possuem grande importância nestas doenças em pacientes com menos de 2 anos de idade<sup>22</sup>. Da mesma forma, o acompanhamento e o avanço das pesquisas na prevenção da bronquiolite facilitaria a identificação das crianças de alto risco.

## **Conclusões**

Os vírus encontrados nos pacientes e identificados foram em sua maioria, vírus sincicial respiratório, influenza, adenovírus, parainfluenza, rinovírus, metapneumovírus e bocavírus. O tratamento aplicado em cada paciente varia conforme a idade, estado físico do paciente e a decisão do profissional da saúde em adotar uma ou outra forma de tratamento.

Os fatores de risco para bronquiolite aguda e sibilância recorrente são diferentes e indicam a possibilidade de etiologias diferentes (tabelas 1 e 2). O aprofundamento de pesquisas epidemiológicas que identifiquem os determinantes destas síndromes clínicas pode facilitar a implantação de medidas preventivas e terapêuticas mais adequadas. Os estudos relacionados à bronquiolite e sibilância recorrente indicam a necessidade de pesquisas na área para aplicação do tratamento específico em cada caso estudado.

## Referências Bibliográficas

1. Zorc JJ, Hall CB. Bronchiolitis: Recent evidence on diagnosis and management. *Pediatrics*. v.125, p.341-349, 2010.
2. Mansbach JM, Camargo CA. Respiratory viruses in bronchiolitis and their link to recurrent wheezing and asthma. *Clin Lab Med*. v.29, n.4, p.741-755, 2009.
3. Pavia AT. Viral infections of the lower respiratory tract: old viruses new viruses, and role of diagnosis. *Oxford Journals*. v.52, supl 4, p.284-289, 2011.
4. Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, et al. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Oct 1; 178(7): 667-72.
5. Castro-rodriguez JA, Rodrigo GJ. Efficacy of inhaled corticosteroids in infants and preschoolers with recurrent wheezing and asthma: A systematic review with meta analysis. *Pediatrics*. v.123, p. e519-e 525, 2012.
6. Sudbrack S, Ponzi D, Massuco L, et al. Prevalência de vírus respiratório em lactentes com bronquiolite aguda e sibilância recorrente em uma emergência pediátrica no sul do Brasil. *Scientia Médica*. Porto Alegre, v.17, n.3, p.124-129, jul./set., 2007.
7. *Pediatrics*. Diagnoses and management of bronchiolitis. Subcommittee on diagnosis and management of bronchiolitis. v.118, p.1774-1794, 2006.
8. Rubin FM, Fischer GB. Características clínicas e da saturação transcutânea de oxigênio em lactentes com bronquiolite viral aguda. *Jornal de Pediatria*. v.79, n.5, p.435-442. 2003.
9. Nascimento MS, Souza AV, Ferreira AVS, et al. Alta taxa de identificação viral e co-infecção em crianças com Bronquiolite aguda. *Ciência clínica*. São Paulo 2010; 65 (11): 1133-1137.
10. Semple MG, Cowell A, Dove W, et al. Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis. *J Infect Dis*. 2005 Feb 1;191(3):382-6.
11. Midulla F, Scagnolari C, Pierangeli A, et al. Respiratory syncytial virus human bocavirus and rhinovirus bronchiolitis in infants. *Arch Dis Child*. v.95, p.35-41. 2010.
12. Korppi M, Kotaniemi SN, Waris M, et al. Rhinovirus-Associated Wheezing in Infancy Comparison With Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. v.23, n.11, p. 995-999, 2004.

13. Yasuno T, Shimizu T, Maeda Y, et al. Wheezing illness caused by respiratory syncytial virus and other agents. *Pediatrics International*. v.50, p.500-505, 2008.
14. Albernaz EP, Menezes AM, César, JÁ, et al. Fatores de risco associados à hospitalização por bronquiolite aguda no período pós-neonatal. *Revista Saúde Pública*. v.37, n.4, p.485-493. 2003.
15. Papadopoulos N, Moustaki M, Tsolia M, et al. Association of Rhinovirus Infection with Increased Disease Severity in Acute Bronchiolitis. *American Journal of Respiratory and critical care medicine*. v.165, p.1285-1289, 2002.
16. Richard N, Komurian-Pradel F, Javouhey E, et al. The Impact of Dual Viral Infection in Infants Admitted to a Pediatric Intensive Care Unit Associated with Severe Bronchiolitis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, v.27, n.3, p.1-5, 2008.
17. Bont L, Van Aalderen WMC, Kimpen JLL. Long-term consequences of respiratory syncytial virus (RSV). *Pediatr Respir Rev*. p.221-227, 2000.
18. Diagnosis and Management of Bronchiolitis. *Pediatrics*. v.118, n.4, p. 1773-1793, oct. 2006.
19. Henderson J, Granell R, Heron J, et al. Associations of wheezing phenotypes in the first 6 years of life with atopy, lung function and airway responsiveness in mid-childhood. *Paediatric Asthma*. v.63, p, 974–980, 2008.
20. Bianca ACCD, Wandalsen G, Solé D. Lactente sibilante: prevalência e fatores de risco. *Rev Bras Alerg Imunopatol*. v.33, n.2, p.43-50, 2010. Bronchiolitis.
21. Fonseca CB, Grisi S. Bronchiolitis, respiratory syncytial vírus, and recurrent wheezing: what is the relationship? *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo*. v.58, n.1, p.39-48, 2003.
22. Albenaz EP, Menezes AM, César JÁ, et al. Hospitalização por bronquiolite aguda como fator de risco para sibilância recorrente. *Cad Saúde Pública*. Rio de Janeiro, v.16, n.4, p.1049-1057, out./dez., 2000.
23. Bont L, Steijn M, Van Aalderen WMC, et al. Seasonality of long term wheezing following respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. *Thorax*. v.59, p.512-516, 2012.
24. Marguet C, Lubrano M, Gueudin, M, et al. In Very Young Infants Severity of Acute Bronchiolitis Depends On Carried Viruses. *Plos One*. v.4, p.1-6, 2009.
25. Vitola LS, Piva JP, Garcia PCR, et al. Uso de surfactante exógeno no tratamento da bronquiolite viral grave: relato de caso. *Jornal de Pediatria*. v.77, n.2, p.143-147, 2011.

26. Castro-Rodriguez JA, Holberg CJ, Wright AL, et al. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1403-6.
27. Panico L, Bartley M, Marmot M, et al. Ethnic variation in childhood asthma and wheezing illnesses: findings from the Millennium Cohort Study. *Int J Epidemiol* 2007;36:1093-102.
28. Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, et al. Atopic characteristics of children with recurrent wheezing at high risk for the development of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1282-7.
29. Morgan WJ, Stern DA, Sherrill DL, et al. Outcome of asthma and wheezing in the first 6 years of life: follow-up through adolescence. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:1253-8.
30. Tadaki H, Arakawa H, Sugiyama M, et al. Association of cord blood cytokine levels with wheezy infants in the first year of life. *Pediatr Allergy Immunol* 2009;20:227-33.
31. Uzuner N, Gurcu O, Olmez D, et al. Relation between serum IL-4, IL-13 and IFN-gamma levels and recurrence of wheezing episodes in infants with acute bronchiolitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2008;19:648-51.
32. Lannero E, Wickman M, Pershagen G, et al. Maternal smoking during pregnancy increases the risk of recurrent wheezing during the first years of life (BAMSE). *Respir Res* 2006;7:3.
33. Martinez FD. Development of wheezing disorders and asthma in preschool children. *Pediatrics* 2002;109.

**Tabela 1.** Principais fatores de risco associados à bronquiolite aguda e referências que indicam cada um dos determinantes.

<b>Principais fatores de risco associados à bronquiolite aguda</b>	<b>Referências</b>
Prematuridade	Bianca et al; 2010 Albernaz et al, 2000 Morgan et al; 2005 Martinez et al, 2002
Baixa renda familiar	Bianca et al; 2010 Martinez et al, 2002
Tabagismo materno	Bianca et al;2010 Albernaz et al, 2000
Idade menor de 6 meses	Albernaz et al, 2000 Morgan et al; 2005 Martinez, 2002
Desmame precoce	Albernaz et al, 2000 Martinez, 2002
Moradia em ambientes com muitas pessoas	Albernaz et al, 2000 Lannero et al; 2006



**Tabela 2.** Principais fatores de risco associados à sibilância recorrente e referências que indicam cada um dos determinantes.

<b>Principais fatores de risco associados à sibilância recorrente</b>	<b>Referências</b>
Fatores genéticos, e o gênero masculino	Castro-Rodriguez et al; 2000
Antecedentes pessoais e familiares de atopia	Castro-Rodriguez et al 2000 Panico et al; 2007 Martinez, 2002
Sensibilização precoce a alérgenos	Guilbert et al; 2004 Martinez, 2002
Função pulmonar reduzida ao nascimento	Morgan et al; 2005 Martinez, 2002
Alterações no sistema imunológico	Tadaki et al; 2009 Uzuner et al; 2008
Tabagismo passivo Infecções respiratórias por vírus Contato com animais de estimação	Lannero et al; 2006 Martinez, 2002 Albernaz et al, 2000
Uso de fogões a lenha	Albernaz et al, 2000
Desmame precoce	Albernaz et al, 2000 Martinez, 2002

## **CAPÍTULO III**

### **3 ARTIGO ORIGINAL**

**Titulo: Comparação da gravidade das crises de sibilância em lactentes causadas por diferentes vírus respiratórios**

Autores: Jacqueline Ramos da Silva, Lidiane Alves de Azevedo Leitão, Ana Paula Souza, Leonardo Araujo Pinto

## Introdução

A bronquiolite viral aguda (BVA) é a síndrome mais comum do trato respiratório inferior em crianças menores de um ano, determinando um número expressivo de hospitalizações. Estima-se que a cada 1000 crianças, 25 necessitarão de hospitalização por bronquiolite. Destas, 1 a 2% apresentarão infecção grave necessitando de suporte respiratório<sup>1</sup>. No Rio Grande do Sul alguns estudos investigaram a incidência dos vírus da bronquiolite, demonstrando que há um predomínio importante do vírus sincicial respiratório (VSR)<sup>2,3</sup>.

A bronquiolite viral aguda é definida como uma inflamação de pequenas vias aéreas (bronquíolos) na qual ocorre aumento na secreção de muco, degradação, morte celulares, infiltrados peribronquiolar e edema da mucosa<sup>4</sup>. Essa combinação de lesão celular e edema leva a obstrução da via aérea com grau variável de intensidade que costuma ser menos tolerado em crianças menores nas quais a manifestação clínica é mais evidente<sup>5</sup>. Segundo uma diretriz publicada pela Academia Americana de Pediatria, os principais fatores de risco para bronquiolite viral aguda são a idade, prematuridade, presença de displasia broncopulmonar e cardiopatia congênita<sup>6</sup>. Outros autores apontam ainda imunodeficiência, sexo, sazonalidade, fatores ambientais e socioeconômicos, exposição ao fumo, história de atopia, resposta imunológica e agente etiológico como determinantes no impacto clínico<sup>7</sup>. Os principais agentes etiológicos historicamente associados à bronquiolite são o vírus sincicial respiratório (VSR); influenza A e B; parainfluenza 1, 2 e 3 e adenovírus. Desde sua descoberta, há 45 anos, o VSR tem sido considerado o principal patógeno causador de infecção do trato respiratório inferior em crianças jovens, responsável por 40-90% das bronquiolites<sup>8</sup>. Um estudo recente concluiu que o VSR é o mais importante causador de hospitalizações em crianças menores que dois anos e esta frequência tem triplicado nos últimos 25 anos. No Brasil, o VSR é identificado em cerca de 60% das crianças com diagnóstico de bronquiolite das quais 70-90% tem menos que um ano de idade<sup>9</sup>.

As infecções respiratórias agudas têm sido a principal causa de morte em crianças com idade inferior a cinco anos, sendo responsável por 4,5 milhões de óbitos a cada ano, a maioria destes ocorrendo em países em desenvolvimento<sup>10</sup>. No estado do Rio Grande do Sul, em 1994, as doenças respiratórias foram causa de 25% dos óbitos em crianças entre 28 e 364 dias de

vida<sup>11</sup>. No mesmo estado, em 1999, as doenças do aparelho respiratório foram responsáveis por 39% das internações em menores de um ano, e 51% das ocorridas entre um e quatro anos. A bronquiolite aguda é também a responsável pela hospitalização de cerca de dois em cada 100 lactentes<sup>12</sup>.

Dentre os numerosos agentes etiológicos das infecções respiratórias agudas (IRAs), os vírus são reconhecidos como os agentes etiológicos predominantes, particularmente em países desenvolvidos, destacando-se o vírus sincicial respiratório (VSR) em função de ser o mais frequente dentre as IRAs de vias aéreas inferiores, tais como bronquiolite e pneumonia, especialmente em crianças menores de um ano de idade<sup>13</sup>. As crianças com idade inferior a seis semanas e prematuros costumam ser mais afetados pelos vírus respiratórios<sup>14</sup>. O VSR ocorre principalmente nos meses de outono e inverno<sup>15, 16</sup>.

Alguns estudos enfatizam que crianças hospitalizadas por bronquiolite têm um risco aumentado de desenvolverem doença respiratória persistente pós-bronquiolite<sup>17, 18</sup>, caracterizada principalmente por tosse e sibilância recorrente<sup>19, 20</sup>. Estudar os fatores de risco associados à hospitalização por bronquiolite é importante, não apenas para reduzir seus riscos, mas, fundamentalmente, para subsidiar elementos para a prevenção da doença.

A caracterização da sibilância nos primeiros anos de vida é bastante heterogênea, dependendo da frequência dos episódios, da gravidade, da idade de início e dos fatores associados, como infecções virais e presença de atopia. Provavelmente, esta variedade de fatores contribui para a inexistência de um consenso na literatura médica para descrever a sibilância na infância. Apesar da diversidade de critérios, geralmente se aceita que, após três ou mais episódios de sibilância na infância, podemos afirmar que o lactente apresenta sibilância recorrente, ou a síndrome do lactente sibilante. Várias podem ser as causas de sibilância na infância e, embora a asma seja um das mais comuns, este deve ser considerado diagnóstico de exclusão em lactentes<sup>21</sup>.

Considerando que as infecções respiratórias de vias aéreas inferiores no lactente apresentam elevada morbidade, a avaliação da prevalência de vírus respiratórios é importante para o melhor entendimento das características epidemiológicas destas infecções em países em desenvolvimento<sup>22</sup>. O objetivo do presente estudo foi avaliar a incidência de infecções por vírus respiratórios, a gravidade da doença em crianças com diagnóstico clínico de BVA e sibilância recorrente, e a associação entre estas variáveis.

## **Material e Métodos**

Estudo transversal onde os pacientes foram recrutados com até 12 meses de idade, com diagnóstico de BVA ou crise de sibilância, que estavam internados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) nas unidades pediátricas - Emergência, Unidade de Cuidados Especiais (UCE), Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP) e Internação do Hospital São Lucas (HSL) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), e que tinham iniciado com sintomas de vias aéreas inferiores até 72h antes da inclusão. O estudo foi realizado no período entre setembro de 2009 a setembro de 2011. Este estudo foi associado a um ensaio clínico randomizado para avaliação da resposta a azitromicina em lactentes com BVA. Foram observados os seguintes critérios de exclusão: histórico de doenças pulmonares relacionadas à prematuridade (displasia broncopulmonar); cardiopatias; pneumopatias crônicas (fibrocísticas, em especial); início dos sintomas de vias aéreas inferiores (sibilos, tosse) superior a 72 horas; pacientes com suspeita clínica de coqueluche ou que fizeram uso de antibiótico macrolídeo previamente; pacientes de difícil seguimento (filhos de mães drogadas ou com histórico de doenças psiquiátricas) e pacientes cujo responsável recusou-se participar da pesquisa.

## **Protocolo do estudo**

As crianças internadas nas unidades pediátricas do Hospital São Lucas da PUCRS admitidas com diagnóstico de BVA ou crise de sibilância e que se adequaram aos critérios de inclusão, foram arroladas para o estudo e realizaram coleta de material biológico: aspirado (lavado) nasofaríngeo para pesquisa de vírus respiratórios. Um questionário foi aplicado pelos pesquisadores aos responsáveis pelas crianças para preenchimento de dados demográficos, história pregressa e atual, bem como para registro diário de dados clínicos e evolução dos participantes.

### **Aspirado Nasofaríngeo / Coleta de secreção**

Para realização da coleta de secreção foi utilizado o seguinte material: 1 par de luvas de procedimento; 3 mL Soro fisiológico 0,9%; sonda para aspiração traqueal nº06; máscara com elástico; seringa de 5 mL; 1 tubo tipo Falcon de 15 mL com tampa e 03 tubos de 1,5 mL eppendorf<sup>®</sup>. Para identificação dos vírus respiratórios foi coletada secreção de nasofaringe obtida através de aparato a vácuo, composto de coletor de muco acoplado a sonda de aspiração nasal. Este procedimento era executado rotineiramente na coleta de secreção de nasofaringe de lactentes, sendo um método conhecido e seguro. Este procedimento pode causar discreto desconforto durante a coleta, porém não causa sequelas. Apesar de tratar-se de um projeto de pesquisa este procedimento de coleta de secreção nasofaringe para pesquisa de vírus é realizado rotineiramente nos serviços de emergência dos referidos hospitais em casos de infecção respiratória baixa de provável etiologia viral. Para o VSR, adenovírus, parainfluenza, e influenza foi realizado testes de Imunofluorescência Direta (IFD) para detecção de antígenos na secreção de nasofaringe no laboratório que tem como objetivo a pesquisa de antígenos em células ou tecidos através de um anticorpo específico marcado com fluorocromo (conjugado). Foi utilizado o kit *Respiratory Virus Panel* da Biotrin<sup>®</sup> (Dublin, Ireland) para a pesquisa de anticorpos monoclonais grupo-específico e tipo-específico para detecção direta e confirmação de cultura. Parte deste material foi congelada em freezer a uma temperatura de - 80°C e armazenadas no Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) da instituição para pesquisas com PCR incluindo pesquisa para outros vírus respiratórios.

### **Extração do RNA**

A extração do RNA total das amostras foi realizado pelo método de TRIzol<sup>™</sup> (*Life Technologies*), de acordo com as instruções do fabricante, retirando as amostras do freezer -80°C e anotando na planilha, em seguida limpado a bancada com RNase zap e as pipetas e mantidas por 7 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados 200µl de clorofórmio nas amostras, homogeneizando por 15 segundos e mantidas em repouso de 2 a 3 minutos em temperatura ambiente e então centrifugadas a 12.000 x g durante 15 minutos a 4°C. O

sobrenadante foi transferido para tubos novos e adicionado 500µl de álcool isopropílico, agitado por inversão gentilmente a temperatura ambiente durante 10 minutos e centrifugadas a 12 000rpm por 10 minutos à 4°C. O sobrenadante foi descartado e adicionado 1ml de álcool etílico 70%. Em seguida centrifugado a 12 000rpm por 5 minutos à 4°C, removendo o sobrenadante e deixado secar o pellet por 20 minutos, acrescentando 10µl de Nuclease-Free Water. E quantificado o RNA no qubit e se não estiver maior que 14ug/ml continuar e fazer a síntese de cDNA.

### **Identificação dos vírus respiratórios por PCR em tempo real**

Com a extração de RNA, foi realizada a quantificação de RNA pelo qubit (continuar se tiver > que 14ug/ml, com a síntese de cDNA, em seguida a quantificação de cDNA pelo qubit (DNA HS). Com o PCR em tempo real da bactina, foi usado 4ng de cDNA por poço em volume máximo de 4,5ul, dando o PCR em tempo real para o RSV, Rhino e Metapneumo.

### **Identificação dos vírus respiratórios em tempo real**

#### **Vírus sincicial respiratório (VSR)**

Foi feito o cálculo da placa, para saber a quantidade de cDNA que seria pipetada na placa em concentração de 2ng para cada paciente, bem como a quantidade de água necessária para fechar um volume final de 10ul de reação, assim calculado a curva do vírus, a fim de, pipetar nos primeiros 15 poços (são 5 curvas, sempre em triplicata), com limpeza da capela com álcool 70% ligado a luz UV por 10 min. Os materiais necessários para colocar na capela foram: placa de 48 poços (cuidado para não encostar na parte inferior externa da placa pois os poços são ópticos), rack para placa, becker para descarte, gelo para colocar os reagentes (máster mix, forward, reverso e sonda 1 do vírus VSR, água e plasmídeo do vírus). A solução de trabalho na capela foi em um eppendorf 0,5ul calculado para o número de amostras, mais um controle negativo e mais uma devido ao erro de pipetagem.



Para uma reação foi utilizado: Máster MIX applied 2X (na porta da geladeira) 5,0 $\mu$ l; Forward (alíquota no freezer da geladeira) 0,1 $\mu$ l; Reverso (alíquota no freezer da geladeira) 0,1 $\mu$ l; Sonda 1(alíquota no freezer da geladeira) 0,05 $\mu$ l. O tempo total da solução de trabalho foi 5,25ul por poço quando a solução homogeneizada de trabalho no vortex, foi distribuído na placa de PCR em tempo real de 48 poços com água, no controle negativo completar com água até 10ul (não pipeta DNA no controle negativo). Fora da capela foi pipetado o cDNA que estava no gelo (homoginizar no vortex antes de pipetar), pipetado a curva do vírus, nos 15 primeiros poços (são 5 curvas, sempre em triplicata) e selado a placa com adesivo especial para placa (Applied), pressionando a placa com um aparato próprio de modo que sele cada poço firmemente, em seguida foi homogeneizado a placa no vortex, com centrifugação em placa por 3000rpm por 15min e utilizado outra placa para equilibrar, e se ainda tiver permanecido bolhas de ar nos poços centrifugar novamente.

Em seguida colocado a placa na gaveta do equipamento (StepOne Applied) assim foi ligado o equipamento de PCR (botão atrás do equipamento) e o computador conectado nele, adicionando amostras com o respectivo número do paciente com nome e data.

O vírus foi selecionado para todos os poços a serem feitos, selecionado N para o controle negativo, e U para as amostras (Unknown), Run Method, conferindo as temperaturas e a ciclagem que devem ser 50°C por 2min, 95°C por 10 minutos, 95°C por 15seg e 60°C por 1min, repetir os dois últimos ciclos por 50X. As amostras que não amplificarem para o vírus na triplicata serão consideradas negativas para o vírus, porém se ocorrer apenas uma ou duas ampliações, o PCR deverá ser repetido. Em seguida eram guardados todos os materiais utilizados, colocado as pipetas no último volume e ligado a UV da capela por 10min.

## **Rinovírus**

Para realizar o cálculo da placa e necessário calcular a quantidade de cDNA que será pipetada na placa em concentração de 2ng para cada paciente, bem como a quantidade de água necessária para fechar um volume final de 10ul de reação. Para calcular a curva do vírus, e preciso pipetar nos 15 primeiros poços (são 5 curvas, sempre em triplicata), sendo necessário limpar a capela com álcool 70% e ligar a luz UV por 10 minutos, e matérias para colocar na capela que são: placa de 48 poços (cuidado para não encostar na parte inferior externa da placa

pois os poços são ópticos), rack para placa, becker para descarte, gelo para colocar os reagentes (máster mix, forward, reverso, sonda 1 e sonda 2 do vírus Rhinovírus, água e plasmídeo do vírus). Para fazer uma solução de trabalho na capela em um eppendorf 0,5ul calculando para o número de amostras, mais um controle negativo e mais uma devido ao erro de pipetagem, sendo utilizado para uma reação: Máster MIX applied 2X (na porta da geladeira) 5,0ul, Forward (alíquota no freezer da geladeira) 0,9ul, Reverso (alíquota no freezer da geladeira 0,6ul, Sonda 1 0,6ul, Sonda 1(alíquota no freezer da geladeira) 0,2ul, Sonda 2(alíquota no freezer da geladeira) 0,2ul tendo um total da solução de trabalho 6,9ul por poço, sempre se deve homogenizar a solução de trabalho no vortex, distribuir na placa de PCR em tempo real 48 poços, distribuir a água nos 48 poços, no controle negativo completar com água até 10ul (não pipeta DNA no controle negativo). Fora da capela deve-se pipetar o cDNA que deverá estar no gelo (homogeneizar no vortex antes de pipetar), selar a placa com adesivo especial para placa (Applied), pressionando a placa com um aparato próprio de modo que sele cada poço firmemente, homogeneizando a placa no vortex, lembrando de colocar um papel toalha em baixo da placa para proteger.

Centrifugar a placa por 3000 rpm por 15 minutos na centrífuga de placa utilizando outra placa para equilibrar, caso ainda tenha bolhas de ar nos poços, centrifugar novamente. Ligar o equipamento de PCR (botão atrás do equipamento) adicionando amostras colocando o respectivo número do paciente, selecionando o vírus para todos os poços a serem feitos, selecionar N para o controle negativo, e U para as amostras (Unknown). Conferir sempre as temperaturas e a ciclagem que deve ser: 50°C por 2min, 95°C por 10 minutos, 95°C por 15seg e 60°C por 1min, repetir os dois últimos ciclos por 45X. As amostras que não amplificarem para o vírus na triplicata serão consideradas negativas para o vírus, porém se ocorrer apenas uma ou duas ampliações, o PCR deverá ser repetido.

### **Metapneumovírus**

Constituiu na realização do cálculo da placa e da quantidade de cDNA que seria pipetada na placa em concentração de 2ng para cada paciente, como a quantidade de água necessária para fechar um volume final de 10ul de reação, calculou-se a curva do vírus, a fim de, pipetar nos 15 primeiros poços (são 5 curvas, sempre em triplicata). Foi feita a limpeza na capela com álcool

70% e ligado a luz UV por 10 minutos, foram necessários para colocar na capela: placa de 48 poços (cuidado para não encostar na parte inferior externa da placa pois os poços são ópticos), rack para placa, becker para descarte, gelo para colocar os reagentes (máster mix, Forward, Reverso, Sonda 1 do vírus Metapneumovírus, água e plasmídeo do vírus). Realizado uma solução de trabalho na capela em um eppendorf 0,5ul calculando para o número de amostras, mais um controle negativo e mais uma devido ao erro de pipetagem, para uma reação utilizou-se Máster MIX applied 2X (na porta da geladeira) 5,0µl, Forward (alíquota no freezer da geladeira) 0,6µl, Reverso (alíquota no freezer da geladeira) 0,6µl, Sonda 1(alíquota no freezer da geladeira) 0,5µl com um total da solução de trabalho 6,7ul por poço. Com homogeneização da solução de trabalho no vortex, distribuir na placa de PCR em tempo real de 48 poços, com água nos 48 poços, no controle negativo completar com água até 10ul (não pipeta DNA no controle negativo). Com a capela fora pipetar o cDNA que deverá estar no gelo (homogeneizar no vortex antes de pipetar), selar a placa com adesivo especial para placa (Applied), pressionando a placa com um aparato próprio de modo que sele cada poço firmemente, homogeneizar a placa no vortex, lembrando de colocar um papel toalha em baixo da placa para proteger, centrifugar a placa por 3000 rpm por 15min na centrífuga de placa utilizando outra placa para equilibrar. A placa foi colocada na gaveta do equipamento (StepOne Applied) cuidando para não encostar na parte inferior externa da placa. Amostras devem ser adicionadas colocando o respectivo número do paciente, selecionando o vírus para todos os poços a serem feitos, selecionando N para o controle negativo, e U para as amostras (Unknown), as temperaturas sempre devem ser: 50°C por 2min, 95°C por 10 minutos, 95°C por 15seg e 60°C por 1min, repetir os dois últimos ciclos por 40X.

As amostras que não amplificarem para o vírus na triplicata devem ser consideradas negativas para o vírus, porém se ocorrer apenas uma ou duas ampliações, o PCR deverá ser repetido.

## **Ética**

O estudo foi submetido e aprovado pelo CEP-PUCRS e às normas de bioética em pesquisa. Os responsáveis pelos pacientes estiveram de pleno acordo com sua realização, através de preenchimento e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os dados

médicos e os resultados individuais serão confidenciais e não poderão ser utilizadas para outros objetivos que não estejam descritos no TCLE, bem como a identidade dos participantes não será revelada em nenhum momento. As amostras de material biológico foram armazenadas apenas com seu registro. Somente os pesquisadores poderão identificar a origem das amostras.

### **Análise estatística**

Foram analisados os dados de incidência/prevalência de infecções por vírus respiratórios, o tempo de internação hospitalar e o tempo de uso de oxigenioterapia pelas crianças, bem como as variáveis demográficas coletadas através do questionário. Para descrição dos dados, foi utilizada média e desvio padrão, ou mediana e intervalo interquartil para as variáveis quantitativas; porcentagem para as variáveis qualitativas; Para associação entre as variáveis, foi utilizado teste t de *Student* para amostras independentes, para comparação de média das variáveis contínuas entre 2 grupos e ANOVA para comparar as diferenças (variâncias) entre três grupos independentes, ao menos. O nível de significância foi de  $p \leq 0,05$ . A análise dos dados foi realizada com o programa SPSS versão 17.0.

### **Resultados**

Entre setembro de 2009 a setembro de 2011, foram incluídos 127 pacientes com infecção respiratória e que permaneceram hospitalizados por mais de 12 horas. No caso de 5 pacientes alguns dados de historia pregressa não foram fornecidos pelos pais, gerando perdas. Tivemos uma média de idade de 2,9 meses de idade ( $dp \pm 2,6$ ), sendo 52,8% (67/122) do sexo masculino. O índice da presença de irmãos no domicilio foi alto em nossa amostra, com 58,3% (78/122) das crianças que tinham convívio com irmãos. Os principais dados em relação as características descritivas dos pacientes estão apresentados na tabela 1.

Na tabela 2, demonstramos os dados relativos a historia medica pregressa dos pacientes: 15% (19/122) já tinham internações previas. Em relação a episódios de sibilância prévios foram

identificados 14,2% (18/122) dos casos. Quanto a história familiar de atopia, 30% (38/122) das crianças tinham mães com história de rinite alérgica.

Com relação às variáveis clínicas mostradas na tabela 3, observamos que 93,7% (119/122) das crianças apresentavam tiragem (retrações costais, subcostais e intercostais); e que 95,3% (121/122) das crianças utilizaram O<sub>2</sub> (oxigenioterapia suplementar); a saturação transcutânea de oxigênio (SpO<sub>2</sub>) na chegada foi de 91,51% (dp ±18,5). Com relação à necessidade de internação em unidades tratamento intensivo ou de cuidados de gravidade intermediária, verificamos que 5,5% (7/122) dos pacientes foram encaminhados à Unidade de Cuidados Especiais Pediátrica (UCEP). As taxas de uso de antibióticos foram de 31,5% (n=122) durante a internação, enquanto que para 1,6% foi prescrito corticosteroide por via oral.

Na tabela 4 e 5 são mostrados os resultados das coletas das amostras de secreção nasal para exame de IFD e PCR. O número de vírus positivos foi de 71,7% do total das amostras coletadas (91/122). Com relação à prevalência dos vírus pesquisados, o vírus sincicial respiratório (VSR) foi o mais frequente com 51,2% dos casos (65/91), seguido de influenza (VI) com 11,8% (15/91), vírus parainfluenza (VP) com 7,9% (10/91), e adenovírus (VA) com 2,4% (3/91). Além destas amostras 5 para rinovírus e 3 para metapneumovírus.

Quando utilizado o tempo de internação como um marcador de gravidade, pacientes com VSR ficaram, em média,  $6,74 \pm 4,386$  dias internados, enquanto pacientes com infecção por outros vírus ficaram apenas  $4,97 \pm 2,6394$  dias internados, em média, sendo esta diferença significativa (tabela 5). Mas quando utilizado outros possíveis fatores de risco na análise, não foi observada uma diferença significativa.

## **Discussão**

As doenças respiratórias agudas (DRAs), particularmente as infecções respiratórias agudas (IRAs), são uma das causas mais comuns de morbimortalidade na infância apesar do decréscimo observado na mortalidade por IRAs. Na América Latina, dados da OPAS/OMS referentes à prevalência e incidência das IRAs demonstram ser esta a causa principal de consulta ambulatorial pediátrica, chegando a representar 40 a 60 % dos motivos de consulta neste grupo. Dados semelhantes são observados em relação às consultas pediátricas nos meses de inverno, no

Estado do Rio Grande do Sul (RS)<sup>13</sup>. Este estudo foi realizado com lactentes com idade inferior a um ano, com diagnóstico de bronquiolite viral aguda ou sibilância recorrente. Estas características clínicas contribuíram para o elevado índice de detecção de vírus respiratórios na secreção de nasofaringe desses pacientes.

Nossos resultados mostram uma alta taxa de identificação viral em lactentes, sendo o VSR o principal agente detectado. Observando-se o VSR como um dos agentes mais envolvidos com a internação. Estes achados também indicam que as utilizações de métodos de biologia molecular podem modificar significativamente o panorama etiológico, mas o VSR continua sendo o agente de maior relevância clínica para pacientes com bronquiolites moderadas e graves, que motivam idas a emergência e admissão hospitalar.

Nesta pesquisa foram investigados quatro vírus respiratórios (Influenza, Parainfluenza, Adenovírus e Vírus Sincicial Respiratório) através da técnica IFD que conferiu positividade de 71,7% do total das amostras coletadas. Este achado está de acordo com a literatura, que refere uma taxa de identificação viral de 50 a 70%, com esta técnica. O VSR, habitualmente, é o vírus mais prevalente em lactentes hospitalizados com BVA<sup>23,24</sup>. O estudo de Garcia et al, destaca que foi encontrada elevada taxa de positividade para VSR (50% a 80%) em suas amostras de crianças menores de 2 anos, com diagnóstico de BVA<sup>23</sup>. Esta informação corrobora com nossos achados que identificaram infecção por VSR em alto índice nas amostras estudadas. Com relação à prevalência dos demais vírus pesquisados, influenza (VI) foi o segundo vírus mais prevalente (11,8%), seguidos parainfluenza (VP) com 7,9% e adenovírus (VA) com 2,4%. Dado este que contraria outros estudos, que identificaram o parainfluenza como o segundo vírus mais prevalente<sup>23</sup>. Estudos mostram que a infecção do VSR é um fator de risco importante para desenvolver sibilância recorrente. Mas por outro lado outros estudos têm sugerido que as crianças com bronquiolite associado com outro vírus do que VSR, especialmente rinovírus tem maior risco de desenvolver sibilância recorrente<sup>24</sup>.

Este estudo mostra o quadro clínico característico de crianças com infecção respiratória de vias aéreas inferiores. A maioria (91%) dos pacientes apresentou tiragem como um dos principais achados clínicos. A tiragem é classificadamente entendida como um sinal de doença que requer tratamento hospitalar e é marcador de severidade.

A gravidade dos pacientes incluídos no estudo foi moderada, embora 95% das crianças tenham feito uso de oxigênio suplementar. Do mesmo modo, o curto período de internação

também aponta para infecções menos severas, não haja disponibilidade dos dados de seguimento de longo prazo após a alta hospitalar para avaliar comorbidades que eventualmente pudessem estar associadas em médio e longo prazo. No estudo de Shoeder, em algumas crianças (26%) a duração do internamento foi prolongada pela percepção de necessidade de oxigênio suplementar baseada nos valores da oximetria de pulso, o que sugere que em alguns casos este é um parâmetro sobrevalorizado<sup>25</sup>.

Vários estudos tem analisado a possibilidade de a gravidade da doença ser variável em função dos vírus isolados<sup>26</sup>. Marguet refere que as crianças com infecção com VSR se apresentam com BVA mais grave, comparativamente as crianças com infecção por RV e MPVh<sup>26</sup>. Nosso estudo observou diferença significativa com relação à gravidade da doença entre crianças infectadas pelo (VSR) com o tempo de internação hospitalar. Como mostram outros estudos a gravidade da doença pode ser definida pelo tempo de internação e exigência de oxigênio suplementar, cuidados intensivos, e ventilação mecânica<sup>23</sup>.

A imprecisão dos dados clínicos e radiológicos para definir a etiologia das infecções das vias respiratórias inferiores nesta faixa etária pode contribuir para a persistência do uso de antibióticos, sendo que neste estudo (31%) fizeram uso. Meissner refere que, aproximadamente, 25% das crianças com infecção por VSR apresentaram evidências radiográficas de atelectasias ou consolidação consistentes com uma possível infecção bacteriana<sup>27</sup>. Alguns estudos sugerem que o conhecimento dos resultados da pesquisa viral pode ajudar na decisão ou não de introduzir a antibioterapia<sup>28, 29,30</sup>. Geralmente após a identificação de um vírus em secreções das vias respiratórias superiores, este é considerado como agente causal da infecção das vias respiratórias inferiores.

Como foi possível observar neste estudo, medidas como a administração de oxigênio suplementar, para manter uma oxigenação adequada e aspiração de secreções nasofaríngeas foram às medidas de intervenção mais frequentemente usadas nas crianças que necessitaram de hospitalização.

Quanto ao tratamento instituído, foram verificados níveis mais baixos de prescrição de antibióticos nas crianças quando comparado a dados da literatura<sup>33,34</sup>. No entanto, este estudo foi conduzido em hospital-escola, onde há maior rigor acadêmico e equipe de especialistas em pneumologia pediátrica estruturada no serviço, o que pode ter contribuído pra menos prescrições de antibióticos.

Fatores de risco associado à sibilância e asma na infância mostram que tanto atopia familiar quanto atopia pessoal são fatores de risco para asma subsequente<sup>40</sup>. Lactentes com antecedentes pessoais de eczema ou rinite alérgica apresentam risco cinco vezes maior de sibilância persistente ou de início tardio<sup>41</sup>. Entre nossos pacientes, notamos que grande percentual apresenta história familiar, chamando a atenção o número de mães com rinite alérgica e asma. Entretanto, neste estudo, predisposição hereditária para asma brônquica não se mostrou como explicação provável para o desfecho, pois tanto os casos quanto os controles apresentaram fatores hereditários similares, e este achado é semelhante ao de outros<sup>42, 39,43</sup>.

Fatores relacionados à aglomeração tais como “número de pessoas no quarto da criança”, “presença de outra criança menor de cinco anos na residência” e “tamanho da família” têm sido citados como de risco para aumentar a exposição a vírus<sup>44</sup>. Estes fatores têm sido mais apontados como risco para a hospitalização por bronquiolite, mas pouco avaliados para sibilância recorrente.

Pacientes hospitalizados mostram, em geral, uma predominância de infecção pelo VSR em relação aos demais vírus. Ao contrário dos estudos anteriormente citados, um estudo prévio realizado analisou pacientes com doença mais leve que frequentavam creche. De um total de 129 amostras, foi observada a seguinte distribuição: 52% positivas para rinovírus, 15% para enterovírus, 12% para adenovírus, 11% para parainfluenza, 6% para influenza, e apenas 5% para VSR. Esta diferença parece demonstrar o aumento da positividade do VSR em amostras de pacientes com infecções de maior gravidade<sup>45</sup>. O clima da região pode interferir na prevalência dos vírus. Estudos realizados em climas temperados com predominância de meses mais frios mostram uma maior positividade para o VSR em amostras de aspirado nasofaríngeo coletadas<sup>46</sup>. Em um estudo realizado por Vieira et al, encontraram 41,8% de positividade para VSR em pacientes admitidos com sintomas de vias aéreas inferiores. Neste mesmo estudo, quando analisados apenas os lactentes menores de 1 mês, as taxas de positividade subiram para 92,9%<sup>47</sup>. Calegari et al, encontraram 54% das amostras de crianças com diagnóstico de BVA ou pneumonia positivas para VSR, com predomínio de crianças menores de 1 ano (90%)<sup>48</sup>. D’Elia et al. Também analisou a positividade do VSR de crianças menores de 1 ano que internaram, sendo em sua maioria do sexo masculino<sup>49</sup>. A predominância do sexo masculino na positividade geral para vírus, demonstrada em nosso estudo, é um fato bem documentado por diversos autores em várias partes do mundo<sup>50, 51,52</sup>.



## Referências Bibliográficas

1. Greensill J, McNamara PS, Dove W, Flanagan B, Smyth RL, Hart CA. Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Emerg Infect Dis*. V.9, n.3, p.372-5, 2003.
2. Fischer, GB. Rosov, T. Doenças pulmonares em pediatria: diagnóstico e tratamento. 1999, Atheneu: São Paulo.
3. Fischer, GB. Fatores prognósticos para bronquiolite viral aguda, in UFRGS. 1994. Tese de doutorado: Porto Alegre.
4. Laitinen A, Laitinen LA. Airway morphology: epithelium/basement membrane. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150(5pt 2): S14-S17.
5. Gaillard D, Jouet JB, Egretau L, plotkowski L, Zahm JM, Benali R, et al. Airway epithelial damage and inflammation in children with recurrent bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150(3): 810-7.
6. Prevention of respiratory syncytial virus infections: indications for the use of palivizumab and update on the use of RSV-IGIV. American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases and Committee of Fetus and Newbom. *Pediatrics* 1998; 102(5):1211-6.
7. Welliver RC. Review of epidemiology and clinical risk factors for severe respiratory syncytial virus (RSV) infection. *J Pediatr* 2003; 143(5 suppl):S112-S117.
8. Collins PL, Graham BS. Viral and host factors un human respiratory syncytial virus pathogenesis. *J Virol* 2007 10.
9. Deshpande SA, Northern V. The clinical and health economic burden of respiratory syncytial virus disease among children under 2 years of age in a defined geographical area. *Arch Dis Child* 2003;88(12):1065-9.
10. Cherian T, John TJ, Simoes E, Steinhoff MC, John M. Evaluation of simple clinical signs for the diagnosis of acute lower respiratory tract infection. *Lancet* 1988;125-8.
11. Estatísticas de Saúde: Mortalidade, 1994. Porto Alegre: Secretaria da Saúde e do Meio Ambiente/ SUS. Núcleo de Informação em Saúde; 1996. v. 20.
12. Sung RYT, Chan RCK, Tam JS, Cheng AFB, Murray HGS. Epidemiology and aetiology of acute bronchiolitis in Hong Kong infants. *Epidemiol Infect* 1992;108:147-54.

13. Macedo SE, Menezes AM, Post P, Albernaz E, Knorst M. Infecção pelo vírus respiratório sincicial em crianças menores de um ano de idade internadas por doença respiratória aguda em Pelotas, RS. *J Pneumol*. 2003;29(1):4-8.
14. Berman S. Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. *Rev Infect Dis*. 1991;13 Suppl 6:S454-62.
15. Filippell MB, Rearick T. Respiratory syncytial virus. *Nurs Clin North Am*. 1993;28(3):651-71.
16. Diniz EM, Vieira RA, Ceccon ME, Ishida MA, Vaz FA. Incidence of respiratory viruses in preterm infants submitted to mechanical ventilation. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2005;47(1):37-44.
17. McConnochie KM, Roghmann KJ. Predicting clinically significant lower respiratory tract illness in childhood following mild bronchiolitis. *Am J Dis Child* 1985;139:625-31.
18. Milner AD, Murray M. Acute bronchiolitis in infancy: treatment and prognosis. *Thorax* 1989;44:1-5.
19. McConnochie KM, Roghmann KJ. Bronchiolitis as a possible cause of wheezing in childhood: new evidence. *Pediatrics* 1984;74:1-10.
20. Panitch HB, Callahan CW, Schidlow DV. Bronchiloitis. *Clin Chest Med* 1993;14:715-31.
21. Bianca ACCD, Wandalsen G, Solé D. Lactente sibilante: prevalência e fatores de risco. *Rev Bras Alerg Imunopatol*. v.33, n.2, p.43-50, 2010. Bronchiolitis.
22. Amantea, S.L., Diagnóstico etiológico das infecções do trato respiratório inferior - sempre um desafio. *Jornal de pediatria*, 1999. 75(5).
23. García, C.G, Bhore R, Soriano-Fallas A, Trost R M. Risk Factors in Children Hospitalized With RSV Bronchiolitis Versus Non-RSV Bronchiolitis. *Pediatrics* 2010;126:e1453; originally published online November 22, 2010.
24. Valkonen H, Waris M, Ruohola A, Ruuskanen O, Heikkinen T. Recurrent wheezing after respiratory syncytial virus or non-respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy: a 3-year follow-up. *Allergy* 2009; 64: 1359–1365.
25. Schroeder AR, Marmor AK, Pantell R, Newman Tb. Impact of pulse oximetry and oxygen therapy on length of stay in bronchiolitis hospitalizations. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004 Jun; 158:527 – 30.
26. Marguet C, Lubrano M, Gueudin M, Le Roux P, Deschildre A, et al. (2009) In Ver Young Infants Severity of Acute Bronchiolitis Depends On Carried Viruses. *PLoS ONE* 4(2):1-6.

27. Meissner HC. Uncertainty in the management of viral lower respiratory tract disease. *Pediatrics* 2001 Oct;108(4):1000-3.
28. American academy of Pediatrics. Diagnosis and Management of Bronchiolitis: clinical practice guideline. *Pediatrics* 2006 Oct;118:1774-93.
29. Bordley WC, Viswanathan M, King VJ, Sutton SF, Jackman AM, Streling L, et al. Diagnosis and testing in bronchiolitis. Asystematic review. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004;158:119-26.
30. Christakis DA, Cowan CA, Garrison MM, Molteni R, Marcuse E, Zerr DM. Variation in Inpatient diagnostic testing and management of bronchiolitis. *Pediatrics* 2005 Apr;115(4):878-84.
31. Bronchiolitis in children. A national guideline. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). [online].2012 Nov. Available from:URL://WWW.SIGN.AC:UK.
32. Panitch HB. Respiratory syncytial virus bronchiolitis: supportive care therapies designed to overcome airway obstruction. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2003;22:S83-8.
33. Gjelstad S, Fetveit A, Straand J, Dalen I, Rognstad S, Lindbaek M. Can antibiotic prescriptions in respiratory tract infections be improved? A cluster-randomized educational intervention in general practice - The Prescription Peer Academic Detailing (Rx-PAD) Study [NCT00272155]. *BMC Health Services Research*. 2006;6(1):75.
34. Little P, Rumsby K, Kelly J, Watson L, Moore M, Warner G, et al. Information leaflet and antibiotic prescribing strategies for acute lower respiratory tract infection: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2005 Jun 22;293(24):3029-35.
35. Martinez, F D, Wayne, J M, Wright, A L, Holberg, C J, Taussig, L M & The Group Health Medical Associated Personnel. Diminished lung function as a predisposing factor for wheezing respiratory illness in infants. *New England Journal of Medicine*. 1988, 319:1112-1117.
36. Martinez, F D, Wright, A L, Taussig, L M., Holberg, C J, Halonen, M, Morgan, W J & The Group Health Medical Associated Personnel. Asthma and wheezing in the first six years of life. *New England Journal of Medicine*. 1995, 332:133-138.
37. Martinez, F D, Wright, A L, Taussig, L M, Holberg, C J, Halonen, M, Morgan, W & The Group Health Medical Associated Personnel. Bronchiolitis and asthma in infancy and early childhood. *Thorax*. 1996, 51 (Sup. 2): 60-64.
38. Kattan, M, Keens, T G, Lapierre, J G, Levison, H, Bryan, C & Reilly, B J. Pulmonary function abnormalities in symptom-free children after bronchiolitis. *Pediatrics*. 1977 ,59:683-688.

39. Sims, D G, Downham, M A P S, Gardner, P S, Webb, J K G & Weightman, D. 1978. Study of 8-year-old children with a history of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy. *BMJ*, 1978 1:11-14.
40. Dela Bianca AC, Wandalsen GF, Solé D. Lactente sibilante: prevalência e fatores de risco. *Rev bras alerg imunopatol* 2010;33:43-50.
41. Rusconi F, Galassi C, Corbo GM, Forastiere F, Biggeri A, Ciccone G, et al. Risk factors for early, persistent, and late-onset wheezing in young children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1617-22.
42. Sigurs, N, Bjarnason, R, Sigurbergsson, F, Kjellman, B. & Björkstén, B. Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: A prospective cohort study with matched controls. *Pediatrics*, 1995, 95:500-505.
43. Sims, D G, Gardner, P S, Weightman, D, Turner, M W & Soothill, J F. Atopy does not predispose to RSV bronchiolitis or postbronchiolitic wheezing. *BMJ*, 1981, 282:2086-2088.
44. Pullan, C R & Hey, E N. Wheezing, asthma, and pulmonary dysfunction 10 years after infection with respiratory syncytial virus in infancy. *BMJ*, 1982, 284:1665-1669.
45. Souza LS, Ramos EA, Carvalho FM, et al. Viral respiratory infections in young children attending day care in urban Northeast Brazil. *Pediatr Pulmonol*. 2003;35:184-91.
46. Moura FA, Nunes FS, Silva GB, et al. Respiratory syncytial virus infection in Northeastern Brazil: seasonal trends and general aspects. *Am J Trop Med Hyg*, 2006; 74:S165-7.
47. Vieira SE, Stewien KE, Queiroz DA, et al. Clinical patterns and seasonal trends in respiratory syncytial virus hospitalizations in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*, 2001; 43:125-31.
48. Calegari T, Queiroz DAO, Yokosawa J, et al. Clinical epidemiological evaluation of respiratory syncytial virus infection in children attend in a public hospital in Midwestern Brazil. *Braz J Infect Dis*, 2005; 9:156-61.
49. D'Elia C, Siqueira MM, Portes SA, et al. Respiratory syncytial virus- associated lower respiratory tract infections in hospitalized infants. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2005;38:7-10.
50. Welliver RC. Respiratory syncytial virus and other respiratory viruses. *Pediatr Infect Dis J*, 2003; 22:S6-12.
51. Simoes EA, Carbonell-Estrany X. Impact of severe disease caused by respiratory syncytial virus in children living in developed countries. *Pediatr Infect Dis J*, 2003;22:S13-20.
52. Stensballe LG, Devasundaram JK, Simoes EAF. Respiratory syncytial virus epidemics: the ups and downs of seasonal virus. *Pediatr Infect Dis J*, 2003; 22:S21-32.

**Tabela 1.** Características descritivas da amostra de lactentes com crise de sibilância.

Características	
Idade em meses, média $\pm$ dp	2,9 $\pm$ 2,6
Sexo masculino, n (%)	67 (52,8%)
Peso(Kg) na inclusão, média $\pm$ dp	5,31 $\pm$ 2,18
Frequenta creche atual, n (%)	6 (4,7%)
Frequenta creche anterior, n (%)	6 (4,7%)
Irmãos em casa, n (%)	78 (58,3%)

**Tabela 2.** Historia médica pregressa dos pacientes incluídos no estudo.

Características prévias	Pacientes = n (%)
Internação hospitalar (dias)	19 (15,0)
Historia de sibilância	18 (14,2)
Historia de rinite alérgica do mãe	38 (29,9)
Historia de rinite alérgica do pai	28 (22,0)
Historia de asma na mãe	30 (23,6)
Historia de asma no pai	14 (11,0)

**Tabela 3.** Características clínicas dos pacientes incluídos no estudo.

Característica clínica	Média e desvio padrão
Tempo de internação hospitalar (dias)	5,91 ± 3,24
Frequência respiratória na admissão	48,24 ± 14,82
Frequência cardíaca na admissão	141,6 ± 35,21
SPO2 admissão na admissão	91,51 ± 18,56
Tiragem, n (%)	119 (93,7)
Ventilação mecânica, n (%)	2 (1,6)
Unidade de cuidados especiais, n (%)	7 (5,5)
Uso de antibiótico, n (%)	40 (31,5)
Uso de corticóide oral, n (%)	40 (31,5)

**Tabela 4.** Resultados da investigação etiológica por imunofluorescência e PCR dos pacientes incluídos.

Imunofluorescência	N	%	Resultado PCR	N	%
Negativo	42	28			
Testes positivos	101	71,7			
VSR	65	51,2	VSR	22	17,3
Adenovírus	03	2,4	Rinovírus	5	3,9
Parainfluenza	10	7,9	MPVh	3	2,4
Influenza	15	2,8			

MPVh = metapneumovírus humano



**Tabela 5.** Relação entre os fatores de risco estudados e o tempo de internação, usado como marcador de gravidade da doença.

<b>Desfecho</b>	<b>Fator em estudo</b>		<b>Significância (p)</b>
	VSR	Outros vírus	
Internação em dias	6,74± 4,39	4,97±2,63	0,005
	HF asma positiva	HF asma negativa	
Internação em dias	5,57±1,67	6,27± 1,67	0,336
	Sexo masculino	Sexo feminino	
Internação em dias	5,97 ± 4,00	6,36 ± 3,50	0,536
	Com irmãos	Sem irmãos	
Internação em dias	5,90±4,37	6,31± 3,14	0,334

Dados apresentados em média e desvio padrão

## **CAPITULO IV**

#### 4 CONCLUSAO

Nosso estudo contribui para incrementar os dados epidemiológicos de infecção respiratória viral no sul do Brasil. O entendimento da epidemiologia das infecções virais, e do impacto de todos os vírus nas internações hospitalares dos lactentes é importante para a implantação de programas de prevenção, com intenção de reduzir a ainda elevada morbidade e mortalidade destas infecções. Este estudo demonstrou uma associação entre VSR e um maior tempo de internação, quando comparados aos pacientes VSR-negativos. São necessários novos estudos para melhor entendimento destes achados. Estratégias como isolar pacientes VSR positivos poderia diminuir o tempo de internação hospitalar dos lactentes com infecção respiratória e seriam benefícios resultantes destes novos estudos epidemiológicos nesta área.