

Bronquiolite aguda por rinovírus em lactentes jovens

Rhinovirus and acute bronchiolitis in young infants

Paulo M. C. Pitrez¹, Renato T. Stein¹, Larissa Stuermer², Izoete S. Macedo³,
Virgínia M. Schmitt⁴, Marcus H. Jones¹, Eurico Arruda⁵

Resumo

Objetivo: Determinar a prevalência de infecção por rinovírus em lactentes menores de 6 meses hospitalizados por bronquiolite aguda.

Métodos: Foram selecionados de forma prospectiva lactentes hospitalizados com diagnóstico de bronquiolite aguda, no Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, no período entre maio e setembro de 2002. Foi pesquisada a presença de vírus respiratórios no aspirado nasofaríngeo (ANF), através de imunofluorescência direta para vírus sincicial respiratório, parainfluenza, influenza e adenovírus. Para detecção do rinovírus, foi utilizada a reação de transcrição reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase, específicas para picornavírus, seguidas de hibridização com sonda específica para rinovírus.

Resultados: Foram selecionados 45 lactentes hospitalizados com diagnóstico de bronquiolite aguda. A mediana da idade dos pacientes selecionados foi de 2 meses. Foram encontradas amostras positivas para vírus respiratórios em 35/45 (77,8%) casos. Foi detectado mais de um vírus em 7/35 (20%) amostras. Das amostras positivas, o vírus sincicial respiratório foi detectado em 33/35 (94%) casos. O rinovírus foi detectado em 6/35 casos (17%).

Conclusões: O rinovírus foi o segundo agente mais frequentemente detectado em secreção nasal de lactentes jovens hospitalizados por bronquiolite aguda.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(5):417-20: Rinovírus, vírus sincicial respiratório, bronquiolite aguda.

Introdução

A bronquiolite aguda (BA), infecção viral das vias aéreas inferiores mais comum no lactente, é classicamente definida como o primeiro episódio de sibilância. Os agentes etiológicos mais comumente associados a essa doença são

Abstract

Objective: To determine the prevalence of rhinovirus infection in hospitalized young infants with acute bronchiolitis.

Methods: Hospitalized children with acute bronchiolitis admitted to the *Hospital São Lucas/PUCRS* between May and September 2002 were selected prospectively. Nasopharyngeal samples were assayed for respiratory syncytial virus, parainfluenza, influenza and adenovirus by immunofluorescence. For rhinovirus test a reverse transcription-polymerase chain reaction for picornavirus was used, followed by hybridization with rhinovirus specific probes.

Results: Forty-five patients were selected for the study. The median age of the subjects studied was 2 months. Positive samples for respiratory viruses were found in 35/45 (77.8%) subjects and 7/35 (20%) patients had dual infection. Respiratory syncytial virus was detected in 33/35 (94%) cases. Rhinovirus was detected in 6/35 patients (17%).

Conclusions: Rhinovirus was the second most common agent detected in nasal secretions from young infants hospitalized with acute bronchiolitis.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(5):417-20: Rhinovirus, respiratory syncytial virus, acute bronchiolitis.

o vírus sincicial respiratório (VSR), parainfluenza, influenza e adenovírus. O VSR é, em geral, responsável por 60-80% dos casos de BA durante os meses de outono e inverno¹⁻³. Na última década, outros vírus têm sido também associados a essa doença, tais como rinovírus (RV), enterovírus, metapneumovírus e, mais recentemente, o coronavírus⁴⁻⁸.

O RV é reconhecidamente a causa mais freqüente de infecção de vias aéreas superiores em crianças⁹⁻¹⁰. Além disso, as infecções de vias aéreas superiores por esse vírus têm sido associadas a episódios de exacerbação de asma em crianças maiores e adultos¹¹⁻¹². Entretanto, Papadopoulos et al.¹³ demonstraram que o RV pode causar infecção das vias aéreas inferiores. Alguns estudos têm demonstrado uma associação entre infecção pelo RV e sibilância no lactente^{4,5,7,14,15}. Entretanto, a prevalência do RV em lactentes jovens hospitalizados por BA ainda não foi especificamente demonstrada.

1. Professor, Departamento de Pediatria, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS.
 2. Médica pediatra, Hospital São Lucas, PUCRS, Porto Alegre, RS.
 3. Biomédica, Laboratório de Virologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FAMERP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP.
 4. Doutora. Professora, Faculdade de Farmácia, PUCRS, Porto Alegre, RS.
 5. Doutor. Professor, Departamento de Biologia Celular, Molecular e Biogênicos, FAMERP, USP, São Paulo, SP.
- Fonte financiadora: PUCRS, FAPERGS, FAPESP e CNPq.

Artigo submetido em 26.01.05, aceito em 25.04.05.

Como citar este artigo: 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.

No Brasil, estudos epidemiológicos sobre etiologia de BA confirmam os resultados de estudos em países desenvolvidos^{2,16}. Em relação à infecção por RV, nenhum estudo de prevalência foi realizado em lactentes hospitalizados com BA no Brasil. Souza *et al.*¹⁰, em um estudo longitudinal em crianças provenientes de uma creche em Salvador, demonstraram uma prevalência elevada de infecção por RV e uma associação freqüente com sibilância em lactentes entre 2 e 6 meses de vida. Além disso, Camara *et al.*¹⁴ demonstraram uma prevalência de 20% de infecção por RV em crianças menores de 2 anos com sibilância atendidos em sala de emergência de São Paulo.

A BA é uma doença de elevada morbidade em todo o mundo, estando fortemente associada à sibilância recorrente durante a infância¹⁷. O melhor entendimento da associação de BA e sibilância recorrente na infância é essencial para a prevenção e tratamento desse problema. Da mesma forma, o papel dos diferentes vírus respiratórios causadores de BA no desenvolvimento de asma não é claro. Alguns estudos encontraram uma associação de sibilância do lactente causada por VSR e RV com o desenvolvimento de asma e atopia^{18,19}. Assim, a prevalência de infecção por RV em BA deve ser melhor estabelecida, visando um melhor entendimento do seu impacto em termos de saúde pública. O estudo de seus possíveis mecanismos de ação nas vias aéreas no início da vida pode aumentar o conhecimento em relação à sibilância recorrente da infância.

O objetivo do presente estudo é determinar a prevalência de infecção por RV em lactentes jovens hospitalizados por BA em um hospital universitário da Região Sul do Brasil. Como objetivos secundários, pretende-se comparar as características dos pacientes com infecção por RV e VSR e avaliar a freqüência de recorrência de sibilância no período de 12 meses nos lactentes estudados.

Métodos

Seleção da amostra

Foram selecionados lactentes com menos de 6 meses de idade com BA, hospitalizados no Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), no período entre maio e setembro de 2002. A BA foi definida como o primeiro episódio de sibilância, associado à presença de sinais e sintomas de infecção viral aguda (coriza e tosse). Foram excluídas crianças com diagnóstico prévio de fibrose cística, cardiopatia congênita, imunodeficiências ou doença pulmonar crônica da prematuridade.

Após o episódio agudo, os pacientes foram acompanhados no ambulatório de Pneumologia Pediátrica durante 12 meses. Durante as consultas, foram anotados dados relacionados à evolução clínica. Para aumentar a adesão dos pacientes ao seguimento clínico, contatos telefônicos foram realizados, nos intervalos das consultas ambulatoriais, por um membro da equipe. A presença de sibilância na primeira consulta foi considerada como parte do episódio agudo inicial. O diagnóstico de sibilância recorrente

foi definido como dois ou mais episódios de sibilância após a primeira consulta.

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital São Lucas da PUCRS. Todos os responsáveis pelos pacientes que participaram do estudo leram e assinaram termo de consentimento informado.

Coleta e processamento das amostras

O ANF foi coletado com uma sonda de aspiração número 6, introduzida na nasofaringe e conectado a um sistema de aspiração e frasco de coleta. Todas as coletas foram realizadas nas primeiras 48 horas da admissão hospitalar. A sonda, ao final da aspiração, foi lavada com 1,5 ml de soro fisiológico. O material foi então enviado para o laboratório para detecção dos vírus respiratórios.

Detecção de vírus respiratórios

Para pesquisa de VSR, parainfluenza, influenza e adenovírus, foi utilizado o método de imunofluorescência direta (Chemicon, EUA).

Para detecção do RV, foi utilizado o método de RT-PCR (reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa) com *primers* específicos para a região 5' não traduzida do genoma de picornavírus. Os amplicons resultantes foram, em seguida, testados por hibridização em placas de microtitulação, conforme métodos previamente descritos²⁰.

Análise estatística

As variáveis qualitativas foram analisadas através do teste de qui-quadrado ou exato de Fisher. Para análise das variáveis quantitativas, foram utilizados os testes *t* e de Mann-Whitney. O nível de significância utilizado foi de 0,05.

Resultados

No período do estudo, foram incluídos 45 lactentes hospitalizados com diagnóstico de BA, cujas características são apresentadas na Tabela 1. A mediana da idade dos pacientes selecionados foi de 2 meses. A maioria dos pacientes necessitou de oxigenioterapia (71%), com curto tempo de internação (mediana: 2 dias).

Tabela 1 - Características dos pacientes estudados

	Pacientes estudados (n = 45)
Idade, meses	2 (1,2-3,6) *
Sexo, masculino (%)	25 (56)
Raça, caucasiana (%)	29 (64,4)
História familiar de atopia (%)	33 (73,3)
Tabagismo domiciliar (%)	31 (68,9)
Necessidade de oxigenioterapia (%)	32 (71,1)
Tempo de hospitalização, dias	2 (1-4,3) *
Ventilação mecânica (%)	5 (11)

* Mediana (interquartil 25-75%).

As amostras foram positivas para vírus respiratórios em 35/45 (77,8%) casos, e mais de um vírus foi detectado em 7/35 (20%) amostras. As freqüências dos vírus respiratórios pesquisados são apresentadas na Tabela 2. O VSR foi detectado em 33/35 (94%) casos. O RV foi o segundo agente etiológico mais freqüente nos pacientes estudados (6/35 casos, 17%).

Tabela 2 - Freqüências dos vírus respiratórios em aspirado nasofaríngeo (ANF) de lactentes hospitalizados com bronquiolite aguda (n = 35)

	Vírus detectados no ANF n (%)
Vírus sincicial respiratório	33 (94,3)
Rinovírus	6 (17,1)
Influenza	1 (2,9)
Adenovírus	2 (5,7)
Parainfluenza	0

As características dos pacientes com infecção por RV e VSR são apresentadas na Tabela 3. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação às variáveis estudadas. Dos lactentes com infecção por RV, quatro casos apresentaram infecção associada com VSR. A idade desse grupo também foi semelhante à do grupo total de pacientes.

Tabela 3 - Características dos pacientes com infecção por rinovírus (RV) e vírus sincicial respiratório (VSR) em lactentes hospitalizados com bronquiolite aguda

	RV n = 6	VSR n = 33
Idade, meses *	1,6 (1,2-2,7)	2,3 (1-3,7)
Sexo, masculino	4	16
História familiar de atopia	4	23
Tabagismo domiciliar	5	21
Necessidade de oxigenioterapia	6	24
Ventilação mecânica	1	4

* Valores expressos em mediana (interquartil 25-75%).

Trinta e três lactentes foram seguidos durante os 12 meses de acompanhamento clínico. Houve uma perda de 26% no seguimento dos pacientes estudados. Como os dados desta questão do estudo eram simplesmente descritivos, essa perda significativa de pacientes durante o seguimento não resulta em nenhuma limitação do estudo do ponto de vista estatístico. Amostras para detecção de vírus não foram coletadas nas consultas ambulatoriais. Desse grupo, 24 (73%) pacientes apresentaram sibilância recorrente, e dos pacientes com infecção por RV, três casos (dois associados à infecção por VSR) apresentaram esse quadro clínico.

Discussão

A infecção por RV foi reconhecida durante vários anos como uma doença somente de vias aéreas superiores. Na última década, o RV tem sido associado a exacerbações de asma em crianças e adultos, e em pacientes com fibrose cística e displasia broncopulmonar^{11,21-23}. Descobrir se o RV pode causar BA por estabelecer infecção nas vias aéreas inferiores ou estar associado a essa situação por mecanismos indiretos é essencial para o entendimento dos mecanismos fisiopatogênicos dessa doença. Papadopoulos et al.¹³ demonstraram que o RV é capaz de causar infecção das vias aéreas inferiores em adultos saudáveis e com asma.

Estudos prévios têm demonstrado que o RV pode ser encontrado nas vias aéreas de lactentes com sibilância, com prevalências entre 19-29%^{4,5,7,15}. No presente estudo, o RV foi o segundo agente mais freqüentemente detectado em secreção respiratória (17% dos casos) de lactentes hospitalizados por BA, numa freqüência comparável aos estudos mencionados. Além disso, demonstramos também que o RV pode ser detectado isoladamente em lactentes com BA nos primeiros meses de vida, conforme pode se observar pela idade dos pacientes estudados (mediana: 2 meses de idade). Souza et al.¹⁰, em um estudo longitudinal em crianças provenientes de uma creche em Salvador, identificaram RV em 35% dos casos com sintomas de vias aéreas inferiores sem febre, sendo esse vírus mais prevalente do que o VSR. Esses resultados podem sugerir que talvez o RV seja associado a quadros clínicos de vias aéreas inferiores de menor gravidade nos primeiros anos de vida, reforçando a importância de estudá-lo em doenças obstrutivas brônquicas da infância.

A seleção dos pacientes deste estudo foi realizada através de uma amostra de conveniência, não sendo possível estimar o número de perdas de lactentes não incluídos no estudo. No entanto, na opinião dos autores, a ausência dessa informação não altera a interpretação dos resultados, considerando o delineamento do estudo.

A possibilidade de o RV não ser o agente patogênico do episódio de BA não pode ser totalmente excluída no presente estudo. Um estudo prévio realizado no Brasil não encontrou uma associação significativa entre infecção por RV e sibilância nos primeiros anos de vida¹⁴. A detecção de moléculas do genoma do RV na secreção respiratória desses lactentes poderia ser explicada pela persistência do vírus na via aérea, sugerindo infecções sucessivas (*viral shedding*)⁵. No entanto, esse tem sido considerado o melhor método de detecção de infecção por RV, e a ausência de outros vírus mais comuns em BA em alguns pacientes favorece esse tipo de interpretação dos resultados.

A detecção de mais de um vírus (co-infecção) em episódios de sibilância na infância tem sido documentada em estudos epidemiológicos nesse grupo de pacientes^{2,5,14,16}. A associação de infecções por RV e VSR em lactentes já foi demonstrada^{4,5,7,14}. Papadopoulos et al.⁵ encontraram, inclusive, uma associação da presença desses dois agentes com gravidade dos episódios de BA. No presente estudo, identificamos essa associação em 4/6 casos com infecção por RV, corroborando os achados deste

último estudo. Entretanto, o número restrito de casos não permitiu análises mais detalhadas em relação à associação com gravidade dos episódios de BA. Além disso, a ausência de diferenças significativas observadas entre as características dos lactentes com BA por RV e VSR deve ser interpretada com cautela, devido ao pequeno número de pacientes estudados.

A observação de que um percentual significativo de crianças com BA apresenta sibilância recorrente nos primeiros anos de vida foi consistentemente demonstrada¹⁷. Além do mais, foram observadas tanto uma relação de características atópicas com a presença de infecção por RV na sibilância da infância, quanto uma associação entre infecção por RV em lactentes sibilantes e posterior desenvolvimento de asma^{15,19}. Essas evidências analisadas conjuntamente com nossos resultados reforçam a importância de investigar a relação entre RV e BA, sibilância do lactente e o desenvolvimento de asma em estudos subsequentes.

A frequência menor em nossa amostra de outros agentes etiológicos, como o adenovírus e o parainfluenza, é compatível com os relatos de estudos similares^{12,16}. O número limitado de pacientes no presente estudo foi provavelmente consequência dos critérios rigorosos que utilizamos para definir o episódio agudo como o primeiro da vida da criança e a utilização de um único centro, mas acreditamos que ele seja representativo da população de lactentes que visitam as salas de atendimento de emergência e enfermarias hospitalares na cidade de Porto Alegre.

Concluindo, os resultados deste estudo indicam que o RV pode ser detectado isoladamente ou em associação com VSR em BA em lactentes hospitalizados nos primeiros meses de vida. Estudos prospectivos e multicêntricos são necessários para esclarecer o papel que o RV desempenha como causa de BA e seu impacto no desenvolvimento de asma ou sibilância recorrente na infância.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Dra. Daniela Ponzi, pelo auxílio no recrutamento dos pacientes estudados e à Profa. Ana Lígia Bender, pela realização dos testes de imunofluorescência para pesquisa de vírus respiratórios.

Referências

- Dubois DB, Ray CG. Viral infections of the lower respiratory tract. In: Taussig LM, Landau LI, editors. *Pediatric respiratory medicine*. 1st ed. St. Louis: Mosby; 1999. p. 572-9.
- Straliotto SM, Siqueira MM, Muller RL, Fischer GB, Cunha ML, Nestor SM. Viral etiology of acute respiratory infections among children in Porto Alegre, RS, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35:283-91.
- Nascimento JP, Siqueira MM, Suttmoller F, Krawczuk MM, de Farias V, Ferreira V, et al. Longitudinal study of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro: occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1991;33:287-96.
- Andreolletti L, Lesay M, Deschildre A, Lambert V, Dewilde A, Wattré P. Differential detection of rhinovirus and enteroviruses RNA sequences associated with classical immunofluorescence assay detection of respiratory virus antigens in nasopharyngeal swabs from infants with bronchiolitis. *J Med Virol*. 2000;61:341-6.
- Papadopoulos NG, Moustaki M, Tsolia M, Bossios A, Astra E, Prezerakou A, et al. Association of rhinovirus infection with increased disease severity in acute bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:1285-9.
- Greensill J, McNamara PS, Dove W, Flanagan B, Smyth RL, Hart CA. Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Emerg Infect Dis*. 2003;3:372-5.
- Jartti T, Lehtinen P, Vuorinen T, Osterback R, van den Hoogen B, Osterhaus AD, et al. Respiratory picornaviruses and respiratory syncytial virus as causative agents of acute expiratory wheezing in children. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:1095-101.
- Ebihara T, Endo R, Ma X, Ishiguro N, Kikuta H. Detection of human coronavirus NL63 in young children with bronchiolitis. *J Med Virol*. 2005;75:463-5.
- Watt D. The common cold: a review of the literature. *Eur J Intern Med*. 2004;15:79-88.
- Souza LS, Ramos EA, Carvalho FM, Guedes VM, Souza LS, Rocha CM, et al. Viral respiratory infections in young children attending day care in urban Northeast Brazil. *Pediatr Pulmonol*. 2003;35:184-91.
- Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. Respiratory viruses and exacerbation of asthma in adults. *BMJ*. 1993;307:982-6.
- Rakes GP, Arruda E, Ingram JM, Hoover GE, Zambrano JC, Hayden FG, et al. Rhinovirus and respiratory syncytial virus in wheezing children requiring emergency care. IgE and eosinophil analyses. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:785-90.
- Papadopoulos N, Bates PJ, Bardin PG, Papi A, Leir SH, Fraenkel DJ, et al. Rhinovirus infect the lower airways. *J Infect Dis*. 2000;181:1875-84.
- Camara AA, Silva JM, Ferriani VP, Tobias KR, Macedo IS, Padovani MA, et al. Risk factors for wheezing in a subtropical environment: role of respiratory viruses and allergen sensitization. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113:551-7.
- Korppi M, Kotaniemi-Syrjanen A, Waris M, Vainionpää R, Reijonen TM. Rhinovirus-associated wheezing in infancy: comparison with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23:995-9.
- Suttmoller F, Ferro ZP, Asensi MD, Ferreira V, Mazzei IS, Cunha BL. Etiology of acute respiratory tract infections among children in a combined community and hospital study in Rio de Janeiro. *Clin Infect Dis*. 1995;20:854-60.
- Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ, et al. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med*. 1995;332:133-8.
- Sigurs N, Bjarnason R, Fridrik S, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:1501-7.
- Kotaniemi-Syrjanen A, Vainionpää R, Reijonen TM, Waris M, Korhonen K, Korppi M. Rhinovirus-induced wheezing in infancy - the first sign of childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:66-71.
- Arruda E, Pitkaranta A, Witek TJ Jr, Doyle CA, Hayden FG. Frequency and natural history of rhinovirus infections in adults during autumn. *J Clin Microbiol*. 1997;35:2864-8.
- Johnston SL, Pattermore PK, Sanderson G, Smith S, Lampe F, Josephs L, et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ*. 1995;310:1225-9.
- Collinson J, Nicholson KG, Cancio E, Ashman J, Ireland DC, Hammersley V, et al. Effects of upper respiratory tract infections in patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 1996;51:1115-22.
- Chidekel AS, Rosen CL, Bazzay AR. Rhinovirus infection associated with serious lower respiratory illness in patients with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16:43-7.

Correspondência:

Paulo Márcio Condessa Pitrez
Av. Ipiranga, 6690
Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS, 2º andar
CEP 90610-000 – Porto Alegre, RS
Tel./Fax: (51) 3384.5104
E-mail: pmpitrez@puccrs.br