

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS MÉDICAS: PEDIATRIA

**EOSINÓFILOS E PROTEÍNA CATIÔNICA
EOSINOFÍLICA EM BRONQUIOLITE VIRAL
AGUDA**

HELENA MÜLLER

Orientador: Gilberto Bueno Fischer

A apresentação desta dissertação é exigência do Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil, 2000.

FICHA CATALOGRÁFICA

M958e

Müller, Helena

Eosinófilos e proteína catiônica eosinofílica em bronquiolite viral aguda. / Helena Müller; orient. Gilberto Bueno Fischer. Porto Alegre: UFRGS, 2000.

fls. 83

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina: Curso de Pós-Graduação em Medicina: Pediatria.

1. Eosinófilos : Bronquiolite Viral Aguda. 2. Proteína Catiônica Eosinofílica : Bronquiolite Viral Aguda. I. Gilberto Bueno Fischer. II. Título.

CDU: 616.233-02-053.2

CDD: 616.23302

Dedico este trabalho a meus pais, Flávia e Rodolfo, que sempre foram grandes incentivadores de meu crescimento pessoal e profissional, a meu marido Ricardo que se aliou a eles no incentivo e esteve ao meu lado durante toda a trajetória deste mestrado e a meu filho Lucas que veio encher nossa vida de alegrias durante a execução deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gilberto Bueno Fischer, pela confiança, compreensão e orientação durante a execução deste trabalho

Às Dras. Rejane Maria Oravec e Beatriz Von Poser pela realização das dosagens séricas da proteína catiônica eosinofílica, etapa fundamental da realização deste trabalho

Ao Dr. Júlio Diehl, diretor do Laboratório Weinmann de Porto Alegre, pela autorização da realização das dosagens de PCE naquele laboratório

À Dra. Lúcia Pellanda pelo auxílio na análise dos dados e pelas preciosas contribuições

À Dra. Kátia Maria Giugno, pelo auxílio na coleta dos dados, por todo apoio, incentivo e colaboração na realização deste trabalho

Aos Drs. Ângela Bagatini, Luciano Guerra e Cláudia Costa e Silva pelo auxílio na coleta dos dados

Aos funcionários do Laboratório de Bioquímica do HCSA pela colaboração na centrifugação e armazenamento dos soros

À equipe de enfermagem do HCSA pela colaboração na colheita de sangue dos pacientes

A Marta da Silva Rainho, do Laboratório Abbott, pela doação dos *kits* do *TEST PACK RSV*

Aos médicos residentes e contratados do setor de Emergência do HCSA pelo auxílio na captação dos pacientes

Aos Drs. Janaína Costa, Gabriel Pheula e Leonardo Piber pelo auxílio na coleta dos dados e elaboração dos questionários

A Marília Muller pela colaboração na formatação final e traduções

Aos colegas das UTIs Pediátricas do HCSA e HCPA pelo apoio nas trocas e substituições de plantões durante a fase final de redação deste trabalho, em especial às Dras. Maria Antônia Soledade, Patrícia Lago, Cinara Andreolio e Leandra Girardi

RESUMO

Introdução: Bronquiolite viral aguda (BVA) é a doença respiratória mais grave de lactentes previamente hígidos. Ocorre em epidemias anuais durante os meses de inverno, sendo uma causa freqüente de hospitalizações nesta faixa etária. O agente etiológico mais freqüente é o vírus respiratório sincicial (VRS). É uma doença benigna na maioria dos casos, mas pode apresentar-se de forma grave em alguns pacientes e freqüentemente produz seqüelas após o episódio agudo. Nos últimos anos vários estudos têm procurado elucidar a patogênese da BVA e suas seqüelas, e mecanismos imunológicos e de resposta inflamatória têm sido pesquisados. O papel dos eosinófilos e suas proteínas citotóxicas, como a Proteína Catiônica Eosinofílica (PCE), têm sido investigado na BVA, com resultados inconclusivos. O objetivo do presente estudo é determinar a contagem de eosinófilos no sangue periférico e a concentração sérica de PCE em pacientes internados com BVA e comparar com diferentes graus de gravidade.

Pacientes e Métodos: Foi realizado um estudo com lactentes menores de 1 ano que internaram no Hospital da Criança Santo Antônio (HCSA) no período de junho a agosto de 1999 com quadro clínico de BVA com os seguintes critérios de inclusão: freqüência respiratória maior ou igual a 60 movimentos por minuto, ou saturação da hemoglobina (satHb) menor do que 95%. Foram excluídos pacientes com história prévia de doença respiratória inferior e pacientes com uso prévio de corticosteróides. Os pacientes elegíveis para o estudo foram avaliados nas primeiras 12 horas de internação. Foi colhida amostra de secreção nasofaríngea para pesquisa de vírus respiratórios. Foi colhida amostra de sangue para hemograma e reservada uma amostra para determinação da PCE. Foram realizadas comparações do número de eosinófilos e concentração de PCE entre grupos de pacientes conforme a gravidade, sexo e faixa etária. Foram utilizados como critérios de gravidade a satHb em ar ambiente e a prevalência de ventilação mecânica. A análise estatística foi realizada através dos testes de Mann-

Whitney e Kruskal-Wallis, e teste de correlação de Spearman para as associações. Foi considerado α (alfa) crítico de 5% para significância estatística.

Resultados: Foram estudados 58 pacientes, 32 (55%) eram do sexo masculino. A idade variou de 0 a 10 meses, com média de 2 meses. Dezenove pacientes foram classificados como graves de acordo com a satHb, inferior a 90%. Sete pacientes necessitaram ventilação mecânica, resultando numa prevalência de 12%. A prevalência do VRS foi de 62% entre os pacientes nos quais foi realizada pesquisa virológica (48 pacientes). A contagem de eosinófilos sanguíneos variou de 0 a 1104, com mediana de 100. O número de eosinófilos foi maior nos lactentes menores de 3 meses em relação aos maiores de 3 meses ($p=0.052$). Verificou-se que o número de eosinófilos foi menor nos pacientes com saturação mais baixa ($p<0.05$). Os pacientes que necessitaram ventilação mecânica também apresentaram menor número de eosinófilos, porém sem significância estatística. A concentração sérica de PCE na amostra estudada variou de 2 a 114 $\mu\text{g/litro}$, com mediana em 6 $\mu\text{g/l}$. Não houve correlação com satHb nem com ventilação mecânica e PCE.

Conclusões: Houve associação entre baixo número de eosinófilos e gravidade da BVA medida pela satHb. Não houve associação entre PCE e gravidade. Estudos adicionais são necessários para elucidar melhor o papel de eosinófilos e seus derivados na determinação da gravidade da bronquiolite.

ABSTRACT

Introduction: Acute viral bronchiolitis is the most severe respiratory disease during infancy. It occurs every year during the winter months as an epidemic, being a frequent cause of hospital admission. The most frequent etiologic agent is the respiratory syncytial virus (RSV). It is a benign disease in most cases but it might be severe in some patients. Besides, some patients may suffer from subsequent wheezing after the acute disease. In the past few years several studies have tried to explain the pathogenesis of acute viral bronchiolitis and immunological mechanisms as well as inflammatory response have been researched. The role of eosinophils and its cytotoxic proteins, like eosinophil cationic protein (ECP), have been investigated and inconclusive results have been found. The aim of the present study is to determine peripheral blood eosinophil counts and ECP serum concentration in hospitalized patients with acute viral bronchiolitis and to compare with different degrees of severity.

Patients and Methods: A study was performed on infants under 12 months of age who were admitted to Hospital da Criança Santo Antônio from June to August, 1999 presenting acute viral bronchiolitis. The inclusion criteria were: respiratory rate higher or equal to 60 breaths per minute or haemoglobin oxygen saturation lower than 95%. Patients with previous history of lower respiratory disease and patients with previous use of corticosteroids were excluded. The patients eligible for the study were evaluated in the first 12 hours of admission. A sample of nasopharyngeal secretion was taken for virological testing. A blood sample for hemogram was obtained and stored for ECP determination. Associations of eosinophil counts and ECP concentration among groups of patients were performed according to severity, gender and age. The statistical analysis was performed with Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests, and Spearman correlation for the associations.

Results: Fifty-eight patients were studied, being 32 male (55%). The age ranged from 0 to 10 months and the mean age was 2 months. Severity was defined by haemoglobin saturation in room air and prevalence of mechanical ventilation. Nineteen patients were classified as severe according to haemoglobin saturation (lower than 90%). Seven patients needed mechanical ventilation, resulting in a prevalence of 12%. Among patients on whom the virological testing had been performed (48 patients), the prevalence of RSV was 62%. Eosinophil counts ranged from 0 to 1104 and the median value was 100. Eosinophil counts were higher in infants < 3 months old when compared to infants > 3 months of age ($p=0.052$). Eosinophil counts were lower in patients with lower saturation ($p<0.05$). Patients who needed mechanical ventilation also showed lower eosinophil counts, but it was not statistically significant. ECP serum concentration ranged from 2 to 114 $\mu\text{g/l}$, and the median value was 6 $\mu\text{g/l}$. ECP was not associated with neither saturation nor mechanical ventilation.

Conclusion: A correlation was found between low eosinophil counts and severity of acute bronchiolitis measured by haemoglobin saturation. There was no correlation between ECP and severity. Additional studies are necessary to better explain the role of eosinophils and its proteins to determine the severity of bronchiolitis.

LISTA DE ABREVIATURAS

BVA – BRONQUIOLITE VIRAL AGUDA

PCE – PROTEÍNA CATIÔNICA EOSINOFÍLICA

VRS – VIRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL

HCSA – HOSPITAL DA CRIANÇA SANTO ANTÔNIO

SatHb – SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO DA HEMOGLOBINA

AIQ – AMPLITUDE INTER-QUARTIL

LISTA DE TABELAS

TABELA I – Características dos pacientes excluídos	25
TABELA II – Frequência dos principais achados clínicos	27
TABELA III – SatHb em ar ambiente	28
TABELA IV – Gravidade dos pacientes conforme a SatHb	28
TABELA V – Eosinófilos e tempo de oxigenoterapia	34
TABELA VI – Eosinófilos e virologia	34
TABELA VII – PCE de acordo com sexo	36
TABELA VIII- Concentrações de PCE conforme a gravidade	37
TABELA IX – PCE e história familiar	39

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Distribuição dos pacientes conforme a idade	26
FIGURA 2 – Tempo de permanência no hospital	29
FIGURA 3 – Distribuição do número de eosinófilos no sangue periférico	30
FIGURA 4 – Distribuição dos eosinófilos de acordo com a faixa etária	31
FIGURA 5 – Distribuição dos eosinófilos de acordo com a SatHb	32
FIGURA 6 – Distribuição de eosinófilos conforme a gravidade de acordo com SatHb	32
FIGURA 7 – Correlação entre número de eosinófilos e SatHb	33
FIGURA 8 – Eosinófilos e ventilação mecânica	33
FIGURA 9 – Eosinófilos e história familiar de asma	35
FIGURA 10 – Distribuição das concentrações séricas de PCE	36
FIGURA 11 – Correlação entre níveis séricos de PCE e idade	37
FIGURA 12 – Correlação entre PCE e SatHb	38
FIGURA 13 – Correlação entre PCE e eosinófilos	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 ASPECTOS HISTÓRICOS	1
1.2 ETIOLOGIA	2
1.3 EPIDEMIOLOGIA	3
1.4 FISIPATOLOGIA	6
1.5 APRESENTAÇÃO CLÍNICA	7
1.6 PATOGENIA	9
2. JUSTIFICATIVA	16
3. OBJETIVOS	17
4. PACIENTES E MÉTODOS	18
4.1 DELINEAMENTOS DE PESQUISA	18
4.2 POPULAÇÃO	18
4.3 LOGÍSTICA	19
4.4 EXAMES LABORATORIAIS	22
4.5 AVALIAÇÃO DA GRAVIDADE	23
4.6 ACOMPANHAMENTO.....	23
4.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	24
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
5. RESULTADOS	25
5.1 POPULAÇÃO	25
5.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS NA INTERNAÇÃO	26
5.3 AVALIAÇÃO DA GRAVIDADE	27
5.4 PREVALÊNCIA DO VRS	29
5.5 CONTAGEM DE EOSINÓFILOS NO SANGUE PERIFÉRICO	29
5.6 CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE PCE	35

5.7 CORRELAÇÃO ENTRE EOSINÓFILO E PCE	39
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÕES	50
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
9. ANEXOS	62

1 INTRODUÇÃO

Bronquiolite viral aguda (BVA) é uma doença inflamatória de origem viral que causa obstrução das vias aéreas inferiores em crianças, especialmente no primeiro ano de vida. É a doença obstrutiva aguda mais comum nesta faixa etária e é uma causa muito freqüente de hospitalizações em regiões de clima temperado durante os meses de inverno. É uma doença geralmente benigna e auto-limitada, mas produz morbidade significativa em lactentes pequenos e pacientes portadores de doenças crônicas, além de, freqüentemente, causar seqüelas a longo prazo, como sibilância recorrente ou até, em alguns casos graves, bronquiolite obliterante.

1.1 Aspectos históricos:

A bronquiolite viral aguda foi descrita originalmente com o nome de bronquite aguda catarral por Holt, em 1898 (WHOL & CHERNICK, 1978; PRICE, 1990), sendo posteriormente chamada de BVA obstrutiva capilar, BVA asmática, broncopneumonia intersticial (WHOL & CHERNICK, 1978; ENGEL & NEWNS, 1940). Desde o relato de Holt até o início da década de 40 poucas são as citações bibliográficas sobre a BVA, que passou a ser tratada como uma doença específica e com esta denominação somente em 1940 (ENGEL & NEWNS, 1940). Em 1956 foi descoberto o vírus *Chimpanzee Coriza Agent* (BEEM et al., 1960; REILLY et al., 1961), posteriormente denominado Vírus Respiratório Sincicial (VRS) e associado à BVA. No início da década de 60 foram descritos dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da BVA e alguns aspectos relacionados ao tratamento (REILLY et al., 1961; BEEM et al., 1962;

CHANOCK et al., 1961). Na época, alguns pesquisadores testaram vacinas com o VRS, relatando uma pior evolução entre os pacientes vacinados (CHIN et al., 1969).

Nos últimos trinta anos, centralizou-se a investigação no entendimento da patogenia da infecção pelo VRS, em suas conseqüências tardias como hiper-reatividade brônquica, na produção de uma vacina para prevenir a doença em crianças com maior risco e no desenvolvimento de tratamentos que reduzam a morbidade e a mortalidade. Sem dúvida o surgimento das Unidades de Terapia Intensiva Pediátricas e dos aparelhos de ventilação mecânica foram de extrema importância para o manejo de lactentes com BVA e insuficiência ventilatória, com redução significativa da mortalidade.

Apesar das inúmeras pesquisas e dos avanços no entendimento dessa doença, a BVA atualmente é a principal causa de hospitalização em lactentes saudáveis em países desenvolvidos (MILNER 1989; RAKSHI & COURIEL, 1994; WALSH et al., 1997; SIMOES, 1999).

1.2 Etiologia:

O agente etiológico mais freqüente é o vírus respiratório sincicial (VRS), que é isolado em 70 a 80% dos casos de BVA (WHOL & CHERNICK, 1978; MEERT et al., 1989; PRICE, 1990; LUGO & NAHATA, 1993; MULHOLLAND et al., 1990; WELLIVER & WELLIVER, 1993; ANDERSEN, 1998;). Em menor freqüência podem ser encontrados outros vírus como parainfluenza, influenza, adenovírus e também o micoplasma.

O VRS pertence à família Paramyxoviridae, apresenta no seu genoma uma cadeia simples de RNA. Seu tamanho é de 120 a 300 nm. Na superfície viral encontram-se várias proteínas, sendo as glicoproteínas F e G as mais importantes por induzirem a formação de anticorpos neutralizantes. A proteína G é a responsável pela

aderência do vírus à célula do hospedeiro e a F pela fusão das membranas celulares e penetração intracelular do vírus, processo pelo qual o VRS infecta células adjacentes e forma sincício (TOMS et al.,1989; RUUSKANEN & OGRA,1993; WALSH et al.,1997; LEVY & GRABER, 1997; KOPELMAN & MIYOSHI, 1999). Existem duas variedades antigênicas de VRS, A e B, que circulam juntas, porém uma predomina sobre a outra em determinados surtos epidêmicos (HENDRY et al.,1989; McCONNOCHIE et al.,1990; WALSH et al., 1997;). A importância clínica e epidemiológica dessas variantes ainda não foi identificada, embora alguns estudos sugiram diferenças entre os subtipos quanto à gravidade da BVA, com maior gravidade geralmente atribuída ao subtipo A (TOMS, 1990; McCONNOCHIE et al.,1990; STRALIOTTO et al.,1994; WALSH et al., 1997).

O VRS é altamente contagioso, permanecendo viável por vários dias após a infecção e por até seis horas em fômites e superfícies. A transmissão ocorre principalmente através do contato manual com secreções, sendo a transmissão respiratória por partículas em aerossol bem menos significativa. O vírus é secretado na secreção nasofaríngea por 5 a 10 dias, mas há relatos de 3 a 4 semanas em pacientes imunodeprimidos e lactentes pequenos. (HALL et al., 1981; HALL & DOUGLAS, 1981; RUUSKANEN & OGRA, 1993; LEVY & GRABER, 1997; DARVILLE & YAMAUCHI, 1998).

1.3 Epidemiologia:

A descrição da epidemiologia da BVA baseia-se, principalmente, na doença causada pelo VRS. As epidemias são anuais, ocorrendo durante os meses de inverno nos países de clima temperado e durante a estação das chuvas nos locais de clima tropical (FISCHER, 1994; SIMOES, 1999). Estima-se um número de 90000 hospitalizações nos

Estados Unidos durante os meses de inverno devido à infecção pelo VRS (GLEZEN et al., 1986; WALSH et al., 1997; LEVY & GRABER, 1997).

A prevalência real da BVA em lactentes não é conhecida, pois os estudos publicados baseiam-se em pacientes hospitalizados, que representam os casos mais graves. Infecção pelo VRS ocorre em 50 a 70% dos lactentes durante o primeiro ano de vida, com pico de incidência entre 2 e 6 meses, e praticamente 100% são infectados até os dois anos de idade (GLEZEN et al., 1986; RUUSKANEN & OGRA, 1993; WALSH et al., 1997; LEVY & GRABER, 1997;). Entre 1 e 2% dos lactentes no primeiro ano de vida hospitalizam por BVA, e destes, cerca de 5 a 7% evoluem para insuficiência respiratória com necessidade de ventilação mecânica (GLEZEN et al., 1986; LEBEL et al., 1989; LUGO & NAHATA, 1993; FISCHER, 1994; YOUNG et al., 1995; ALBERNAZ, 1997). Os lactentes pequenos são especialmente propensos a desenvolver bronquiolite e pneumonia com infecção pelo VRS, enquanto crianças maiores e adultos geralmente manifestam apenas infecção de vias aéreas superiores. Algumas razões são implicadas, como a maior resistência das vias aéreas dos lactentes e a proteção parcial conferida a adultos e crianças por infecções prévias (PRICE, 1990; NADAL & OGRA, 1990). A infecção primária após o primeiro ano de vida geralmente é mais leve, com menor risco de hospitalização (GLEZEN et al., 1986). Infecções repetidas pelo VRS são comuns em todas as idades, e infecção prévia confere imunidade parcial, diminuindo a gravidade nas reinfecções (HENDERSON et al., 1979; KAUL et al., 1981; RUUSKANEN & OGRA, 1993; SIMOES, 1999).

A BVA tem sido estudada mais frequentemente em países desenvolvidos, onde os fatores de risco estão bem estabelecidos, mas podem apresentar características diferentes em países em desenvolvimento devido a condições nutricionais e ambientais diversas (FISCHER, 1994; ALBERNAZ, 1997). Os fatores de risco conhecidos para

doença grave por VRS são idade menor que 3 meses, prematuridade, presença de doenças crônicas como cardiopatias, fibrose cística e displasia broncopulmonar, e imunossupressão congênita ou adquirida (WHOL & CHERNICK, 1978; MILNER 1989; MEERT et al., 1989; WALSH et al., 1997; SIMOES, 1999). Há também outros fatores de risco relatados, como baixo nível socio-econômico, exposição à fumaça de cigarro, superpopulação domiciliar, desnutrição e ausência de aleitamento materno, que parecem causar maior impacto sobre a doença nos países em desenvolvimento (ALBERNAZ, 1997; WALSH et al., 1997; SIMOES, 1999; KOPELMAN & MIYOSHI, 1999).

A mortalidade da BVA situa-se em torno de 1% nos países desenvolvidos, mas chega a 7% nos países em desenvolvimento (WHOL & CHERNICK, 1978; McMILLAN et al., 1988; WELLIVER & WELLIVER, 1993; LUGO & NAHATA, 1993; MULHOLLAND et al., 1990; PRICE, 1990; WANG et al., 1995; SIMOES, 1999;).

No Brasil há poucas informações epidemiológicas sobre esta doença, mas sua prevalência, nos estados do sul do país, deve equiparar-se àquela de países com características climáticas semelhantes. Fischer, em 1991, estudou 213 lactentes que hospitalizaram por BVA num hospital pediátrico em Porto Alegre, RS. Observou que o maior número de hospitalizações ocorreu durante os meses de inverno, e que a maioria das crianças apresentava menos de 4 meses de idade. O VRS foi o principal agente etiológico identificado. Idade inferior a 4 meses e baixo peso de nascimento foram fatores associados com maior gravidade. Neste estudo, a prevalência de reinternações em 60 dias após o episódio agudo de bronquiolite foi de 25% (FISCHER, 1994). Um estudo de coorte realizado em Pelotas, RS, acompanhou todas as crianças nascidas no ano de 1993 e registrou que 2% dos lactentes foram hospitalizados no primeiro ano de

vida por bronquiolite. Foram identificados os seguintes fatores de risco para hospitalização: baixa renda familiar, prematuridade, exposição a fumo materno e tempo de aleitamento materno inferior a 1 mês. (ALBERNAZ, 1997).

1.4 Fisiopatologia:

O período de incubação da bronquiolite pelo VRS é de dois a sete dias. A inoculação do vírus ocorre na mucosa nasal e conjuntival principalmente através de contato com secreções e objetos contaminados. A replicação viral é inicialmente limitada ao trato respiratório superior. O vírus infecta as células epiteliais através da fusão de células infectadas com células não infectadas e formação de sincício. Subseqüentemente ocorre rápida replicação viral no epitélio das vias aéreas inferiores, causando necrose das células ciliadas dos bronquíolos e proliferação de células não-ciliadas (WHOL & CHERNICK, 1978; LUGO & NAHATA, 1993; LEVY & GRABER, 1997; DARVILLE & YAMAUCHI,1998). Ocorre também infiltração de linfócitos e macrófagos nos espaços peribrônquicos e entre as células epiteliais, causando edema da submucosa. A combinação de edema das vias aéreas, aumento na produção de muco, perda do epitélio ciliado e descamação celular determina a obstrução dos bronquíolos. A obstrução parcial da luz bronquiolar leva à hiperinsuflação, enquanto obstrução total produz atelectasias. Esta obstrução é a principal característica da doença. Ocorre aumento da resistência ao fluxo aéreo, principalmente na expiração, causando alterações nas trocas gasosas, manifestado por hipoxemia nas fases iniciais da doença. Fatores anatômicos contribuem para a maior gravidade da doença, como o menor calibre das vias aéreas em lactentes pequenos e o número reduzido dos poros de Kohn e dos canais de Lambert, o que diminui a possibilidade de ventilação colateral e favorece o aparecimento de atelectasias. Durante a fase de recuperação, ocorre

regeneração do epitélio bronquiolar em poucos dias. (WHOL & CHERNICK, 1978; WELLIVER & WELLIVER, 1993; PANITCH et al., 1993; DARVILLE & YAMAUCHI, 1998).

1.5 Apresentação clínica:

O quadro clínico inicia-se com um período prodrômico de três a quatro dias com sinais de infecção de vias aéreas superiores, com coriza, tosse e febre. A doença evolui com tosse, sibilância, taquipnéia e dificuldade respiratória de gravidade variável geralmente em um paciente sem história prévia de broncoespasmo. À ausculta pulmonar observa-se sibilos expiratórios e/ou estertores crepitantes. Na maioria dos casos ocorre um quadro de obstrução leve das vias aéreas inferiores, com pouca ou nenhuma disfunção respiratória que melhora em três a cinco dias, sem necessidade de hospitalização. Alguns pacientes apresentam sinais de dificuldade ventilatória, com taquipnéia, tiragem de intensidade variável, batimento de asas do nariz e, muitas vezes, hipoxemia com necessidade de oxigenoterapia. Dentre os pacientes que são hospitalizados, cerca de 5 a 10% desenvolvem um quadro de insuficiência ventilatória grave com necessidade de ventilação mecânica. Os pacientes com maior risco de hospitalização e de apresentar insuficiência ventilatória são os lactentes pequenos, prematuros e portadores de doenças crônicas conforme já citado. A fase mais crítica da doença ocorre nas primeiras 72 horas após o início da disfunção respiratória, período em que pode ocorrer progressão da dificuldade ventilatória, necessidade crescente de suplementação de oxigênio e algumas vezes de suporte ventilatório artificial. Os lactentes com doença grave também podem apresentar sinais de colapso circulatório, com evidências de má perfusão periférica. Após 24 a 72 horas de maior dificuldade ventilatória, na maioria dos casos, os sinais de obstrução das vias aéreas passam a

regredir, com melhora no quadro clínico. Alguns pacientes apresentam dificuldade respiratória e sibilância por um período mais prolongado, especialmente aqueles que necessitaram ventilação mecânica, nos quais a recuperação é mais lenta. Apnéia pode ser a primeira manifestação da doença, ocorrendo com maior frequência em lactentes menores de dois meses e em prematuros, com incidência de 15 a 20%, com freqüente necessidade de ventilação mecânica. O mecanismo fisiopatológico atribuído à apnéia é uma provável imaturidade do centro respiratório em lactentes pequenos. A prevalência de sobreinfecção bacteriana relatada em crianças internadas com BVA é baixa. (WHOL & CHERNICK, 1978; McCONNOCHIE, 1983; McMILLAN et al., 1988; LEBEL et al., 1989; WELLIVER & WELLIVER, 1993; LUGO & NAHATA, 1993; MULHOLLAND et al., 1990; STRETTON et al., 1992; PANITCH et al., 1993; LEVY & GRABER, 1997; DARVILLE & YAMAUCHI, 1998; KNEYBER et al., 1998; SIMOES, 1999).

A escolha de critérios para avaliação da gravidade da BVA é difícil. Alguns autores utilizam-se de escores clínicos e da associação destes com desfechos mais objetivos como hipoxemia, tempo de hospitalização, uso de oxigênio e ventilação mecânica (WOOD et al., 1972; McCONNOCHIE et al., 1990; MULHOLLAND et al., 1990; SHAW et al., 1991; GREEN et al., 1989; DE BOECK et al., 1997.). Não há na literatura um escore clínico totalmente aceito para avaliação de gravidade em BVA, já que o emprego de escores apresenta limitações, como a variabilidade inter-observador, pois sempre há dados subjetivos na avaliação. A medida da saturação transcutânea de oxigênio da hemoglobina (satHb) tem sido utilizada na literatura como indicador de gravidade em lactentes com BVA (HALL et al., 1979; GREEN et al., 1989; McCONNOCHIE et al., 1990; MULHOLLAND et al., 1990; RAKSHI & COURIEL, 1994; GAROFALO et al., 1994; WANG et al., 1995). Mulholland e colaboradores

avaliaram achados clínicos na admissão de lactentes com BVA e sua associação com gravidade. Concluíram que a medida da satHb é o melhor método para avaliação inicial dos pacientes, pois a hipoxemia foi o achado que melhor se correlacionou com a gravidade (MULHOLLAND et al., 1990). Fischer investigou fatores prognósticos ao exame clínico para gravidade de BVA em lactentes hospitalizados, e concluiu que frequência respiratória maior que 70 movimentos por minuto e satHb menor que 91% associaram-se com maior gravidade (FISCHER,1994). A hipoxemia é a principal consequência das alterações fisiopatológicas causadas pela bronquiolite, sendo portanto um parâmetro útil para avaliação de gravidade, com a vantagem de ser uma aferição objetiva que não deve apresentar variações inter-observador.

Após a primeira semana de doença, a maioria das crianças tem condições de receber alta hospitalar, com poucos sintomas. Os pacientes submetidos à ventilação mecânica necessitam de hospitalização mais prolongada. É freqüente a ocorrência de episódios posteriores de sibilância nas semanas subseqüentes, algumas vezes com necessidade de nova hospitalização, e alguns pacientes desenvolvem quadro de asma brônquica no futuro (PANITCH et al.,1993; FISCHER, 1994; MARTINEZ et al., 1995; YOUNG et al., 1995; ALBERNAZ, 1997).

1.6 Patogenia

1.6.1 Resposta Imunológica

Vários mecanismos imunológicos e de resposta inflamatória têm sido implicados na patogênese da sibilância e das seqüelas a longo prazo da BVA (WELIVER et al., 1981; VOLOVITZ et al., 1988a; VOLOVITZ et al, 1988b; SIGURS et al., 1994; GAROFALO et al., 1992; HEYMANN et al., 1995; SMYTH et al., 1997; ANDERSEN, 1998).

A infecção pelo VRS induz imunidade incompleta, mesmo após infecções repetidas. Há indícios de que o VRS induz uma resposta imunológica peculiar, pois a infecção primária, a qual geralmente causa envolvimento das vias aéreas inferiores, ocorre mais frequentemente em lactentes menores de 6 meses, quando existem anticorpos maternos presentes na circulação. Os lactentes menores de 3 meses, que estão na época de maior concentração dos anticorpos maternos, são os que apresentam as infecções mais graves. Além disto, o fato dos lactentes que receberam na década de 60 uma vacina com VRS inativado terem apresentado infecção mais grave após contato com vírus selvagem, levou a especulações de que, talvez, além de não induzir proteção, os anticorpos da classe IgG pudessem estar envolvidos na patogênese da doença pulmonar. Posteriormente foi identificado que os lactentes vacinados haviam produzido grandes quantidades de anticorpos sem atividade neutralizante, que possivelmente formaram imunocomplexos com os antígenos virais e produziram lesão pulmonar mais grave. (BRUHN & YEAGER, 1977; NADAL & OGRA, 1990; EVERARD & MILNER, 1992; RUUSKANEN & OGRA, 1993; DARVILLE & YAMAUCHI, 1998). Por outro lado, existem evidências de que altos títulos de anticorpos maternos sejam protetores, como por exemplo o fato de que recém-nascidos são menos acometidos por infecção pelo VRS. Além disto, foi evidenciado que os anticorpos neutralizantes oferecem algum grau de proteção contra infecção pelo VRS, mas esta proteção não é completa. Resultados satisfatórios com uso de imunoglobulina anti-VRS na profilaxia da infecção em pacientes de alto risco também confirmam o papel dos anticorpos na proteção contra infecção pelo VRS. (KAUL et al., 1981; GLEZEN et al., 1986; WELLIVER & OGRA, 1988; TOMS, 1990; DARVILLE & YAMAUCHI, 1998). Anticorpos da classe IgA secretora aparecem na nasofaringe de lactentes infectados pelo

VRS 3 dias após o início dos sintomas. Kaul e colaboradores demonstraram que a produção de IgA é maior nos lactentes maiores de 6 meses. Também demonstraram que os títulos de anticorpos, IgG e IgA, diminuem após 90 dias da infecção primária, e que reinfeção pelo VRS produz anticorpos em maior quantidade e com proteção mais duradoura (KAUL et al., 1981).

Devido à ocorrência de sibilância durante bronquiolite por VRS, foi investigada também a presença de anticorpos da classe IgE. Welliver e colaboradores demonstraram a presença de IgE específica na secreção nasofaríngea de crianças com infecção pelo VRS (WELLIVER et al., 1980; WELLIVER et al., 1981). A dosagem quantitativa desta IgE específica foi significativamente maior nos pacientes com bronquiolite do que nos pacientes com infecção de vias aéreas superiores e com pneumonia. Foi também demonstrada a presença de histamina na secreção nasal dos pacientes que apresentavam sibilância. Houve correlação dos níveis de IgE e de histamina com o grau de hipoxemia na fase aguda da doença, sugerindo um papel destes marcadores na determinação da gravidade da bronquiolite (WELLIVER et al., 1981). A presença da IgE específica não foi detectada no soro, indicando que a produção ocorre localmente na mucosa respiratória (WELLIVER et al., 1985). Os mesmos autores demonstraram, em outro estudo, que os lactentes com aumento de IgE específica associado à bronquiolite apresentaram significativamente mais episódios de sibilância posterior do que os lactentes sem aumento de IgE (WELLIVER et al., 1986).

A presença de vários mediadores inflamatórios tem sido estudada em lactentes com bronquiolite, com objetivo de tentar compreender a patogenia da sibilância, os diferentes graus de gravidade da doença e sua correlação com atopia e asma. Estudos a respeito do papel de leucotrienos, interleucinas e proteína catiônica eosinofílica têm sido publicados nos últimos anos, com resultados controversos (VOLOVITZ et al.,

1988; GAROFALO et al., 1992; SIGURS et al., 1994; GAROFALO et al., 1994; INGRAM et al., 1995; HEYMANN et al., 1995; REIJONEN et al., 1997; SMYTH et al., 1997; BONT et al., 1999).

1.6.2 Eosinófilos e Proteína Catiônica Eosinofílica

Foi demonstrado, em vários estudos, o papel da reação inflamatória das vias aéreas na fisiopatogenia da asma brônquica, o que modificou inclusive o enfoque terapêutico desta doença. Embora várias células estejam envolvidas neste processo de reação inflamatória, acredita-se que os eosinófilos sejam as mais importantes.

Os eosinófilos, como os neutrófilos e basófilos, são um tipo de granulócito produzido na medula óssea, que se distinguem por suas características morfológicas, constituintes e suas associações com determinadas doenças. A denominação eosinófilo deve-se à afinidade dos seus grânulos à eosina. O eosinófilo humano mede 10 a 15 μ de diâmetro. O principal aspecto morfológico que distingue o eosinófilo dos outros granulócitos é a presença de grânulos intracitoplasmáticos (WELLER, 1984; WELLER, 1991). Os grânulos de eosinófilos contêm 4 tipos de proteínas - a Proteína Catiônica Eosinofílica (PCE), a Proteína Básica Principal, a Peroxidase Eosinofílica e a Neurotoxina derivada do eosinófilo. As características comuns destas 4 proteínas são seus pontos isoelétricos situados em pH 10 a 11 e suas propriedades citotóxicas. Estudos recentes têm demonstrado que o eosinófilo é uma potente célula inflamatória, participando em quase todos os processos inflamatórios, com atividade mediada pela secreção de suas proteínas (VENGE, 1990). Estudos morfológicos e bioquímicos dos eosinófilos presentes em pacientes com doenças associadas à eosinofilia, levou ao conhecimento de que estas células apresentam peculiaridades nestas circunstâncias, são os chamados eosinófilos ativados ou hipodensos. (WELLER, 1984; WELLER, 1991).

Estes sofrem alterações no tamanho e número dos grânulos, são menos densos e têm sido demonstrados no sangue de pacientes com asma, infecções parasitárias, neoplasias e hipereosinofilia idiopática. Apresentam aumento da expressão dos receptores de membrana para IgG, IgE e complemento C3b. O mecanismo que leva a esta ativação não está esclarecido, nem se é local ou sistêmico. Tanto a produção como a ativação de eosinófilos podem ser estimuladas por citoquinas, como interleucinas 3 e 5. Os eosinófilos ativados liberam suas proteínas citotóxicas tanto a nível local como sistêmico, dependendo do tipo de reação inflamatória. (WELLER, 1984; WELLER, 1991)

Baixos níveis de eosinófilos sangüíneos são encontrados em quadros infecciosos agudos. Foi observado ocorrência de níveis séricos elevados de PCE durante episódio de infecção bacteriana, com concomitante ausência de eosinófilos periféricos, devido à provável migração dos eosinófilos para o local da inflamação e liberação de PCE. (VENGE, 1990).

A PCE é a mais citotóxica de todas as proteínas, capaz de promover destruição de vários tipos de tecidos (VENGE, 1990). Os mecanismos pelos quais a PCE provoca lesão tecidual têm sido objeto de estudo, e parecem estar relacionados com abertura de canais nas membranas lipídicas, permitindo a passagem de água e outras pequenas moléculas (VENGE, 1990). A PCE foi primeiramente isolada em 1972 (OLSSON & VENGE, 1972; OLSSON & VENGE, 1974) a partir dos grânulos de células leucêmicas. Os principais estudos sobre seus efeitos têm sido realizados em asma brônquica, mostrando que a PCE é capaz de destruir a mucosa dos brônquios, produzindo hiperreatividade (DAHL et al., 1978; CARRASCO et al., 1992; SUGAR et al., 1992; VENGE, 1993; KANTOR & ROSARIO, 1997; NIGGEMANN et al., 1996;

MOTOJIMA et al., 1997; PIZZICHINI et al., 1997; FUJIMOTO et al, 1997; HOSHINO & NAKAMURA, 1997; REMES et al., 1998).

A principal característica da asma é a reação inflamatória brônquica que leva à hiper-reatividade (BOUSQUET et al., 1990). Os eosinófilos são as principais células envolvidas nesta reação inflamatória. Pacientes asmáticos apresentam aumento de eosinófilos e de PCE no sangue e no lavado broncoalveolar. Achados de necropsia confirmaram a presença de eosinófilos na submucosa brônquica de pacientes asmáticos (BOUSQUET et al., 1990). Vários estudos demonstraram que o aumento da PCE está associado com a gravidade da asma brônquica, havendo aumento dos níveis de PCE nas exacerbações da doença (ZIMMERMAN, 1993; LEE et al., 1997;) Também foi demonstrado que ocorre diminuição dos níveis de PCE após tratamento com corticosteróides, sendo um marcador útil para monitorizar a resposta terapêutica em asmáticos. (NIGGEMANN et al., 1996; REMES et al., 1998). O uso de corticosteróides também está associado com a diminuição de eosinófilos no sangue periférico (VENGE, 1990).

Nos últimos anos têm sido publicados estudos investigando o papel dos eosinófilos na BVA. Garofalo e colaboradores demonstraram presença de PCE na secreção nasal de pacientes infectados pelo VRS, sugerindo a ocorrência de degranulação de eosinófilos ativados no epitélio das vias aéreas durante infecção pelo VRS, com liberação de PCE. O mesmo estudo demonstrou também, em pacientes com bronquiólite, correlação de PCE na secreção com hipoxemia na fase aguda da doença, sugerindo um possível papel da PCE na patogênese da sibilância e associação com gravidade (GAROFALO et al., 1992). Os mesmos autores em outra publicação demonstraram aumento também de PCE sérica em lactentes com bronquiólite comparados com lactentes com infecção de vias aéreas superiores (GAROFALO et al.,

1994). Outras pesquisas tentaram correlacionar os níveis de PCE em BVA com o risco de desenvolver episódios subsequentes de sibilância. Reijonen e colaboradores demonstraram aumento de PCE sérica e na secreção nasofaríngea de pacientes com BVA que posteriormente apresentaram episódios de sibilância (REIJONEN et al., 1997a; REIJONEN et al., 1997b). Por outro lado, Smyth e colaboradores não encontraram diferença nos níveis séricos de PCE entre lactentes com doença pelo VRS e controles. Foram estudados lactentes com doença leve, moderada e grave. Os níveis de PCE foram mais altos na fase de convalescença (10 dias após) do que na fase aguda, talvez pelo fato de ocorrer migração de eosinófilos com liberação de PCE localmente nas vias aéreas durante a fase aguda da doença, sem um aumento no nível sérico (SMYTH et al., 1997). Portanto, são inconclusivos os resultados das pesquisas a respeito da participação dos eosinófilos e seus derivados na patogenia da bronquiolite.

2 JUSTIFICATIVA

A bronquiolite viral aguda é uma doença de alta prevalência no nosso meio e apresenta significativa morbidade. É freqüente a ocorrência de episódios de sibilância após o episódio agudo, algumas vezes com necessidade de reinternação. No estudo de Fischer, realizado em Porto Alegre, foi observado que 25% das crianças com BVA reinternaram em até 60 dias após o quadro viral agudo. Os resultados apresentados na literatura são controversos a respeito do papel dos eosinófilos e seus derivados na patogênese da BVA e suas seqüelas. O conhecimento do comportamento dos eosinófilos e da PCE em pacientes com BVA pode contribuir para o entendimento dos sintomas e da gravidade associados a esta doença e, eventualmente, acrescentar informações para o desenvolvimento de medidas profiláticas e terapêuticas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL:

Determinar a contagem de eosinófilos no sangue periférico e a concentração sérica da proteína catiônica eosinofílica em pacientes internados com bronquiolite viral aguda moderada e grave.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Comparar a contagem de eosinófilos no sangue periférico em pacientes internados com bronquiolite viral aguda moderada e grave.

- Comparar as concentrações séricas da proteína catiônica eosinofílica em pacientes internados com bronquiolite viral aguda moderada e grave.

- Correlacionar a contagem de eosinófilos com a concentração sérica de proteína catiônica eosinofílica em pacientes internados com bronquiolite viral aguda moderada e grave.

- Determinar as características dos pacientes internados com bronquiolite viral aguda moderada e grave: características clínicas, gravidade, prevalência de ventilação mecânica, tempo de internação, prevalência do VRS.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Delimitações de Pesquisa

Para a determinação da contagem de eosinófilos e dos níveis de PCE na amostra estudada, planejou-se um estudo em que o desfecho clínico constitui-se nos próprios níveis de eosinófilos e PCE. Como estes desfechos são estáticos e o eixo de montagem é condicionado pelo fator em estudo (fazer parte da população de lactentes que internou por BVA no HCSA no período de junho a agosto de 1999), trata-se de um estudo de prevalência.

Para atender aos objetivos específicos de comparar os níveis de eosinófilos e de PCE entre pacientes com diferentes graus de gravidade, o delineamento se desdobra para abrigar dois grupos de comparação, originando-se um estudo transversal.

4.2 População

Pacientes internados no Hospital da Criança Santo Antônio com diagnóstico de bronquiolite viral aguda no período de junho a agosto de 1999.

4.2.1 Critérios de inclusão:

- idade entre 0 e 11 meses e 29 dias;
- quadro clínico de BVA com até cinco dias de evolução;
- frequência respiratória maior ou igual a 60 movimentos por minuto, **OU** saturação transcutânea de oxigênio da hemoglobina menor do que 95%.

O quadro de BVA foi caracterizado como uma doença respiratória precedida por um período prodromico de três a quatro dias com sinais de infecção de vias aéreas

superiores, como coriza, tosse e febre, que evoluiu nos dias subseqüentes com taquipnéia, tosse, sibilos e sinais de dificuldade ventilatória, num lactente sem história prévia de sibilância.

4.2.2 Critérios de exclusão:

- história prévia de doença respiratória de vias aéreas inferiores;
- pneumopatia crônica;
- uso de corticosteróides nas últimas 72 horas.

4.3 Logística:

Os pacientes elegíveis para o estudo foram selecionados a partir de sua internação no Hospital da Criança Santo Antônio com quadro clínico sugestivo de bronquiolite viral aguda. Os médicos do setor de Emergência do Hospital, por onde internam todos os pacientes, faziam contato com a equipe de pesquisa para avaliação dos pacientes e inclusão no estudo. A equipe de pesquisa realizava uma entrevista com o familiar responsável e preenchia uma ficha de avaliação clínica (anexo 1). Neste momento era solicitada autorização por escrito do responsável para inclusão do paciente no estudo, através de um termo de consentimento informado (anexo 2).

4.3.1 Equipe de pesquisa: Foi formada por dois médicos intensivistas pediátricos (coordenadores da pesquisa) e três médicos residentes de terceiro ano em terapia intensiva pediátrica.

4.3.2 Entrevista: A entrevista com o familiar responsável pelo paciente constava dos seguintes itens:

- Idade do paciente: registrada em meses
- Data da internação no hospital
- Queixa principal que motivou a vinda ao hospital
- Tempo entre início dos sintomas e internação
- Data de internação na UTI quando fosse o caso
- Peso de nascimento
- História de prematuridade
- História de uso de oxigênio no período neonatal
- História de aleitamento materno
- História familiar de asma

4.3.3 Avaliação clínica: A avaliação do paciente era feita nas primeiras doze horas de internação hospitalar e constava de exame físico com registro dos seguintes itens:

- Frequência cardíaca: Registro por ausculta do número de batimentos cardíacos por minuto, anotando-se as condições da criança no momento da observação, se calmo ou chorando.

- Frequência respiratória: Contada durante um minuto por observação direta ou ausculta com estetoscópio, registrando-se as condições do paciente no momento, se calmo ou chorando.

- Sensório: Observação da atitude da criança em relação ao meio, classificada em alerta, agitado, sonolento ou sedado (no caso de ventilação mecânica).

- Sibilância: Presença de estertores de tonalidade musical de frequências altas audíveis com ou sem estetoscópio.

- Estertores crepitantes: Estertores de curta duração, baixa amplitude e audíveis no final da inspiração.

- Batimento de asas do nariz: Identificado pela visualização da movimentação lateral das partes externas das narinas, durante a inspiração.

- Tiragem subcostal: Observação, durante a inspiração, da retração dos tecidos da parede torácica, do espaço imediatamente abaixo da última costela ligada ao esterno. A tiragem foi graduada em tiragem leve, moderada ou grave de acordo com a intensidade. Tiragem leve: definida como a retração apenas perceptível dos tecidos da parede torácica. Tiragem moderada: retração bem definida. Tiragem grave: retração mais marcada dos tecidos(estimado em mais do que um centímetro).

- Tiragem intercostal: Observação da retração dos tecidos da parede torácica dos espaços intercostais, graduada em leve, moderada ou grave, com os mesmos critérios da anterior.

- Tiragem supraclavicular: Observação da retração dos tecidos da parede torácica do espaço acima das clavículas, com a mesma classificação das anteriores.

- Saturação transcutânea de oxigênio da hemoglobina: Avaliada com oxímetro de pulso marca Ohmeda com sensor para lactentes aplicado nas extremidades (mãos ou pés). A aferição do valor da saturação era registrada assim que o aparelho mostrasse sinal adequado e frequência cardíaca na faixa esperada para idade, com pelo menos 60 segundos de sinal estável. A saturação da hemoglobina era obtida com os pacientes ventilando em ar ambiente no momento da internação hospitalar.

4.3.4 Colheita de secreção nasofaríngea: Foi colhida uma amostra de secreção nasofaríngea dos pacientes para realização de imunofluorescência para identificação dos vírus respiratórios, conforme a rotina do hospital. A colheita da secreção era

realizada através de aspiração com sonda número 6 conectada a uma seringa que era conectada ao látex com pressão negativa do aspirador de parede.

4.3.5 Colheita de sangue: A colheita de sangue para realização de exames laboratoriais era realizada conforme a rotina do hospital, que constava de hemograma de todos os pacientes e outros exames julgados necessários pela equipe médica assistente. Neste momento era reservada uma amostra de sangue (1 ml) para determinação da proteína catiônica eosinofílica. Conforme as especificações do *kit* de dosagem da Pharmacia & Upjohn, esta amostra era colhida em frasco Vacutainer SST, deixada por 60 minutos em temperatura ambiente para formação de coágulo e após centrifugada no Laboratório de Bioquímica do HCSA (PENA et al, 1996). O soro era então congelado e conservado a temperatura de -80°C , no *freezer* do Laboratório de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

4.4 Exames laboratoriais

Os exames foram realizados no Laboratório do Hospital da Criança Santo Antônio e no Laboratório Weinmann conforme descrição abaixo. Todas as pessoas responsáveis pela aferição dos resultados desconheciam as variáveis clínicas dos pacientes.

4.4.1 Contagem de eosinófilos no sangue periférico: Obtida através da multiplicação do percentual de eosinófilos do leucograma pelo número total de leucócitos.

4.4.2 Determinação da concentração sérica da Proteína Catiônica Eosinofílica:

A dosagem da PCE foi realizada através de ensaio imunoenzimático com fluorescência. Esta técnica foi realizada de forma automatizada no aparelho UniCap 100 do Laboratório Weinmann de Porto Alegre, com *kit* comprado do Laboratório Pharmacia & Upjohn. O aparelho fornece automaticamente os resultados da concentração da PCE no soro em microgramas por litro ($\mu\text{g/l}$).

4.4.3 Identificação dos vírus respiratórios: Foi realizada na maioria dos

pacientes através de imunofluorescência indireta da secreção nasofaríngea, conforme rotina do hospital. Em alguns pacientes foi realizado *ABBOTT TEST PACK RSV^R*, doado pelo Laboratório Abbott para o estudo. Este teste é um imunoenensaio enzimático para a detecção rápida do VRS proveniente de amostras nasofaríngeas.

4.5 Avaliação da gravidade

Foram utilizados como parâmetros para avaliar a gravidade dos pacientes internados com BVA a medida da satHb em ar ambiente no momento da admissão e a prevalência de ventilação mecânica.

4.6 Acompanhamento

Os pacientes foram acompanhados pela equipe de pesquisa durante o período de internação para observação e registro dos seguintes itens:

- prevalência de internação na Unidade de Terapia Intensiva (UTI)
- prevalência de uso de ventilação mecânica
- tempo de oxigenoterapia
- tempo de permanência no hospital

4.7 Considerações éticas

O estudo é considerado de risco mínimo, segundo a regulamentação do Conselho Nacional de Saúde. O projeto foi submetido à Comissão Científica do Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre, sendo aprovado quanto ao seu aspecto ético e científico. Foi solicitada autorização aos responsáveis, através de um termo de consentimento informado. (anexo 2).

4.8 Análise Estatística

As variáveis contínuas de interesse são descritas através de mediana e amplitude interquartil (AIQ 25-75) por apresentarem distribuição predominantemente assimétrica.

As variáveis categóricas são apresentadas sob a forma de proporções.

As comparações entre número de eosinófilos e níveis de PCE com os diversos fatores em estudo (idade, sexo, satHb, VM, tempo de oxigenoterapia, presença de VRS, história familiar de asma) foram realizadas através de:

- Mann-Whitney para variáveis categorizadas em 2 grupos;
- Kruskal-Wallis para variáveis categorizadas em 3 ou mais grupos.

Adicionalmente, foi utilizada a correlação de Spearman para avaliar a associação entre PCE e eosinófilos, e destes com a satHb como variável contínua.

Os resultados são apresentados graficamente através do diagrama de caixas para as comparações de medianas e através de gráfico de dispersão para as correlações.

Foi considerado α (alfa) crítico de 5% para significância estatística.

5 RESULTADOS:

5.1 – População

No período de junho a agosto de 1999 internaram no Hospital da Criança Santo Antônio 70 pacientes com quadro clínico de bronquiolite viral aguda que preencheram os critérios de inclusão no estudo. Doze pacientes foram excluídos, pois não foram colhidas as amostras de sangue para o estudo no momento da colheita de exames de rotina. A amostra do estudo constituiu-se então de 58 pacientes. Os pacientes excluídos foram analisados e comparados com a amostra quanto à idade, apresentação clínica inicial, tempo de oxigenoterapia e tempo de internação, não havendo diferença significativa. (tabela I)

Tabela I – Características dos pacientes excluídos

	Incluídos (n = 58)	Excluídos (n = 12)
Idade média	2 meses	2 meses
FR > 60	50%	42%
Sibilos	39%	49%
Crepitantes	91%	83%
Tiragem SC	91%	83%
SatHb < 95%	78%	91%
Tempo médio O2	5 dias	5 dias
Tempo médio internação	9 dias	7 dias

Foram estudados 58 pacientes, 32 (55%) eram do sexo masculino e 26 (45%) do sexo feminino. A idade dos pacientes variou de 0 a 10 meses, com média de 2 meses e mediana de 1 mês. Setenta e seis por cento dos pacientes tinham até 3 meses de idade. A figura 1 mostra a distribuição dos pacientes conforme a idade.

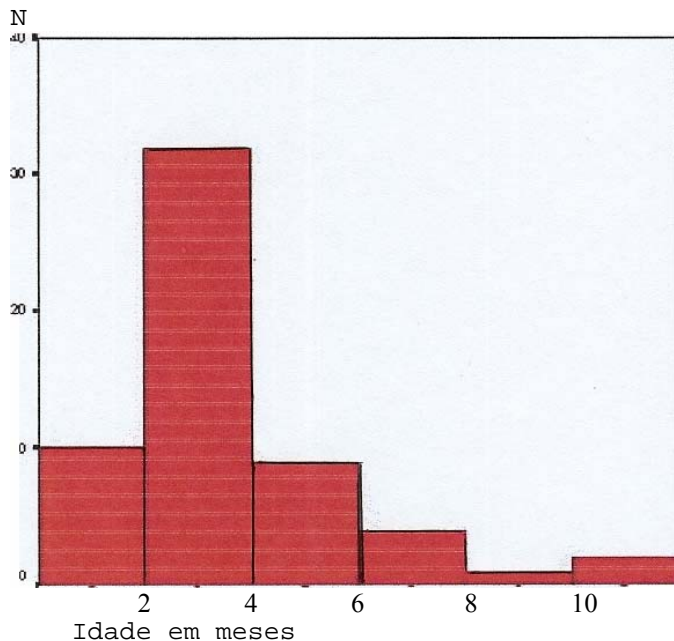


Fig. 1 – Distribuição dos pacientes conforme a idade

5.2 – Características clínicas na internação

Dentre os pacientes estudados, as queixas mais freqüentes que levaram os pais a procurarem o hospital foram falta de ar e/ou chiado no peito, referidas por 76% dos pacientes. Todos os pacientes apresentavam sintomas de sibilância e/ou dificuldade respiratória com até 5 dias de evolução, sendo que em 83% os sintomas estavam presentes há 3 dias ou menos.

Onze pacientes (19%) apresentavam história de prematuridade referida pelos pais ou responsáveis no momento da entrevista, mas nenhum de prematuridade extrema nem uso de ventilação mecânica. Uso de oxigenoterapia no período neonatal foi referido por 2 pacientes. Aleitamento materno foi referido por 42 pacientes (74%), sendo que 33 pacientes ainda estavam sendo amamentados no momento da internação. Trinta e um pacientes (53%) apresentavam história familiar de asma em pais e/ou irmãos.

A Tabela II apresenta a freqüência dos principais achados ao exame clínico na avaliação dos pacientes. Observa-se prevalência elevada de tiragem subcostal,

sinal que evidencia a presença de esforço ventilatório. A média da satHb em ar ambiente foi de 91%.

Tabela II - Frequência dos principais achados clínicos

SINAL CLÍNICO	N	%
FR > ou = 60	33	57
SatHb <95	46	79
Tiragem subcostal	53	91
Tiragem intercostal	26	45
Tiragem supraclavicular	31	53
Sibilos	39	67
Estertores crepitantes	53	91

5.3 – Avaliação da gravidade

A tabela III mostra a satHb dos pacientes em ar ambiente. Foi possível aferir a saturação em 55 pacientes, pois 3 pacientes foram intubados imediatamente na chegada à sala de emergência devido à cianose e falência respiratória, sem verificação prévia da satHb em ar ambiente. Os pacientes foram divididos em 3 grupos de acordo com a saturação: grupo 1 (satHb < 90%), grupo 2 (satHb 90-94%) e grupo 3 (satHb > 94%). Os pacientes do grupo 1 mais os 3 pacientes que foram imediatamente intubados foram classificados como portadores de bronquiolite grave. Os grupos 2 e 3 foram considerados como bronquiolite moderada (tabela IV).

Tabela III – SatHb em ar ambiente

Sat Hb	N	%
< 90%	16	29
90 – 94%	27	49
> 94%	12	22
Total	55	100

Tabela IV – Gravidade dos pacientes conforme a satHb

	N	%
BVA grave	19	33
BVA moderada	39	67
Total	58	100

Vinte e dois pacientes (38%) internaram na Unidade de Terapia Intensiva. Sete pacientes necessitaram ventilação mecânica, o que resultou numa prevalência de 12%. O tempo de oxigenoterapia variou de 0 a 24 dias, com média e mediana em 5 dias. Trinta e cinco por cento dos pacientes utilizaram até 3 dias de oxigênio. O tempo de permanência no hospital variou de 2 a 30 dias, com mediana de 8 dias (figura 2). Sessenta e sete por cento dos pacientes permaneceram internados menos de 10 dias. O paciente que ficou internado por 30 dias necessitou internação prolongada por outros motivos (investigação de icterícia colestática e complicações pós-laparotomia) e não devido à bronquiolite.

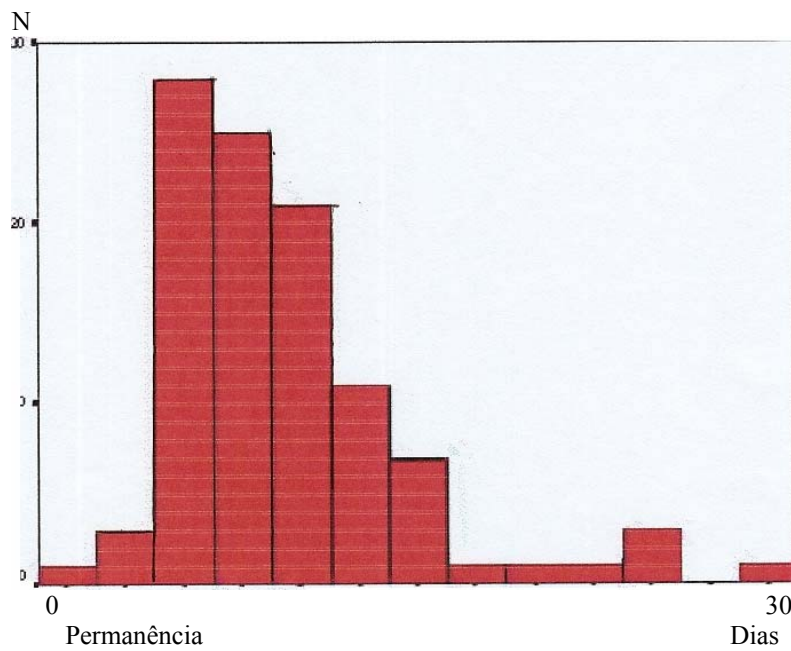


Fig.2 - Tempo de permanência no hospital

5.4 Prevalência do VRS

Foi realizada pesquisa virológica em 48 pacientes. Em 30 pacientes (62%) foi identificado o VRS, nos demais 18 pacientes o resultado foi negativo. Em 29 pacientes a identificação do vírus foi realizada através de imunofluorescência, nos demais foi realizada através do *TESTPACK RSV*.

5.5 Contagem de eosinófilos no sangue periférico

A figura 3 mostra a distribuição do número de eosinófilos sangüíneos nos pacientes estudados. Houve variação de zero a 1104 eosinófilos, com média de 170 e mediana de 100.

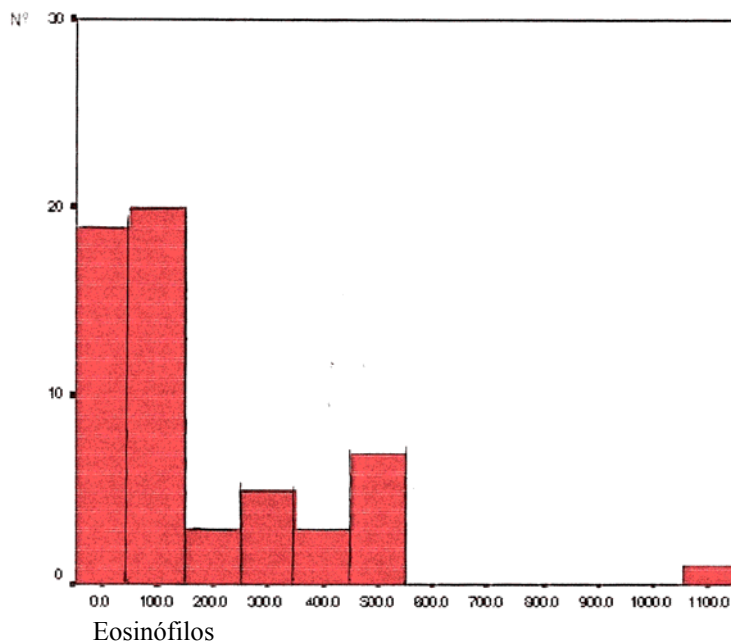


Fig. 3 - Distribuição do número de eosinófilos no sangue periférico

5.5.1 Eosinófilos de acordo com faixa etária e sexo

Observou-se diferença na distribuição dos eosinófilos conforme a faixa etária (figura 4). As crianças com idade até 3 meses apresentaram maior número de eosinófilos (mediana 111, AIQ 300) em relação aos maiores de 3 meses (mediana 0, AIQ 178), com diferença no limite da significância ($p=0.052$). Não houve diferença no número de eosinófilos quanto ao sexo, a mediana no sexo masculino foi 110 e no feminino foi 95.

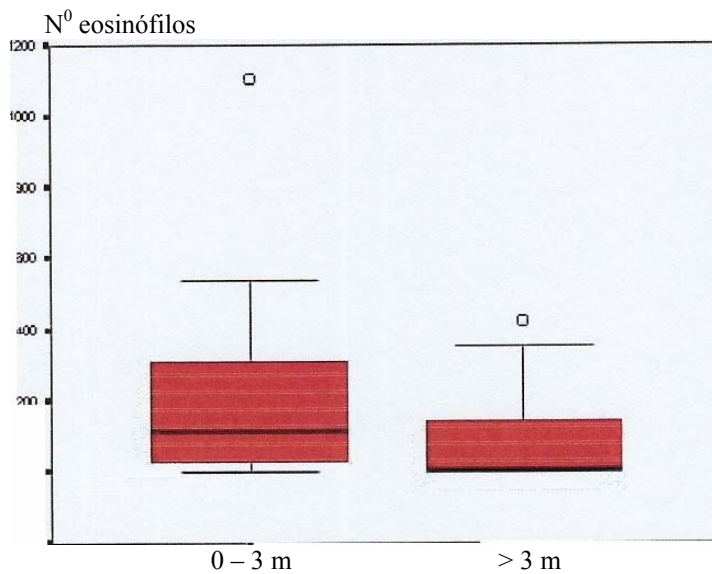


Fig. 4 – Distribuição dos eosinófilos de acordo com a faixa etária

5.5.2 Eosinófilos de acordo com gravidade da BVA

A contagem de eosinófilos foi comparada entre os 3 grupos de pacientes divididos conforme a satHb no momento da admissão (figura 5). Houve diferença estatisticamente significativa na análise dos 3 grupos ($p=0.011$). Quando analisados dois a dois, houve diferença significativa na comparação entre o grupo 1 e o grupo 2 ($p=0.012$) e entre o grupo 1 e o grupo 3 ($p=0.01$), não havendo diferença na comparação entre os grupos 2 e 3 ($p=0.31$).

A figura 6 mostra a distribuição de eosinófilos nos grupos de pacientes com bronquiolite grave e moderada classificados conforme a satHb. A mediana no grupo grave foi 0 (102) e no grupo moderado foi 129 (338), com diferença estatisticamente significativa ($p=0.004$).

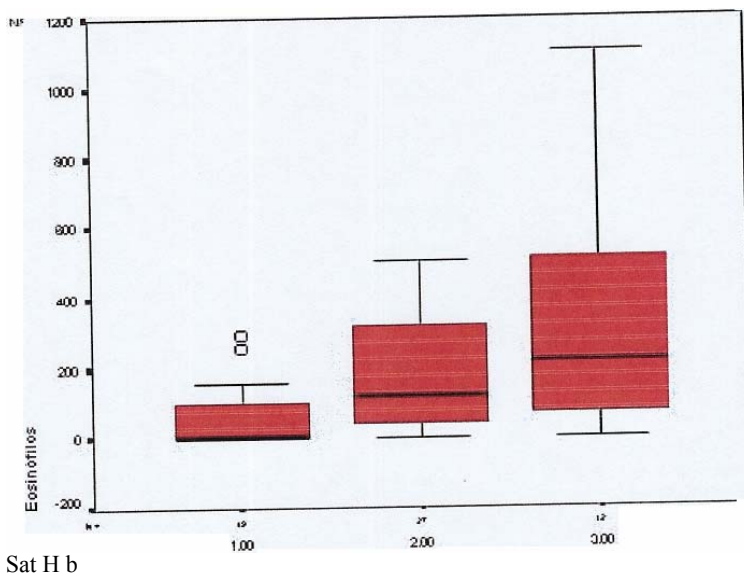


Fig. 5 - Distribuição de eosinófilos conforme a satHb

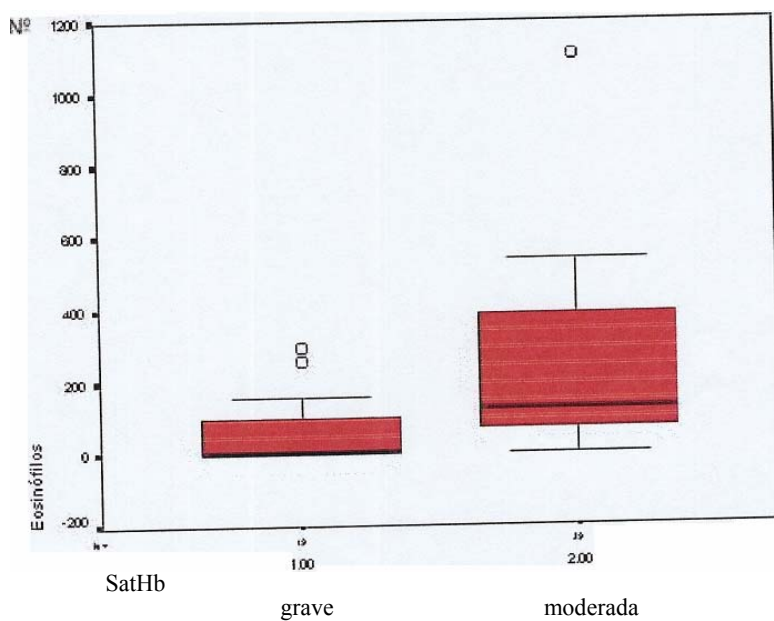


Fig. 6 - Distribuição de eosinófilos conforme gravidade de acordo com satHb

A figura 7 mostra que houve correlação positiva fraca ($r = 0.30$) entre eosinófilos e satHb, com significância estatística ($p=0.023$).

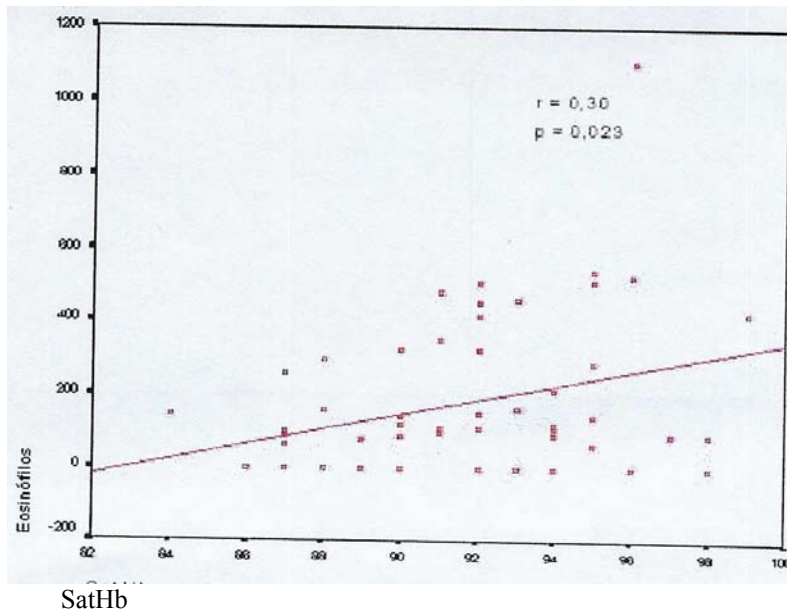


Fig. 7 – Correlação entre número de eosinófilos e satHb

A mediana dos eosinófilos nos pacientes submetidos à ventilação mecânica foi 0, enquanto nos pacientes que não necessitaram VM foi 110, diferença não significativa ($p=0.248$) (figura 8).

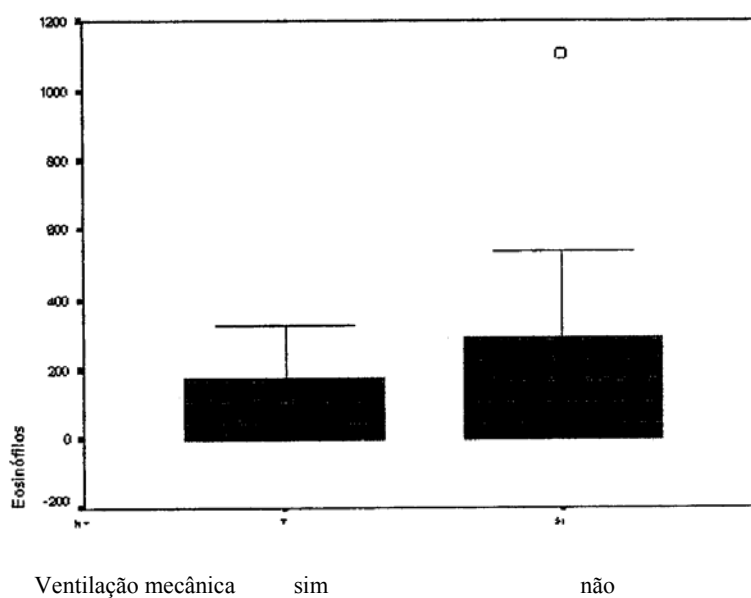


Fig. 8 – Eosinófilos e ventilação mecânica

Comparou-se também a contagem de eosinófilos com o tempo de oxigenoterapia, o que não mostrou diferença (tabela V).

Tabela V – Eosinófilos e tempo de oxigenoterapia

Tempo de O ₂	Eosinófilos*
até 3 dias	115 (338)
mais de 3 dias	95 (234)

* mediana (AIQ)

5.5.3 Eosinófilos de acordo com virologia

Não houve diferença no número de eosinófilos entre pacientes com VRS positivo e negativo (tabela VI).

Tabela VI – Eosinófilos e virologia

	Eosinófilos*
VRS positivo	89 (322)
VRS negativo	95 (148)

* mediana (AIQ)

5.5.4 Eosinófilos de acordo com história familiar de asma

Não houve diferença no número de eosinófilos entre pacientes com e sem história familiar de asma (figura 9).

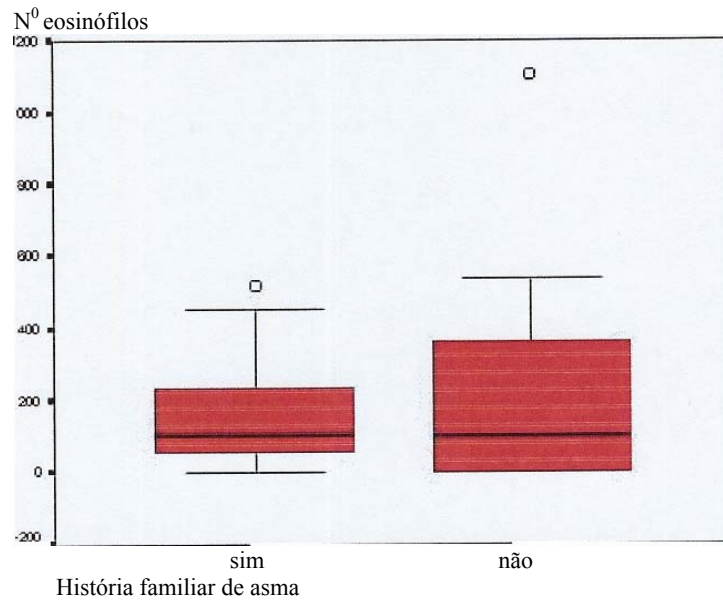


Fig. 9 – Eosinófilos e história familiar de asma

5.6 Concentrações séricas de PCE

O resultado das concentrações séricas de PCE na amostra estudada variou de 2 a 114 $\mu\text{g/l}$, com média de 13.9 e mediana de 6 $\mu\text{g/l}$ (15). A figura 10 mostra a distribuição dos níveis de PCE.

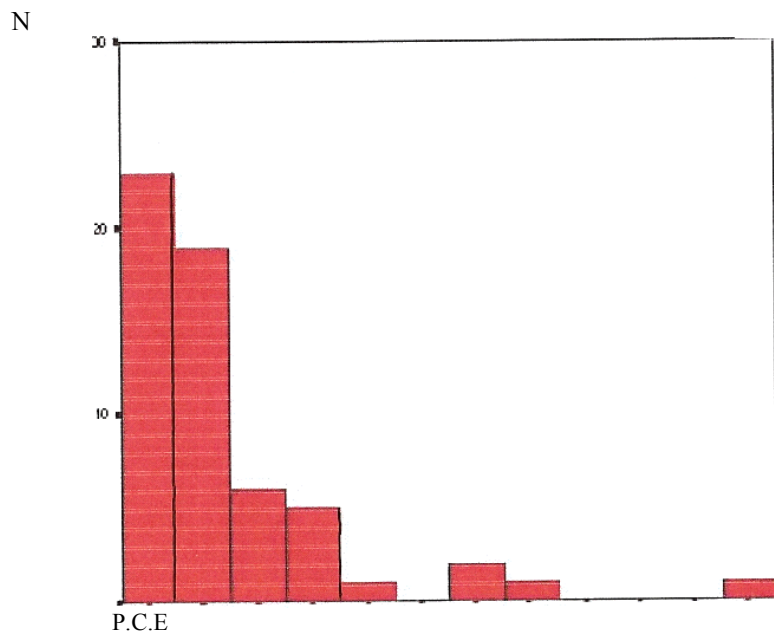


Fig. 10 - Distribuição das concentrações séricas de PCE

5.6.1 PCE de acordo com sexo e faixa etária

Os níveis séricos de PCE foram maiores no sexo feminino, com diferença estatisticamente significativa (tabela VII). Não houve correlação entre PCE sérica e idade (figura 11).

Tabela VII – PCE de acordo com sexo

	PCE ($\mu\text{g/l}$)*
sexo feminino	8 (17)
sexo masculino	4.2 (6.4)

* mediana (AIQ)
p=0.028

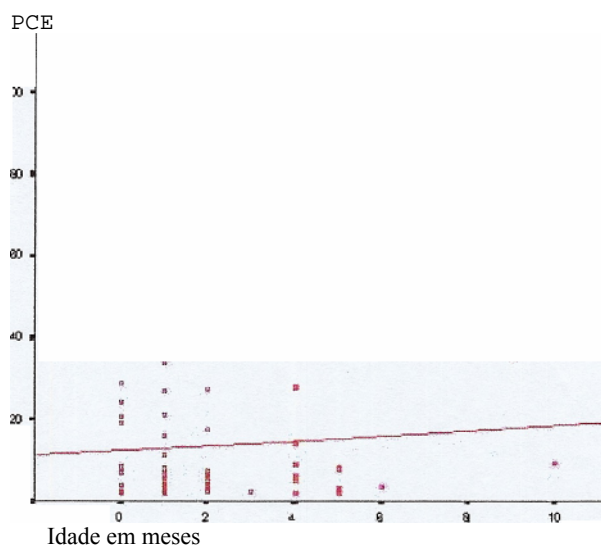


Fig. 11 - Correlação entre níveis séricos de PCE e idade

5.6.2 PCE e gravidade da BVA

Foi realizada comparação entre as concentrações séricas de PCE dos pacientes graves e moderados classificados de acordo com a satHb, não sendo observada diferença (tabela VIII). Também não houve correlação entre PCE e satHb (figura 12).

Tabela VIII – Concentrações de PCE conforme gravidade

	PCE ($\mu\text{g/l}$)*
BVA grave	6.6 (4.8)
BVA moderada	5.5 (16.8)

* mediana (AIQ)

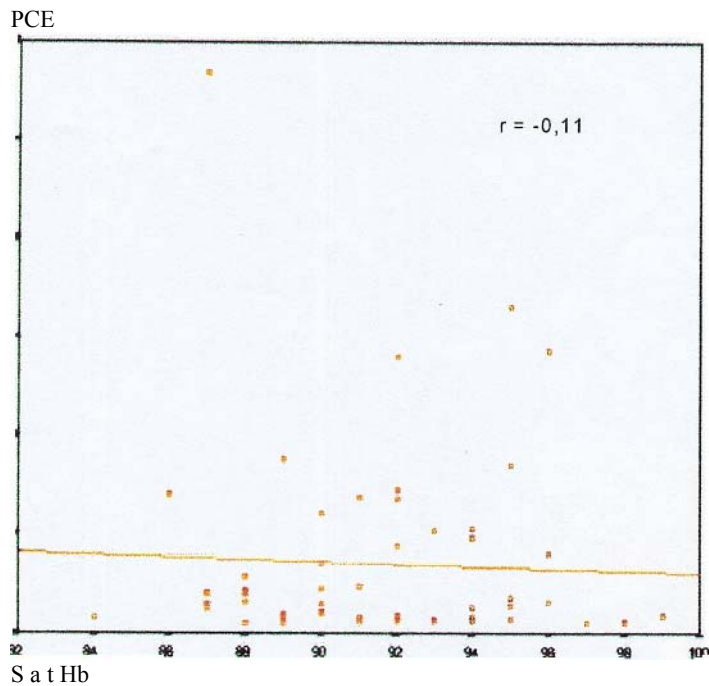


Fig. 12 – Correlação entre PCE e satHb

Não houve diferença na PCE entre os pacientes que necessitaram ventilação mecânica e os que não necessitaram, a mediana foi 6 $\mu\text{g/l}$ nos dois grupos. Também não houve diferença conforme o tempo de oxigenoterapia.

5.6.3 PCE e virologia

Da mesma forma que com o número de eosinófilos, não houve diferença na concentração sérica entre pacientes com VRS positivo e negativo.

5.6.4 PCE de acordo com história familiar de asma

Não houve diferença nos níveis de PCE entre pacientes com e sem história familiar de asma (tabela IX).

Tabela IX – PCE e história familiar de asma

	PCE ($\mu\text{g/l}$)*
Asma na família +	5.4 (9)
Asma na família -	7.6 (21)

* mediana (AIQ)

5.7 Correlação entre eosinófilos e PCE

Não foi demonstrada correlação entre contagem de eosinófilos e níveis séricos de PCE (figura 13).

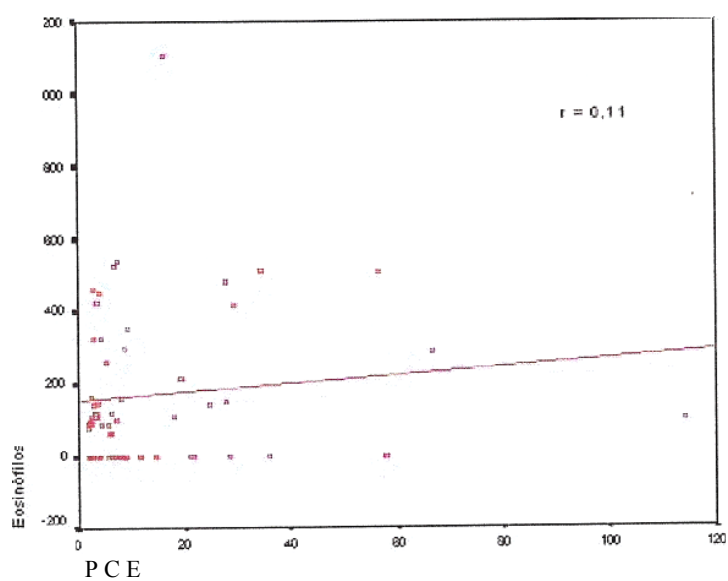


Fig. 13 - Correlação entre PCE e eosinófilos

6 DISCUSSÃO

O presente estudo foi planejado para investigar o comportamento dos eosinófilos sangüíneos e da PCE sérica em pacientes com BVA. Esta doença apresenta-se com diferentes graus de gravidade, sendo a forma leve a mais comum, sem necessidade de hospitalização. A indicação de internação hospitalar baseia-se em aspectos clínicos, devido à taquipnéia, disfunção ventilatória e principalmente por necessidade de oxigenoterapia, avaliada através de gasometria arterial ou da medida da satHb (SIMOES, 1999). Como o presente estudo foi realizado em pacientes hospitalizados, decidiu-se restringir a amostra aos pacientes com indicações clínicas de internação, com taquipnéia e/ou diminuição da satHb, pois, algumas vezes, a indicação pode estar relacionada a outras causas, como fatores sociais. Foi colocado como critério de inclusão no estudo também a idade menor de 1 ano, pois a bronquiolite é uma doença que acomete tipicamente lactentes no primeiro ano de vida (McCONNOCHIE, 1983). Após 1 ano aumentam as dificuldades de diferenciação diagnóstica entre BVA e outras causas de sibilância, especialmente asma brônquica. O critério utilizado para o diagnóstico de bronquiolite foi essencialmente clínico, e eram incluídos no estudo somente os lactentes que apresentavam quadro de primeiro episódio de sibilância e dificuldade respiratória com até cinco dias de evolução que ocorreu após pródromos de infecção de vias aéreas superiores. Outros estudos na literatura também aceitam o diagnóstico somente clínico com critérios bem definidos para BVA (McCONNOCHIE, 1983; YOUNG et al., 1995; ALBERNAZ, 1997). Uma limitação do presente estudo foi a exclusão de 12 pacientes (17% da amostra) devido ao fato de não ter sido colhida amostra de sangue para dosagem de PCE. Por razões éticas, não foi realizada colheita de

sangue somente para o estudo, conforme já descrito. Contudo, os pacientes que foram excluídos não apresentaram diferenças na apresentação clínica nem na evolução conforme demonstrado na tabela I, e provavelmente não apresentariam diferenças nos desfechos estudados.

A avaliação clínica dos pacientes era realizada dentro das primeiras 12 horas de internação, com objetivo de avaliar a gravidade em momento próximo à admissão dos pacientes. Inicialmente, quando projetada a pesquisa, os dados clínicos seriam analisados sob forma de escore. Entretanto, por suas reconhecidas limitações, entre estas a impossibilidade de um adequado controle de qualidade da aferição destes sinais, decidiu-se apresentá-los apenas sob a forma descritiva. Além disso, não há na literatura nenhum escore clínico totalmente aceito para avaliação de gravidade em BVA. Foi escolhida a aferição da satHb através da oximetria de pulso em ar ambiente como critério para avaliação da gravidade da BVA. A hipoxemia, resultado de alterações na relação ventilação-perfusão, é a principal consequência da BVA e é um indicador de gravidade. A oximetria de pulso é um método que fornece uma avaliação objetiva, mas que pode estar sujeita a erros se não for realizada de maneira adequada. Erros podem ocorrer devido à colocação inadequada do sensor, o mesmo deve encostar sobre a pele da extremidade. Hipotensão e hipotermia com diminuição da perfusão periférica podem determinar medidas não confiáveis da satHb. Valores de saturação abaixo de 80% não são adequadamente medidos pela maioria dos oxímetros disponíveis. Mas as vantagens oferecidas pela monitorização contínua e não invasiva da satHb certamente superam as limitações (RAKSHI & COURIEL, 1994). Não há na literatura nenhum escore clínico totalmente aceito para avaliação de gravidade em BVA. Vários autores utilizam a satHb para avaliação da gravidade em pacientes com bronquiólite (HALL et al., 1979; GREEN et al., 1989; McCONNOCHIE et al., 1990; MULHOLLAND et al., 1990;

NAVAS et al., 1992; RAKSHI & COURIEL, 1994; GAROFALO et al., 1994; WANG et al., 1995; DE BOECK et al., 1997;). No presente estudo optou-se por dividir os pacientes em 3 categorias conforme De Boeck: satHb <90%, 90-94% e >94% (DE BOECK et al., 1997). Considerando o critério de satHb menor que 90%, 19 pacientes (33%) apresentaram bronquiolite grave. Em um estudo multicêntrico realizado no Canadá que avaliou fatores de risco na admissão de pacientes com bronquiolite e/ou pneumonia por VRS, foi observado que satHb menor que 90% esteve associado com maior tempo de hospitalização e maior prevalência de internação em UTI e de ventilação mecânica (WANG et al., 1995). Green e colaboradores também consideraram satHb menor que 90% como critério para hipoxemia e gravidade, sendo seus achados semelhantes aos do presente estudo, com 37% de casos graves (GREEN et al., 1989). A prevalência de ventilação mecânica encontrada foi de 12%. No estudo de Fischer realizado no mesmo hospital a prevalência foi de 6%. Há variações na frequência de ventilação mecânica apresentada na literatura, conforme o local e o tipo de paciente estudado. Pesquisas realizadas em hospitais de referência e com pacientes portadores de doenças crônicas tendem a apresentar maiores índices de ventilação mecânica, podendo chegar a 19%, como relatado por Tissing e colaboradores num hospital terciário na Holanda (TISSING et al., 1993). O estudo multicêntrico realizado no Canadá que incluiu pacientes com cardiopatias, displasia broncopulmonar e imunodeficiências encontrou prevalência de 9% de ventilação mecânica (WANG et al., 1995). Green e colaboradores registraram 7% de ventilação artificial em lactentes previamente hígidos (GREEN et al., 1989). Considerando que os pacientes avaliados no presente trabalho não eram portadores de doenças crônicas, a prevalência de ventilação mecânica encontrada é elevada. Possivelmente isto tenha ocorrido devido à baixa idade dos pacientes, pois 76% dos pacientes tinham até 3 meses, grupo de risco para doença

grave. Além disto, a amostra incluiu somente os pacientes portadores de BVA moderada e grave, o que também deve ter contribuído para maior prevalência de ventilação mecânica. Dos 7 pacientes que foram submetidos à ventilação mecânica, 6 eram menores de 3 meses, o que está de acordo com a literatura, pois o risco de ventilação mecânica é inversamente proporcional à idade. No estudo de Wang e colaboradores, a prevalência de ventilação artificial no grupo de lactentes hígidos foi em média 8%, e 21% nos pacientes portadores de doenças crônicas (WANG et al, 1995).

A idade dos pacientes no presente estudo apresentou média e mediana baixas. É relatado na literatura baixa frequência de BVA em lactentes menores de 1 mês, mas surpreendentemente no presente estudo 10 crianças (17%) estavam dentro desta faixa etária. Destas, em 5 foi identificado VRS. No estudo de Fischer a maioria dos pacientes apresentava menos de 4 meses (FISCHER, 1994). No estudo de Albernaz realizado em Pelotas, 86% dos pacientes que internaram por BVA tinham menos de 6 meses, mas houve maior concentração de pacientes entre 3 e 6 meses. Na presente amostra 76% dos pacientes tinham menos de 3 meses. Entretanto, no estudo de Albernaz foram incluídas todas as internações por BVA, independente da gravidade, o que deve explicar as diferenças na faixa etária (ALBERNAZ, 1997). Não foi encontrada diferença de prevalência entre os sexos, apesar da literatura citar uma tendência à predominância de BVA no sexo masculino (LEVY & GRABER, 1997).

A média e mediana do tempo de oxigenoterapia foi de 5 dias. Wang e colaboradores relataram mediana de 2 dias de uso de oxigênio no grupo de pacientes sem fatores de risco, e 6 a 7 dias nos grupos de pacientes com doenças crônicas (WANG et al., 1995). Meert e colaboradores, num estudo retrospectivo, compararam desfechos entre pacientes hígidos e portadores de doenças crônicas com infecção pelo VRS e descreveram que a média de uso de oxigênio foi de 1 dia no primeiro grupo, cuja

média de idade era 3 meses (MEERT et al., 1989). Da mesma forma Navas e colaboradores revisaram o tempo de oxigenoterapia em pacientes internados por bronquiolite pelo VRS. As medianas relatadas variam de 4 dias em lactentes menores de 1 mês a 9 dias em pacientes portadores de doenças crônicas (NAVAS ET AL., 1992). Considerando que a mediana de idade da amostra do presente estudo é de 1 mês, os achados são semelhantes aos da literatura.

O estudo retrospectivo de Navas e colaboradores relatou mediana de tempo de hospitalização de 5 dias para lactentes menores de 1 mês e 6 dias para os pacientes que apresentavam satHb menor de 90% na internação (NAVAS et al., 1992). McMillan e colaboradores registraram média de 8 dias para lactentes menores de 2 meses com bronquiolite por VRS (McMILLAN ET AL., 1988), achados semelhantes aos encontrados no presente trabalho, considerando a faixa etária predominante. Green e colaboradores relataram média de permanência no hospital de 3 dias para lactentes previamente hígidos, mas analisando separadamente os menores de 6 semanas a média aumentou para 5.6 dias (GREEN et al., 1989).

A prevalência do VRS, 62%, foi semelhante à citada na literatura. A utilização de dois métodos de identificação viral não deve ter comprometido os resultados, pois ambos os métodos apresentam especificidade e sensibilidade semelhantes (MICHAELS et al., 1992; OBEL et al., 1995).

A contagem de eosinófilos no sangue periférico mostrou-se diminuída na maioria dos pacientes, conforme ocorre geralmente em infecções agudas bacterianas e virais que suprimem o número de eosinófilos sangüíneos (VENGE, 1990; GAROFALO et al., 1994; MARTINEZ et al., 1998). O mecanismo que leva à eosinopenia em infecções agudas não está totalmente esclarecido, não parece depender de estresse, já que foi observado também em animais adrenalectomizados. Estudos prévios mostraram

que em um grupo de pacientes com BVA não ocorre esta supressão no número de eosinófilos, e o seguimento destes pacientes mostrou que eles têm maior risco de apresentar episódios de sibilância no futuro (MARTINEZ et al., 1998; EHLENFIELD et al., 2000). O questionamento que surge é se estes pacientes já teriam alguma alteração imunológica determinando eosinofilia e sibilância durante a infecção viral, sendo esta a mesma alteração responsável pelo desenvolvimento de asma posteriormente. Martinez e colaboradores avaliaram aos 6 anos crianças que haviam apresentado infecção respiratória viral com sibilância durante os 3 primeiros anos de vida e encontraram dois diferentes padrões de resposta imune durante o primeiro episódio de sibilância. Os pacientes que aos 6 anos de idade apresentavam sibilância, chamados sibilantes persistentes, haviam mostrado aumento tanto do número de eosinófilos sangüíneos como de IgE sérica em relação aos pacientes que aos 6 anos não referiam mais episódios de sibilância (MARTINEZ et al., 1998). Da mesma maneira Ehlenfield e colaboradores investigaram sibilância em crianças aos 7 anos de idade que haviam internado por bronquiolite por VRS dos 2 aos 18 meses de idade e encontraram a mesma associação de eosinofilia durante o episódio de BVA com sibilância posterior. Os lactentes que apresentaram eosinopenia durante a infecção pelo VRS não apresentaram episódios tardios de sibilância. Estes achados sugerem que a associação de bronquiolite com asma não ocorre devido a dano às vias aéreas provocado pelo vírus, mas provavelmente devido a alguma alteração imunológica que ou é induzida pela infecção viral ou já está presente antes da infecção (EHLENFIELD et al., 2000). Nenhum destes estudos relacionou número de eosinófilos com gravidade da bronquiolite. Garofalo e colaboradores publicaram um estudo sobre comportamento de eosinófilos sangüíneos em BVA. Foi observado que nos lactentes menores de 2 meses não houve supressão do número de eosinófilos circulantes durante a infecção viral, não

havendo diferença entre estes e os controles sem infecção. Mas os lactentes maiores de 2 meses mostraram diminuição de eosinófilos (mediana 0) durante episódio de BVA (GAROFALO et al., 1994). Estes achados são semelhantes aos achados do presente estudo, que também mostrou maior número de eosinófilos nos lactentes menores de 3 meses em relação aos maiores de 3 meses, com diferença no limite da significância estatística ($p=0.052$). Parece haver um mecanismo que bloqueia a supressão de eosinófilos em lactentes pequenos com bronquiolite. O mesmo estudo de Garofalo e colaboradores mostrou maior número de eosinófilos em pacientes do sexo masculino com BVA em relação a pacientes do sexo feminino, achado também descrito no estudo de Ehlenfield e colaboradores (GAROFALO et al., 1994; EHLENFIELD et al.,2000). O presente estudo não demonstrou nenhuma diferença na contagem de eosinófilos entre os sexos.

No estudo de Fischer a contagem de eosinófilos no sangue periférico mostrou um expressivo número de pacientes com ausência de eosinófilos (60%). Somente 5% apresentavam eosinofilia, acima de 400. Contudo, não foi encontrada associação com gravidade nos mesmos (FISCHER, 1994). No presente estudo, entretanto, houve uma diferença estatisticamente significativa no número de eosinófilos em relação à gravidade dos pacientes avaliada através da satHb. O grupo de pacientes com menor saturação apresentou menor contagem de eosinófilos. Esta diferença foi identificada quando analisados os 3 grupos de pacientes divididos conforme a satHb - <90%, 90-94% e >94% - e quando comparado grupo 1 com grupo 2 e grupo 1 com grupo 3. Também os pacientes que evoluíram para ventilação mecânica apresentaram menor número de eosinófilos, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa, provavelmente devido à falta de poder da amostra pelo pequeno número de pacientes no grupo da ventilação. Quanto ao tempo de uso de oxigênio, não foi encontrada diferença no

número de eosinófilos, mas este não é considerado um critério muito preciso de avaliação de gravidade. Possivelmente estes achados estejam associados com a eosinopenia causada por infecções agudas (VENGE, 1990), e os pacientes com infecções mais graves devem suprimir mais os eosinófilos circulantes. Mas também pode-se especular que fatores imunológicos relacionados com a eosinopenia possam estar associados com outros que determinam a gravidade. A idade menor de 3 meses de muitos pacientes poderia estabelecer fator de confusão para os diferentes valores de eosinófilos encontrados com relação à gravidade. Entretanto isto se torna improvável na medida em que aqueles com menos de 3 meses apresentavam maior número de eosinófilos.

Não foi encontrada diferença na contagem de eosinófilos em relação à história familiar de asma, o que também poderia ser fator de confusão, resultado semelhante aos achados da literatura (EHLENFIELD et al.,2000). Igualmente não houve diferença entre os pacientes com VRS positivo na secreção eos pacientes com resultado de vírus negativo.

Em relação à PCE, os resultados encontrados mostram ampla variação, de 2 a 114 $\mu\text{g/l}$, com média 13.9 e mediana 6. Segundo informações do fabricante do *kit* de dosagem, a média em adultos saudáveis é de 4.4 com percentil 95 em 11 $\mu\text{g/l}$. Achados semelhantes foram encontrados por Peterson e colaboradores (média 6 $\mu\text{g/l}$) em indivíduos saudáveis (PETERSON et al.,1991). Sugai e colaboradores dosaram PCE em crianças com asma brônquica e dermatite atópica e compararam com controles. A média da PCE em controles foi de 5.8, enquanto nas crianças com asma e dermatite atópica foi de 23.7 e 21.2 respectivamente, diferença estatisticamente significativa. Os níveis de PCE nos controles variou de 3 a 10 $\mu\text{g/l}$ (SUGAI et al., 1992). Observa-se que nos pacientes aqui estudados a variação foi bem maior, mas a mediana ficou em 6 $\mu\text{g/l}$,

dentro da faixa da normalidade segundo a literatura. Sigurs e colaboradores dosaram PCE sérica em 19 lactentes com bronquiolite durante a fase aguda, aos 30 dias e 6 meses após o quadro inicial. Estes autores acompanharam as crianças por 2 anos para verificar o desenvolvimento de asma brônquica. Não houve diferença nos níveis de PCE sérica nos três momentos; a mediana encontrada na fase aguda (7.4 µg/l) foi semelhante à do presente estudo, e não houve associação dos níveis de PCE com o desenvolvimento de asma, mas a amostra era pequena (SIGURS et al., 1994). Por outro lado, Koller e colaboradores demonstraram que pacientes com PCE sérica superior a 20 µg/l durante episódio de BVA tiveram maior probabilidade de apresentar episódios de sibilância num período de seguimento de 12 meses. Não houve correlação de PCE com o número de eosinófilos sangüíneos (KOLLER et al., 1997), achado semelhante ao desta amostra. Da mesma forma, os achados de Villa e colaboradores evidenciaram associação entre níveis séricos elevados de PCE durante sibilância entre 2 e 4 anos e o desenvolvimento de asma posteriormente (VILLA et al., 1998). Gonzalez-Caballero e colaboradores, por sua vez, não encontraram associação de PCE sérica com BVA nem com sibilância posterior (GONZALEZ-CABALLERO et al., 1999).

Quanto ao achado de diferença nos níveis de PCE quanto ao sexo, não há relato semelhante na literatura.

Outros estudos encontraram associação de PCE na secreção nasofaríngea com BVA. Garofalo e colaboradores verificaram uma correlação negativa de PCE na secreção com satHb, sugerindo um possível papel na determinação da gravidade (GAROFALO et al., 1992). A impossibilidade técnica de realização da dosagem de PCE na secreção nasofaríngea é uma limitação importante desta pesquisa, pois os achados de PCE sérica e da contagem de eosinófilos sangüíneos poderiam assim ser comparados. Há indícios de que a liberação de PCE seja mais intensa localmente nas

vias aéreas do que no soro. Reijonen e colaboradores verificaram que o aumento de PCE na secreção nasofaríngea durante episódio de BVA esteve associado com sibilância posterior (REIJONEN et al., 1997a).

Os resultados deste estudo não mostraram correlação do número de eosinófilos com PCE sérica. Não há relatos de aumento de eosinófilos como condição para aumento de PCE, mas sim de que os eosinófilos devam ser ativados para então ocorrer a liberação de PCE pelos seus grânulos. A infecção pelo VRS pode provocar a ativação dos eosinófilos, com liberação de PCE possivelmente a nível local. São achados controversos, já que estudos de necropsia de pacientes acometidos de BVA por VRS não mostraram aumento de eosinófilos na mucosa das vias aéreas (EHLENFIELD et al, 2000).

Considerando-se os presentes achados e as descrições prévias da literatura, torna-se ainda difícil aceitar que a PCE desempenhe algum papel específico em BVA. Contudo, os achados relativos aos eosinófilos sangüíneos sugerem uma possível participação nos fenômenos inflamatórios da BVA. É possível que sua importância se restrinja a um grupo de pacientes geneticamente predisposto, o que ainda não foi adequadamente elucidado. São necessários novos estudos para avaliar o papel do confundimento de outros fatores sobre a associação bruta encontrada neste trabalho.

7 CONCLUSÕES

- A contagem de eosinófilos no sangue periférico foi significativamente menor nos pacientes com BVA grave na análise bivariada.

- Não houve correlação entre PCE sérica e gravidade da BVA, conforme indicam os estudos mais recentes na literatura.

- Não houve correlação entre os níveis de eosinófilos no sangue periférico e os níveis séricos de PCE.

- As características da amostra estudada quanto à apresentação clínica, gravidade, prevalência de VRS, tempo de uso de oxigênio e tempo de internação são semelhantes aos achados da literatura.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albernaz E. Epidemiologia da hospitalização por bronquiolite aguda no período pós-neonatal em Pelotas, RS [dissertação]. Universidade Federal de Pelotas; 1997.
2. Andersen P. Pathogenesis of lower respiratory tract infections due to chlamydia, mycoplasma, legionella and viruses. *Thorax* 1998;53:302-7.
3. Beem M, Wright FH, Hamre D, Egerer R, Oehme M. Association of the chimpanzee coryza agent with acute respiratory disease in children. *N Engl J Med* 1960;263:523-30.
4. Bont L, Heijnen CJ, Kavelaars A, van Aalderen WM, Brus F, Draaisma JTh, et al. Peripheral blood cytokine responses and disease severity in respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Eur Respir J* 1999;14:144-9.
5. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneón G, Ghavanian N, Enander I, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990;323:1033-9.
6. Bruhn FW, Yeager AS. Respiratory syncytial virus in early infancy. *Arch Dis Child* 1977;131:145-8.
7. Carrasco JAG, Quirós AB, Sanz EA, Orriols JJT, López de Armentia SL, Mon MA. Proteína catiónica eosinófila sérica en niños com inflamación alérgica y no alérgica. *An Esp Pediatr* 1996;44:245-9.
8. Chanock RM, Kim HW, Vargosko AJ, Deleva A, Johnson KM, Cumming C, et al. Respiratory syncytial virus. Virus recovery and other observations during 1960 outbreak of bronchiolitis, pneumonia, and other minor respiratory diseases in children. *JAMA* 1961;176:647-53.

9. Chin J, Magoffin RL, Shearer LA, Schieble JH, Lennette EH. Field evaluation of a respiratory syncytial virus vaccine and a trivalent parainfluenza virus vaccine in a pediatric population. *Am J Epidemiol* 1969;89:449-63.
10. Dahl R, Venge P, Olsson I. Variations of blood eosinophils and eosinophil cationic protein in serum in patients with bronchial asthma. *Allergy* 1978;33:211-5.
11. Darville T, Yamauchi T. Respiratory syncytial virus. *Pediatr Rev* 1998;19:55-61.
12. De Boeck K, van Der Aa N, van Lierde S, Corbeel L, Eeckels R. Respiratory syncytial virus: a double-blind dexamethasone efficacy study. *J Pediatr* 1997;131:919-21
13. Ehlenfield DR, Cameron K, Welliver RC. Eosinophilia at the time of respiratory syncytial virus bronchiolitis predicts childhood reactive airway disease. *Pediatrics* 2000;105:79-83.
14. Engel S, Newns GH. Proliferative mural bronchiolitis. *Arch Dis Child* 1940;15:219-29.
15. Everard ML, Milner AD. The respiratory syncytial virus and its role in acute bronchiolitis. *Eur j Pediatr* 1992;151:638-51.
16. Fischer GB. Fatores prognósticos para bronquiolite viral aguda [tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1994.
17. Fujimoto K, Kubo K, Matsuzawa Y, Sekiguchi M. Eosinophil cationic protein levels in induced sputum correlate with the severity of bronchial asthma. *Chest* 1997;112:1241-7.
18. Garofalo R, Dorris A, Ahlstedt S, Welliver RC. Peripheral blood eosinophil counts and eosinophil cationic protein content of respiratory secretions in bronchiolitis: relationship to severity of disease. *Pediatr Allergy Immunol* 1994;5:111-7.

19. Garofalo R, Kimpen JLL, Welliver RC, Ogra PL. Eosinophil degranulation in the respiratory tract during naturally acquired respiratory syncytial virus infection. *J Pediatr* 1992;120:28-32.
20. Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *AJDC* 1986;140:543-6.
21. Gonzalez-Caballero MD, Martinez-Gimeno A, Garcia G, Luna C, Marin-Ferrer M, Lopez-Silvarrey-Varela A, et al. Serum levels of eosinophilic cationic protein in infants during acute bronchiolitis and within twelve months thereafter. Abstracts on-disk European Respiratory Society 1999 Annual Congress Madrid, Spain October 9-13.
22. Green M, Brayer AF, Schenkman KA, Wald ER. Duration of hospitalization in previously well infants with respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:601-5.
23. Hall CB, Douglas JG. Modes of transmission of respiratory syncytial virus. *J Pediatr* 1981;99:100-2.
24. Hall CB, Douglas JG, Schnabel KC, Geiman JM. Infectivity of respiratory syncytial virus by various routes of inoculation. *Infect Immun* 1981;33:779-83.
25. Hall CB, Hall WJ, Speers DM. Clinical and physiological manifestations of bronchiolitis and pneumonia. *Am J Dis Child* 1979;133:798-802.
26. Henderson FW, Collier AM, Clyde WA Jr, Denny FW. Respiratory- syncytial-virus infections and immunity:a prospective, longitudinal study in young children. *N Engl J Med* 1979;300:530-4.
27. Hendry RM, Pierik LT, McIntosh K. Prevalence of respiratory syncytial virus subgroups over six consecutive outbreaks: 1981-1987. *J Infect Dis* 1989;160:185-90.

28. Heymann PW, Rakes GP, Hogan AD, Ingram JM, Hoover GE, Platts-Mills TA. Assessment of eosinophils, viruses and IgE antibody in wheezing infants and children. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:380-2.
29. Hoshino M, Nakamura Y. Relationship between activated eosinophils of the bronchial mucosa and serum eosinophil cationic protein in atopic asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;112:59-64.
30. Ingram JM, Rakes GP, Hoover GE, Platts-Mills TA, Heymann PW. Eosinophil cationic protein in serum and nasal washes from wheezing infants and children. *J Pediatr* 1995;127:558-64.
31. Kantor O, Rosário NA. Contagem de eosinófilos circulantes e níveis séricos de proteína catiônica eosinofílica em asmáticos. *J Pediatr* 1997;73:11-5.
32. Kaul TJ, Welliver RC, Wong DT, Udwadia RA, Riddlesberger K, Ogra PL. Secretory antibody response to respiratory syncytial virus infection. *Am J Dis Child* 1981;135:1013-6.
33. Kimpen JLL, Garofalo R, Welliver RC, Ogra PL. Activation of human eosinophils in vitro by respiratory syncytial virus. *Pediatr Res* 1992;32:160-4.
34. Kneyber MC, Brandenburg AH, Groot R, Joosten KF, Rothbarth PH, Ott A, et al. Risk factors for respiratory syncytial virus associated apnoea. *Eur J Pediatr* 1998;157:331-5.
35. Koller DY, Wojnarowski C, Herkner KR, Weinländer G, Raderer M, Eichler I, Frischer T. High levels of eosinophil cationic protein in wheezing infants predict the development of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:752-6.
36. Kopelman BI, Miyoshi MH. Infecção pelo vírus sincicial respiratório. *Pediatr Mod* 1999;35. 7 p. [separata]

37. Lebel MH, Gauthier M, Lacroix J, Rousseau E, Buithieu M. Respiratory failure and mechanical ventilation in severe bronchiolitis. *Arch Dis Child* 1989;64:1431-7.
38. Lee MH, Lee JH, Park CH, Ahn YM, Koh YY. Serum eosinophil cationic protein levels and bronchodilator responses at acute asthma exacerbation. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;79:363-9.
39. Levy BT, Graber MA. Respiratory syncytial virus infection in infants and young children. *J Fam Pract* 1997;45:473-81.
40. Lugo RH, Nahata MC. Pathogenesis and treatment of bronchiolitis. *Clin Pharm* 1993;12:95-116.
41. Martinez FD, Stern DA, Wright AL, Taussig LM, Halonen M. Differential immune responses to acute lower respiratory illness in early life and subsequent development of persistent wheezing and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:915-20.
42. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ, et al. Asthma and wheezing in the first six years of life. *N Engl J Med* 1995;332:133-8.
43. McConnochie KM. Bronchilitis- what's in the name. *Am J Dis Child* 1983;137:11-3.
44. McConnochie KM, Hall CB, Walsh EE, Roghmann KJ. Variation in severity of respiratory syncytial virus infections with subtype. *J Pediatr* 1990;117:52-62.
45. McMillan JA, Tristram DA, Weiner LB, Higgins AP, Sandstrom C, Brandon R. Prediction of the duration of hospitalization in patients with respiratory syncytial virus infection: use of clinical parameters. *Pediatrics* 1988;81:22-6.
46. Meert K, Heidemann S, Lieh-Lai M, Sarnaik AP. Clinical characteristics of respiratory syncytial virus infections in healthy versus previously compromised host. *Pediatr Pulmonol* 1989;7:167-70.

47. Michaels MG, Serdy C, Barbadora K, Green M, Apalsch A, Wald E. Respiratory syncytial virus: a comparison of diagnostic modalities. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:613-6.
48. Milner AD. Acute bronchiolitis in infancy: treatment and prognosis. *Thorax* 1989;44:1-5.
49. Motojima S, Tateishi K, Koseki T, Makino S, Fukuda T. Serum levels of eosinophil cationic protein and IL-5 patients with asthma without systemic corticosteroids. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;114(Suppl 1):55-9.
50. Mulholland EK, Olinsky A, Shann FA. Clinical findings and severity of acute bronchiolitis. *Lancet* 1990;335:1259-61.
51. Nadal D, Ogra PL. Development of local immunity: role in mechanisms of protection against or pathogenesis of respiratory syncytial viral infections. *Lung* 1990;(Suppl):379-387.
52. Navas L, Wang E, Carvalho V, Robinson J, et al. Improved outcome of respiratory syncytial virus infection in a high-risk hospitalized population of canadian children. *J Pediatr* 1992;121:348-54.
53. Niggemann B, Ertel M, Lanner A, Wahn U. Relevance of serum ECP measurements for monitoring acute asthma in children. *J Asthma* 1996;33:327-30.
54. Obel N, Andersen HK, Jensen IP, Mordhorst CH. Evaluation of Abbott TestPack RSV and an in-house RSV ELISA for detection of respiratory syncytial virus in respiratory tract aspirates. *APMIS* 1995;103:416-8.
55. Olsson I, Venge P. Cationic proteins of human granulocytes - I. Isolation of the cationic proteins from the granules of leukaemic myeloid cells. *Scand J Haematol* 1972;9:204-14.

56. Panitch HB, Callahar CW, Schidlow DV. Bronchiolitis in children. *Clin Chest Med* 1993;14:715-31.
57. Pena JM, Rubira N, Botey J, Rodrigo J, Alonso R, Eseverri L, et al. Effect of conditions in obtaining blood samples for ECP testing in children. *Allerg Immunol* 1996;28:39-43.
58. Peterson CGB, Enander I, Nystrand J, Anderson AS, Nilsson L, Venge P. Radioimmunoassay of human eosinophil cationic protein (ECP) by an improved method. Establishment of normal levels in serum and turnover *in vivo*. *Clin Exp Allergy* 1991;21:561-7.
59. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Dolovich J, Hargreave FE. Measuring airway inflammation in asthma: eosinophils and eosinophilic cationic protein in induced sputum compared with peripheral blood. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:539-44.
60. Price JF. Acute and long-term effects of viral bronchiolitis in infancy. *Lung* 1990;Suppl:414-21.
61. Rakshi K, Couriel JM. Management of acute bronchiolitis. *Arch Dis Child* 1994;71:463-5.
62. Reijonen TM, Korppi M, Kleemola M, Savolainen K, Kuikka L, Mononen I, et al. Nasopharyngeal eosinophil cationic protein in bronchiolitis:relation to viral findings and subsequent wheezing. *Pediatr Pulmonol* 1997a;24:35-41.
63. Reijonen TM, Korppi M, Kuikka L, Savolainen K, Kleemola M, Monomen I, et al. Serum eosinophil cationic protein as a predictor of wheezing after bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol* 1997b;23:397-403.

64. Reilly CM, Stokes JJ, McClelland L, Cornfeld D, Hamparian VV, Ketler A, et al. Studies of acute respiratory illness caused by respiratory syncytial virus. *N Engl J Med* 1961;264:1176-82.
65. Remes S, Korppi M, Remes K, Savolainen K, Monomen I, Pekkanen. Serum eosinophil cationic protein (ECP) and eosinophil protein X (EPX) in childhood asthma: the influence of atopy. *Pediatr Pulmonol* 1998;25:167-74.
66. Ruuskanen O, Ogra PL. Respiratory syncytial virus. *Curr Probl Pediatr* 1993;23:50-79.
67. Shaw KN, Bell LM, Scherman NH. Outpatient assessment of infants with bronchiolitis. *Am J Dis Child* 1991;145:151-5
68. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F. Eosinophil cationic protein in nasal secretion and in serum and myeloperoxidase in serum in respiratory syncytial virus bronchiolitis: relation to asthma and atopy. *Acta Paediatr* 1994;83:1151-5.
69. Simoes EA. Respiratory syncytial virus infection. *Lancet* 1999;354:847-52.
70. Smyth RL, Fletcher JN, Thomas HM, Hart CA. Immunological responses to respiratory syncytial virus infection in infancy. *Arch Dis Child* 1997;76:210-4.
71. Straliootto SM, Roitman B, Lima JB, Fischer GB, Siqueira MM. Respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis: comparative study of RSV groups A and B infected children. *Rev Soc Bras Med Trop* 1994;27:1-4.
72. Stretton M, Ajizian SJ, Mitchell I, Newth CJ. Intensive care course and outcome of patients infected with respiratory syncytial virus. *Pediatr Pulmonol* 1992;13:143-50.
73. Sugai T, Sakiyama Y, Matumoto S. Eosinophil cationic protein in peripheral blood of pediatric patients with allergic diseases. *Clin Exp Allergy* 1992;22:275-81.

74. Tissing WJ, van Steensel-Moll HÁ, Offringa M. Risk factors for mechanical ventilation in respiratory syncytial virus infection. *Eur J Pediatr* 1993;152:125-7.
75. Toms GL. Respiratory syncytial virus: virology, diagnosis, and vaccination. *Lung* 1990;168(Suppl):388-95.
76. Toms GL, Webb MSC, Milner PD, Milner AD, Routledge EG, Scott R, et al. IGG and IGM antibodies to viral glycoproteins in respiratory syncytial virus infections of graded severity. *Arch Dis Child* 1989;64:1661-5.
77. Venge P. Serum measurements of eosinophil cationic protein (ECP) in bronchial asthma. *Clin Exp Allergy* 1993;23:3-7.
78. Venge P. The human eosinophil in inflammation. *Agents Actions* 1990;29:122-6.
79. Villa JR, Garcia G, Rueda S, Nogales A. Serum eosinophilic cationic protein may predict clinical course of wheezing in young children. *Arch Dis Child* 1998;78:448-52.
80. Volovitz B, Faden H, Ogra PL. Release of leukotriene C4 in respiratory tract during acute viral infection. *J Pediatr* 1988a;112:218-22.
81. Volovitz B, Welliver RC, Castro G, Krystofik DA, Ogra PL. The release of leukotrienes in the respiratory tract during infection with respiratory syncytial virus: role in obstructive airway disease. *Pediatr Res* 1988b;24:504-7.
82. Walsh EE, McConnochie KM, Long CE, Hall CB. Severity of respiratory syncytial virus infection is related to virus strain. *J Infect Dis* 1997;175:814-20.
83. Wang EL, Law BJ, Boucher FD, Stephens D, Robinson JL, Dobson S, et al. Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) study of admission and management variation in patients hospitalized with respiratory tract infection. *J Pediatr* 1996;129:390-5.

84. Wang EL, Law BJ, Stephens D. Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) prospective study of risk factors and outcomes in patients hospitalized with respiratory syncytial viral lower respiratory tract infection. *J Pediatr* 1995;126:212-9.
85. Weller PF. Eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:1-10.
86. Weller PF. The immunobiology of eosinophils. *N Engl J Med* 1991;324:1110-8.
87. Welliver JR, Welliver RC. Bronchiolitis. *Pediatr Rev* 1993;14:134-9.
88. Welliver RC, Kaul TN, Ogra PL. The appearance of cell-bound IgE in respiratory-tract epithelium after respiratory-syncytial virus infection. *N Engl J Med* 1980;303:1198-1202.
89. Welliver RC, Ogra PL. Immunology of respiratory viral infections. *Ann Rev Med* 1988;39:147-62.
90. Welliver RC, Sun M, Rinaldo D, Ogra PL. Respiratory syncytial virus-specific IgE responses following infection: evidence for a predominantly mucosal response. *Pedriatr Res* 1985;19:420-4.
91. Welliver RC, Sun M, Rinaldo D, Ogra PL. Predictive value of respiratory syncytial virus-specific IgE responses for recurrent wheezing following bronchiolitis. *J Pediatr* 1986;109:776-80.
92. Welliver RC, Wong DT, Sun M, Middleton E Jr, Vaughan RS, Ogra PL. The development of respiratory syncytial virus-specific IgE and the release of histamine in nasopharyngeal secretions after infection. *New Engl J Med* 1981;305:841-6.
93. Wohl ME, Chernick V. State of the art: bronchiolitis. *Am Rev Respir Dis* 1978;118:759-81.
94. Wood DW, Downes JJ, Lecks HI. A clinical scoring system for the diagnosis of respiratory failure. *Am J Dis Child* 1972;123:227-8

95. Young S, O'Keeffe PT, Arnott J, Landau LI. Lung function, airway responsiveness, and respiratory symptoms before and after bronchiolitis. *Arch Dis Child* 1995;72:16-24
96. Zimmerman B. Clinical experience with the measurement of ECP:usefulness in the management of children with asthma. *Clin Exp Allergy* 1993;23:8-12.

9 ANEXOS

ANEXO 1

FICHA DE ENTREVISTA

1. Número ___-___-___
2. Registro
3. Nome _____
4. Sexo (1) masculino (2) feminino ()
5. Data de nascimento __/__/__ __/__/__
6. Nome da mãe _____
7. Nome do pai _____
8. Endereço

9. Data da internação no hospital __/__/__ __/__/__
10. Data da internação na UTI __/__/__ __/__/__
11. Horário __: __
12. Dia de internação em que foi transferido p/ UTI _ _
13. Respondente (1) mãe (2) pai (3) avó (7) outro ()
14. Qual o motivo de ter trazido a criança ao hospital?
(1) falta de ar (2) chiado no peito (3) parou de respirar
(4) febre (7) outro _____ (9) IGN ()
15. História de febre (1) não (2) sim (9) IGN ()
16. Tempo entre início dos sintomas e a internação:
sintomas de IVAS __ dias __
dificuldade respirat. / chiado __ dias __

ANTECEDENTES PESSOAIS

- | Nome _____ | Número -- |
|--|----------------|
| 17. Fonte de informação (1) cartão (2) mãe (7) outro | () |
| 18. Peso de nascimento _____ gramas | ----- |
| 19. Apgar 5 min -- | -- |
| 20. Prematuridade (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| 21. Uso de oxigênio no período neonatal (+ de 24 horas)
(1) não (2) sim (9) IGN | () |
| 22. Mamou no peito? (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| 23. Por quanto tempo? -- meses -- dias
(98= ainda mama 99= IGN) | -- |
| 24. Já teve chiado no peito? (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| 25. Já teve alergia de pele? (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| 26. Frequentou creche nas últimas 2 semanas? (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| 27. História de cardiopatia congênita? (1) não (2) sim (9) IGN | () |

ANTECEDENTES FAMILIARES

- | | |
|--|-----|
| 28. Mãe: Idade -- anos | |
| 29. Alguém fuma em casa? | |
| Pai (1) não (2) sim | () |
| Mãe (1) não (2) sim | () |
| Outro (1) não (2) sim | () |
| 30. Tem alguém na família com bronquite asmática / asma? | |
| Pai (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| Mãe (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| Irmãos (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| Avós (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| 31. Tem alguém na família com rinite alérgica? | |
| Pai (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| Mãe (1) não (2) sim (9) IGN | () |
| Irmãos (1) não (2) sim (9) IGN | () |

EXAME FÍSICO

Nome _____

Número _ _ _

32. Peso _ _ _ _ _ gramas

33. Temperatura _ _ _ C

34. Sensório (1) alerta (2) sonolento (3) agitado
(4) sedado (7) outro _____

35. Frequência cardíaca _ _ _ bpm

36. Frequência respiratória _ _ _ mpm

37. Cianose de extremidades (1) não (2) sim (9) IGN

38. Enchimento capilar (1) < 3 seg (2) > 3 seg (9) IGN

39. Cianose perioral (1) não (2) sim (9) IGN

40. Tempo expiratório prolongado (1) não (2) sim (9) IGN

41. Sibilância audível com estetoscópio (1) não (2) sim (9) IGN

42. Sibilância audível sem estetoscópio (1) não (2) sim (9) IGN

43. Estertores crepitantes (1) não (2) sim (9) IGN

44. Entrada de ar (1) boa (2) regular (3) ruim (9) IGN

45. Batimentos de asa do nariz (1) não (2) sim (9) IGN

46. Tiragem subcostal (1) não (2) intensa (3) moderada
(4) leve (9) IGN

47. Tiragem intercostal (1) não (2) intensa (3) moderada
(4) leve (9) IGN

48. Tiragem supraclavicular (1) não (2) intensa (3) moderada
(4) leve (9) IGN

49. Saturação da hemoglobina pela oximetria de pulso _ _ _ %

50. VM (1) não (2) sim

51. Indicação de VM:

- (1) hipercapnia com $\text{pH} < 7,2$ (2) hipercapnia com $\text{pH} \geq 7,2$
(3) hipoxemia (4) apnéia
(5) insuficiência respiratória clínica (fadiga)
(6) PCR (7) outras _____

52. Parâmetros de VM PIP __ FR __ PEEP __ FiO₂ __ TI __

53. Expansão torácica (1) boa (2) regular (3) ruim

54. Gasometria inicial (1) sem VM (2) com VM

55. pH ____

56. PaCO₂ ____ mm Hg

57. PaO₂ ____ mm Hg

58. Bic Na ____

59. PaO₂ / FiO₂ ____

GA com VM:

60. pH ____

61. PaCO₂ ____ mm Hg

62. PaO₂ ____ mm Hg

63. BicNa ____

64. PaO₂ / FiO₂ ____

65. Hematócrito ____

66. Hemoglobina ____

67. Leucócitos _____

68. Diferencial:

69. Vírus na secreção: (1) negativo (2) VRS (3) adenovírus
(4) parainfluenza (5) influenza (9) IGN

70. PCE sérica ____

ACOMPANHAMENTO 3^o DIA

71. Temperatura ___ C
72. Sensório (1) alerta (2) sonolento (3) agitado
(4) sedado (7) outro _____
73. Frequência cardíaca ___ bpm
74. Frequência respiratória ___ mpm
75. Cianose de extremidades (1) não (2) sim (9) IGN
76. Enchimento capilar (1) < 3 seg (2) > 3 seg (9) IGN
77. Cianose perioral (1) não (2) sim (9) IGN
78. Tempo expiratório prolongado (1) não (2) sim (9) IGN
79. Sibilância audível com estetoscópio (1) não (2) sim (9) IGN
80. Sibilância audível sem estetoscópio (1) não (2) sim (9) IGN
81. Estertores crepitantes (1) não (2) sim (9) IGN
82. Entrada de ar (1) boa (2) regular (3) ruim (9) IGN
83. Batimentos de asa do nariz (1) não (2) sim (9) IGN
84. Tiragem subcostal (1) não (2) intensa (3) moderada
(4) leve (9) IGN
85. Tiragem intercostal (1) não (2) intensa (3) moderada
(4) leve (9) IGN
86. Tiragem supraclavicular (1) não (2) intensa (3) moderada
(4) leve (9) IGN
87. Saturação da hemoglobina pela oximetria de pulso ___ %
88. Com O₂ _____
89. Uso de oxigênio (1) não (2) sim, VM (3) sim, máscara
(4) sim, oxitenda (5) sim, cateter nasal
90. Uso de broncodilatadores (1) não (2) sim
91. Uso de antibióticos (1) não (2) sim
92. Uso de corticóides (1) não (2) sim
93. UTI (1) não (2) sim
94. Data internação UTI ___ / ___ / ___
95. Ventilação mecânica (1) não (2) sim
96. Data da VM ___ / ___ / ___
97. Parâmetros: PIP ___ PEEP ___
FR ___ FiO₂ ___

EVOLUÇÃO

98. Complicações _____

99. Uso de antibióticos (1) não (2) sim

100. Uso de broncodilatadores (1) não (2) sim

101. Uso de drogas vasoativas (1) não (2) sim

102. Tempo de VM __ dias

103. Permanência na UTI __ dias

104. Permanência no hospital __ dias

105. Data da alta hospitalar __ / __ / __

106. Óbito (1) não (2) sim

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO

Informamos que seu (sua) filho (a) é candidato a ser incluído numa pesquisa sobre a doença chamada Bronquiolite. Em caso de participar da pesquisa seu (sua) filho(a) será acompanhado(a) desde a hospitalização até a alta hospitalar. Serão realizados os exames laboratoriais e radiológicos que são feitos rotineiramente em crianças com esta doença. Além destes, serão acrescentados um exame de sangue e exame da secreção nasal (obtido por aspiração das narinas). Para o exame de sangue será utilizada a mesma coleta que é feita para os exames de rotina. Os resultados dos exames serão fornecidos durante a hospitalização e no acompanhamento ambulatorial.

A participação ou recusa é livre, não determinando nenhuma alteração no atendimento à criança.

