

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS**

**MÉDICAS**

**PREVALÊNCIA DE VÍRUS RESPIRATÓRIO EM PACIENTES**  
**ATENDIDOS POR ASMA AGUDA NA SALA DE EMERGÊNCIA**

**Autora: Ivete Terezinha Machado da Rocha**

**Orientadores: Professor Sérgio Saldanha Menna Barreto**

**Professor Paulo de Tarso Roth Dalcin**

**Porto Alegre, 2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS**

**MÉDICAS**

**PREVALÊNCIA DE VÍRUS RESPIRATÓRIO EM PACIENTES**  
**ATENDIDOS POR ASMA AGUDA NA SALA DE EMERGÊNCIA**

**Autora: Ivete Terezinha Machado da Rocha**

**Orientadores: Professor Sérgio Saldanha Menna Barreto**

**Professor Paulo de Tarso Roth Dalcin**

**Porto Alegre, 2006**

**R672p** Rocha, Ivete Terezinha Machado da  
Prevalência de vírus respiratório em pacientes atendidos  
por asma aguda na sala de emergência / Ivete Terezinha  
Machado da Rocha ; orient. Sérgio Saldanha Menna Barreto,  
Paulo de Tarso Roth Dalcin. – 2006.  
135 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-  
Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre,  
BR-RS, 2006.

1. Asma 2. Epidemiologia 3. Serviços médicos de  
emergência 4. Infecções respiratórias I. Menna Barreto,  
Sérgio Saldanha II. Dalcin, Paulo de Tarso Roth III. Título.

NLM: WF 553

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Dr. Menna Barreto pela sua orientação, permanente disponibilidade e confiança neste trabalho.

Ao Dr. Paulo Dalcin, pelo indispensável apoio e ensinamento, pela sua dedicação, carinho e amizade.

À equipe do laboratório de vírus respiratório, Sandra, Dr. Enio que me ajudou na realização dos diagnósticos e, especialmente à Dra. Selir pelo apoio e amizade.

Aos estudantes de Medicina, grupo de pesquisa em asma, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), que me ajudaram e contribuíram para esta pesquisa.

À direção da FEPPS-IPB/LACEN, pela compreensão e apoio.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação (PPG) em Ciências Médicas, por esta oportunidade, e aos professores pelos ensinamentos.

Aos pacientes com asma aguda que aceitaram fazer parte desta pesquisa.

Ao Juan pela compreensão e apoio emocional, e a minha querida filha pelo carinho e paciência.

Aos meus colegas do Laboratório de Biologia Molecular do IPB/LACEN pela compreensão incentivo e amizade.

Aos meus familiares,  
permanente incentivo.

Aos meus amados,  
Máriele e Juan, pela presença e apoio.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2.1 Asma.....	11
2.2 Epidemiologia da asma.....	13
2.3 Patogenia.....	16
2.4 Fisiopatologia da asma.....	17
2.5 Asma aguda na sala de emergência.....	19
2.6 Fatores precipitantes da asma.....	21
2.6.1 Alérgenos domésticos.....	21
2.6.2 Asma ocupacional.....	22
2.6.3 Doença do refluxo gastroesofágico.....	23
2.6.6 Asma induzida por exercício.....	24
2.6.7 Infecções.....	25
2.6.9 Poluição.....	28
2.6.9 Fatores psicossociais da asma.....	30
2.7 Diagnóstico dos vírus respiratórios.....	31
2.7.1 Amostras clínicas para diagnóstico.....	32
2.7.2 Métodos de diagnóstico.....	33

2.8 Principais vírus envolvidos na exacerbação da asma.....	37
2.8.1 Vírus sincicial respiratório (VRS).....	37
2.8.2 Adenovírus.....	39
2.8.3 Vírus parainfluenza.....	41
2.8.4 Vírus influenza.....	43
2.8.5 Rinovírus.....	45
2.8.6 Coronavírus.....	46
2.8.7 Vírus echo e coxsachie.....	47
3 OBJETIVOS.....	48
3.1. Objetivo Geral.....	49
3.4 Objetivo específico.....	49
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
5. ARTIGO EM INGLÊS.....	70
6. ARTIGO EM PORTUGUÊS.....	99
7. ANEXOS.....	138



## **1 INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

Asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas inferiores caracterizada pela hiper-responsividade das mesmas e pela limitação variável do fluxo aéreo, sendo geralmente reversível (1-3). Trata-se de uma doença muito comum que afeta aproximadamente 7-10% da população. Segundo dados do *International Study for Asthma and Allergies in Childhood* (ISSAC), a prevalência no Brasil situa-se em torno de 20% (4).

A asma afeta uma parcela significativa da população, com elevado custo social e econômico, pois é responsável por um grande número de atendimentos de urgência, com aproximadamente 350.000 internações hospitalares no Sistema Único de Saúde (SUS) por ano (5).

Em 1996, o gasto com internação por asma foi de 76 milhões de reais, o correspondente a 2,8% do gasto anual total (6).

No Brasil, os estudos para avaliar a taxa de mortalidade são poucos. Em São Paulo, em 1997, foram avaliadas as taxas de mortalidade em indivíduos de 5 a 34 anos, durante 5 anos. Foi encontrado um aumento da mortalidade passando de 0,2 óbitos/100.000 para 0,6 óbitos/100 (7).

As exacerbações da asma estão associadas com fatores precipitantes de diversas naturezas. A exposição aos alérgenos inalatórios, principalmente mofo, pólen e ácaro da poeira domiciliar, têm merecido muita atenção como desencadeantes da asma extrínseca (8). Outros fatores precipitantes importantes são: a exposição ao frio, exercício, drogas, poluição atmosférica e mudanças climáticas (9). Além disso, as infecções do trato respiratório também têm sido associadas como importante fator das crises asmáticas agudas (8-11).

O papel das viroses respiratórias pode ter dois efeitos relatados na asma: primeiro,

existe crescente evidência de que infecções graves na infância, alteram o desenvolvimento e a fisiologia do pulmão; segundo, infecções com vírus respiratórios precipitam sintomas de exacerbações em crianças e adultos que estavam com a asma estabilizada. O mecanismo pelo qual isso acontece é através da replicação viral em células epiteliais, ativando a cascata de inflamação e envolvendo granulócitos e macrófagos (9;12). Estudos sugerem que a importância da infecção viral tem sido subestimada como fator desencadeante da agudização da asma, o que ocorre principalmente devido à limitação da metodologia diagnóstica disponível para identificar os vírus respiratórios (9;13;14)

O uso de novas técnicas de diagnóstico, pesquisa por reação em cadeia da polimerase (PCR), tem elevado a frequência de infecções virais em adultos e crianças com exacerbação da asma. Em estudo realizado com crianças de 9 a 11 anos, foi visto que a infecção viral aumenta a reatividade das vias aéreas sendo responsável por 80% da prevalência dos episódios de asma aguda nesta faixa etária (14;15). Em adultos, o papel da infecção viral como causa da exacerbação da asma ainda não está muito bem definido. Estudos, para a identificação de vírus respiratório associado à crise asmática, demonstram a variação de 0% a 60% (9;16-18).

A frequência de viroses respiratórias na exacerbação da asma depende diretamente da metodologia aplicada. Algumas técnicas, como isolamento viral com aumento da carga viral, podem melhorar a sensibilidade do teste de imunofluorescência, mas são de difícil realização e não estão disponíveis em nosso meio (19;20).

Existe também dificuldade em identificar mesmo as viroses mais frequentes, pois alguns vírus têm diferentes graus de estabilidade. O vírus sincicial respiratório (VSR), por exemplo, é particularmente sensível ao congelamento e os rinovirus apresentam uma cultura de baixo rendimento. Os parainfluenza vírus são tradicionalmente isolados em cultura em células primárias e os coronavírus necessitam de cultura em órgãos de animais. Assim, são consideráveis as diferenças laboratoriais quanto à identificação dos vírus respiratórios (21).

A incidência de vírus respiratórios como fator desencadeante de asma aguda em pacientes atendidos na sala de emergência não tem sido estudada em nosso meio. Desta maneira, a elucidação do papel dos precipitantes na asma aguda grave contribuiria para otimizar o manejo da prevenção desta doença (22). O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência de vírus respiratório em pacientes atendidos por asma aguda no setor de adultos do Serviço de Emergência do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), estudando as associações entre as características clínicas e a presença destes vírus e verificando a sazonalidade dos vírus respiratórios identificados.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 DEFINIÇÃO DE ASMA

A definição e caracterização da asma como uma doença tem sido objeto de várias conferências mundiais e vários estudos nas últimas décadas, sempre em busca de uma expressão de consenso.

Em 1958, o *Ciba Foundation Guest Symposium* propôs a primeira definição (23): “asma refere-se à condição que determina em certos indivíduos um estreitamento brônquico generalizado, com mudanças na gravidade do seu quadro em curtos períodos de tempo, podendo regredir espontaneamente ou sob tratamento, não sendo determinada por doença cardiovascular. A característica clínica é a presença de dispnéia, que pode ser paroxística ou persistente, com sibilos e na maioria dos casos reversível após o uso de broncodilatador, inclusive corticóides”.

Embora as manifestações macroscópicas clássicas da asma fatal (hiper-insuflação, edema e hipersecreção de muco) já houvessem sido observadas por patologistas, a descrição histopatológica do quadro inflamatório da asma foi relatada pela primeira vez em estudos de autópsia em casos agudos fatais na década de 60 (24).

Com o advento da fibrobroncoscopia e suas técnicas associadas (lavado bronco-alveolar, escovado brônquico, biópsia endobrônquica, e biópsia transbrônquica), os avanços na biologia celular e com a introdução de novas tecnologias, tornou-se possível, nos últimos 15 anos, conhecer melhor a biologia pulmonar, a complexidade da inflamação, os mecanismos imunológicos e os processos de injúria e reparação, envolvidos na patogênese da asma. Com estes procedimentos teve-se a oportunidade de reconhecer e avaliar os vários tipos de células,

inúmeros mediadores químicos, proteínas e enzimas envolvidas na asma leve e moderada, passando a definição de asma a abranger, também, o nível celular-molecular (25;26).

Em 1995, o *Global Initiative for Asthma* (GINA) propôs como definição: “asma é uma doença caracterizada pela inflamação crônica das vias aéreas, na qual participam particularmente mastócitos, eosinófilos e linfócitos T. Em indivíduos suscetíveis, esta inflamação causa episódios recorrentes de broncoespamos, dispnéia, opressão torácica e tosse predominantemente noturna ou no início da manhã. Estes sintomas estão invariavelmente associados à limitação generalizada do fluxo aéreo que pode reverter-se espontaneamente ou sob tratamento. A inflamação está relacionada também à hiper-responsividade brônquica a vários estímulos alérgicos e não alérgicos. Seu curso clínico é caracterizado por exacerbações e remissões” (27).

O *The National Education and Prevention Program* (NAEPP) do *The National Institute of Health* (NIH), em conjunto com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (28), recentemente redefiniram a asma em função de suas principais características: inflamação crônica das vias aéreas, com pelo menos uma parcial reversibilidade da obstrução das vias aéreas e hiper-responsividade brônquica a uma variedade de estímulos.

## 2.2 EPIDEMIOLOGIA DA ASMA

No ocidente, a asma é a única doença crônica tratável que aumenta em prevalência e em número de internações (29). Esse aumento ocorre em todas as classes sociais. A prevalência no mundo varia de 0,7 a 18,4% da população em geral, havendo variação deste índice de região para região e de país para país (30). Segundo o informe do GINA, existem atualmente 300 milhões de pessoas asmáticas no mundo.

Em 1998 estudo multicêntrico (Internacional Study for Asthma and Allergies in Childhood – ISAAC) realizado em 56 países mostrou uma variabilidade de asma ativa de 1,6% a 36,8%, estando o Brasil em 8º lugar, com uma prevalência média de 20% (31). Estudos epidemiológicos referentes à asma são poucos no Brasil e desconhece-se a verdadeira dimensão da doença nas diferentes regiões do país. Esse fato dificulta em muito o planejamento e a execução de programas que visem sua prevenção. Neste mesmo estudos, algumas cidades brasileiras (Recife, Salvador, Itabira, Uberlândia, São Paulo, Curitiba e Porto Alegre) revelam valores mais atuais sobre a prevalência cumulativa de asma diagnosticada. Na faixa etária de 6 a 7 anos, entre 13.204 crianças entrevistadas, a prevalência de asma oscilou entre 4,7% e 20,7%. Na faixa etária de 13 a 14 anos, entre os 17.555 adolescentes entrevistados, a prevalência cumulativa oscilou entre 4,8% a 21,9% (31).

A taxa de incidência é o melhor indicador, capaz de demonstrar, dentre outros, o aumento ou a diminuição de uma doença, pois quantifica os episódios ou eventos novos, ocorridos num período definido. Em nosso meio, esse tipo de estudo é raro. Durante os anos de 1975 a 1995, foi estudada a incidência média mensal de crises de asma e de hospitalizações por asma, em Santo André (SP). Em crianças atendidas nas unidades assistenciais observou-se uma elevação significativa, indo de 35,57/10.000 crianças atendidas em 1975, para

43,38/10.000 crianças em 1994; e nos postos de saúde 42,25/10.000 crianças atendidas em 1975, para 64,49/10.000 em 1995 (31;32).

Segundo o banco de dados, do Ministério da Saúde do Brasil, ocorrem anualmente de 300.000 a 350.000 internações por asma, constituindo-se na terceira ou quarta causa de hospitalização pelo Sistema Único de Saúde (SUS), conforme o grupo etário considerado. Na faixa dos adultos jovens, de 20 a 29 anos de idade, tornou-se até a primeira causa de internação. A taxa aumenta quando as comunidades passam a adotar um estilo de vida ocidentalizado e se tornam urbanizadas (7).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), ocorreram 180.000 mortes por asma, em 1997. No Brasil, ocorrem anualmente, em média, 2.500 óbitos por asma e o coeficiente global de mortalidade no período 1980/1991 decresceu de 1,93 mortes por 100.000 habitantes, para 1,16 por 100.000. A partir de 1992, a tendência tem sido de elevação, partindo de 1,36 e chegando a 1,58 por 100.000, em 1995. Em 1996, caiu para 1,36 por 100.000 (6). No Rio Grande do Sul, a mortalidade geral por asma é de 0,004 a 0,689/100.000, entre os anos de 1995 a 1999 (33;34).

Vários estudos demonstram a associação entre alta morbidade/mortalidade em áreas geográficas de baixo perfil socioeconômico (35). Áreas de pobreza tendem a apresentar grande densidade populacional com um número maior de habitantes por domicílio e elevada concentração de habitantes por prédio, havendo intensa exposição à alérgenos de barata, de gato e de fungos (mofo). A asma é mais freqüente e mais grave na população pobre, sendo a mortalidade mais elevada nesta camada da população. Em consequência, a admissão hospitalar também é maior para as pessoas de condição social inferior (36;37).

O impacto sócio-econômico da asma é muito importante, sendo a asma uma das doenças que mais consome recursos em países desenvolvidos. Em termos mundiais, os custos com asma superam os com tuberculose e com a síndrome da imunodeficiência adquirida



(HIV/AIDS) somados. No Brasil, no ano de 1999, cada internação custou em média ao SUS R\$279,63, cerca de U\$ 140,00, perfazendo um total no ano para todo o país de R\$ 109.537.547,99 (cerca de U\$55 milhões, segundo o Ministério da Saúde – 2000) (29). Os custos diretos da asma (35-60%) incluem: programas educacionais e de saúde pública, gastos com pacientes ambulatoriais, hospitalizados, atendidos em serviços de emergência e unidades especializadas(Unidade de Tratamento Intensivo), utilização de ambulâncias, honorários médicos, de enfermagem, fisioterapia e terapia ocupacional, gastos com medicamentos e testes para alergia, despesas com equipamentos e exames laboratoriais, remuneração de tratamentos, com complicações a curto e longo prazos e investimentos em pesquisas (29).

Os custos indiretos (40-65%) incluem o absenteísmo escolar e profissional, a invalidez e a morte. Os custos mais difíceis de se avaliar são os relacionados à ansiedade, ao sofrimento, à má qualidade de vida e aos riscos futuros resultantes do absenteísmo escolar (29).

As infecções virais têm sido implicadas como um importante fator tanto no desenvolvimento da asma como na indução de suas exacerbações (38). A associação entre infecção viral e episódios agudos de asma foi, pela primeira vez, mencionada durante as epidemias de gripe de 1957 e 1958 (39;40).

O risco de desenvolver asma na infância está relacionado à presença da doença nos pais. Se um dos pais sofre de asma, o risco de a criança desenvolver asma é de 25%. Se ambos os pais são asmáticos essa taxa pode alcançar 50% (41). Cerca de 50% dos casos iniciam-se antes da idade de dez anos (42). Vários estudos sobre prevalência demonstram preponderância na infância (aproximadamente 8 a 10% da população) com um declínio nos adultos jovens (5 a 6%), ocorrendo uma segunda elevação no grupo maior de 60 anos de idade, alcançando a faixa de 7 a 9% da população (42-44).

## 2.3 PATOGENIA

A característica principal da asma é a inflamação. Contrastando com a maioria das patologias pulmonares e de outros órgãos, em que ocorrem respostas limitadas de injúria e reparação, a inflamação alérgica na asma se inicia na infância e persiste ao longo da vida do paciente acometido pela doença (24).

A inflamação brônquica é resultante de interações complexas entre células inflamatórias, mediadores e células estruturais das vias aéreas (3;45;46). Está presente em asma de início recente, em pacientes com formas leves da doença e mesmo entre os assintomáticos (47;48).

A asma é caracterizada pelo aumento da expressão de múltiplas proteínas que estão envolvidas em uma complexa cascata inflamatória. Essas proteínas inflamatórias incluem citocinas, quimiocinas, enzimas que produzem mediadores inflamatórios, receptores para mediadores inflamatórios e adesão de moléculas. O aumento da expressão da maioria destas proteínas é resultado de um aumento na transcrição genética, sendo que vários desses genes não são expressos em células normais sob condições habituais. Mudanças na transcrição de genes são reguladas por fatores de transcrição. Nas doenças inflamatórias, os fatores de transcrição ativados por vários estímulos inflamatórios (alérgenos, vírus, oxidantes e citocinas) acionam genes, determinando aumento da síntese de proteínas inflamatórias.

A resposta inflamatória tem características especiais que incluem infiltração eosinofílica, degranulação de mastócitos, lesão intersticial das paredes das vias aéreas e ativação dos linfócitos T *helper* (Th2) que produzem citocinas, como as interleucinas (IL), responsáveis pelo início e manutenção do processo inflamatório. A IL4 tem papel importante no aumento na

produção de imunoglobulinas (IgE) específica e na expressão de receptores de alta e baixa afinidade à IgE por muitas células inflamatórias (49;50).

Vários mediadores inflamatórios são liberados pelos mastócitos brônquicos: histamina, leucotrienos, triptase e prostaglandinas, pelos macrófagos, fator de necrose tumoral (TNF)  $\alpha$ , IL-6, óxido nítrico, pelos linfócitos T (IL-2,IL-3,IL-4,IL-5), fator alfa de crescimento de colônias de granulócitos (GM-CSF), pelos eosinófilos, proteínas derivadas de grânulos básicos, mediadores lipídicos e citocinas, pelos neutrófilos, elastase e pelas células epiteliais, endotelina-1, mediadores lipídicos, óxido nítrico. Através de seus mediadores as células causam lesões e alterações na integridade epitelial, anormalidade no controle neural autonômico (substância P, neurocinina A) e no tônus da via aérea, alterações na permeabilidade vascular, hipersecreção de muco, mudanças na função muco ciliar e aumento da reatividade do músculo liso da via aérea (3;51;52). Esses mediadores podem ainda atingir o epitélio ciliado, causando-lhe dano e ruptura. Como consequência, células epiteliais e miofibroblastos, presentes abaixo do epitélio, proliferam e iniciam o depósito intersticial de colágeno na lâmina reticular da membrana basal e as lesões irreversíveis que podem ocorrer em alguns pacientes com asma. Outras alterações, incluindo hipertrofia e hiperplasia do músculo liso, elevação no número de células caliciformes, aumento das glândulas submucosas e alterações no depósito/degradação dos componentes da matriz extracelular, são constituintes do remodelamento que interfere na arquitetura da via aérea, levando à irreversibilidade de obstrução que se observa em alguns pacientes (3).

## **2.4 FISIOPATOLOGIA DA ASMA**

A inflamação da mucosa brônquica ocasiona limitação ao fluxo aéreo devido ao aumento do fluxo sanguíneo brônquico, com vasodilatação, congestão e hiper-permeabilidade micro-vascular com edema e líquido intraluminal, tampões de muco e contração da musculatura

lisa peribrônquica. Este conjunto determina redução do calibre das vias aéreas, aumento de sua resistência e conseqüente hiperinsuflação pulmonar com alterações na relação ventilação-perfusão (53).

Testes de função pulmonar auxiliam no diagnóstico e monitoramento de pacientes asmáticos. As medidas mais comuns e simples de serem obtidas são as da espirometria: capacidade vital forçada (CVF), o volume expiratório no primeiro segundo (VEF1), a relação VEF1/CVF e o fluxo máximo médio expiratório forçado da capacidade vital (FMEF). Essas medidas podem ser normais nos pacientes fora de crise, mas com a progressão da obstrução brônquica levam a um distúrbio ventilatório obstrutivo (54).

A redução do calibre e conseqüente aumento da resistência nas vias aéreas determinam diminuição de todos os fluxos expiratórios máximos, incluindo o pico de fluxo expiratório (PFE). Ocorre ainda diminuição dos volumes expirados em função do tempo, oclusão prematura das vias aéreas, hiperinsuflação pulmonar, aumento do trabalho respiratório com mudanças na *performance* muscular e alterações na relação ventilação-perfusão com alteração nos gases sanguíneos (55).

Durante a crise, ocorre hiperinsuflação pulmonar e aumento da capacidade residual funcional (CRF). O aumento da CRF determina considerável mudança na mecânica dos músculos respiratórios, comprometendo a capacidade da bomba ventilatória em sustentar a respiração espontânea. Portanto, respirar com pulmões hiperinsuflados exige maior esforço e, assim, contribui para a sensação de dispnéia (53).

## 2.5. A ASMA AGUDA NA SALA DE EMERGÊNCIA

A asma aguda é uma emergência médica muito comum e corresponde a aproximadamente 5% do atendimento no departamento de emergência (DE). Nos Estados Unidos, a asma aguda representa o décimo primeiro diagnóstico mais freqüente no DE. Adolescentes e jovens adultos constituem o grupo mais freqüentemente atendido (56). As mulheres visitam mais o DE e são hospitalizadas duas vezes mais que os homens (57;58). Nos Estados Unidos, são atendidas no DE 1,5 milhões de consultas ao ano por asma aguda, sendo que 20 a 30% dessas requereram hospitalização.

Do ponto de vista econômico, em média 1 a 2% do gasto total com cuidados em saúde é gasto com pacientes asmáticos. Nos Estados Unidos, a estimativa é de que o gasto com asma chega, aproximadamente, a 6 milhões de dólares por ano (59;60). A média anual de custos por paciente asmático com crise asmática atendida no DE foi de 600 dólares, comparado com 170 dólares nos asmáticos que não tiveram exacerbação (61). Essas estimativas indicam que visitas ao DE e hospitalizações geram uma grande proporção de custos e representam uma área de interesse para a otimização de recursos no sistema de saúde.

A progressão clínica da crise asmática pode se apresentar de duas formas diferentes (62). Mais freqüentemente, a deterioração dos sintomas ocorre em horas, dias ou semanas. Nessa situação, a inflamação das vias aéreas é um achado dominante. A prevalência desse tipo de progressão da crise asmática é de 80 a 90% em indivíduos adultos. Menos freqüentemente, a progressão da crise ocorre de forma rápida, em menos de 6 horas. Nessa situação, o broncoespasmo é o achado dominante. Alergia respiratória, exercício e estresse emocional são os mais freqüentes gatilhos (63).

Em muitos países, a mortalidade da asma aumentou desde 1960 até a metade da década de 80. Após, atingiu um platô e, a partir da década de 90, esboçou um declínio (64;65). Embora com baixa taxa de mortalidade, quando comparada com outras doenças do pulmão, a mortalidade na asma é considerada uma situação que seria evitável. Ocorre tipicamente em pacientes jovens com pobre controle da doença, nos quais as condições clínicas se deterioram gradualmente em dias e semanas, até o evento fatal (66;67).

A maioria das mortes por asma aguda ocorre em casa, no trabalho ou durante o transporte até o hospital. O marcador mais específico associado com o aumento do risco de morte por asma é a história de repetidas admissões hospitalares, particularmente em pacientes que necessitaram ventilação mecânica (68;69).

Asma aguda é uma emergência médica que deve ser diagnosticada e tratada rapidamente. A avaliação da exacerbação constitui um processo com duas diferentes dimensões: uma estática para determinar a gravidade da crise e outra dinâmica para avaliar a resposta do tratamento. (70;71).

Em geral, o diagnóstico da crise de asma aguda na sala de emergência se constitui em um processo clínico rápido e fácil. O paciente apresenta-se com algum grau de dispnéia, desconforto torácico e sibilância, às vezes acompanhados de tosse e expectoração. Os sintomas apresentam duração variável de horas a dias, porém com exacerbação nas últimas horas, o que motivou sua vinda à emergência. Frequentemente, há o relato de episódios semelhantes previamente, podendo haver identificação de fatores desencadeantes e descrição de resposta sintomática favorável a medicações broncodilatadoras. O paciente pode, inclusive, já ter o diagnóstico médico de asma brônquica bem definida e utilizar o armamentário terapêutico próprio para tal circunstância clínica (72) A gravidade da crise está relacionada com a gravidade da limitação do fluxo aéreo que pode ser avaliada objetivamente pela espirometria ou pela medida do pico de fluxo expiratório (PFE). Estes testes de função pulmonar se

constituem no padrão áureo de avaliação do fluxo aéreo nestas circunstância e são passíveis de uso em todos os pacientes com idade maior que 6 anos de idade (72).

Segundo estudos realizados no HCPA, substancial proporção dos pacientes atendidos nos serviços de emergência são visitantes freqüentes e os fatores associados a estas visitas são o pouco conhecimento sobre o manejo da asma e a não utilização do corticóide inalatório como terapêutica de manutenção. Os achados sugerem que a utilização de programas de educação em asma poderia contribuir para reduzir o número de visitas aos Serviços de Emergência (73;74).

## **2.6 FATORES PRECIPITANTES DA ASMA**

### **2.6.1 Alérgenos domésticos**

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a exposição a alérgenos domiciliares é a causa primária de asma, particularmente em crianças e adultos jovens (8;75). Mais recentemente, estudos em regiões climáticas com alta e baixa exposição a antígenos de ácaros demonstraram a importância de outros alérgenos domésticos, particularmente aqueles derivados de gatos, cães e baratas (10;76;77). Estudos demonstraram correlação entre quantidade de antígeno de ácaro no domicílio e gravidade da asma, avaliada pelo grau de hiper-reatividade brônquica e variação do PFE. A diminuição da carga alérgica intradomiciliar constitui-se, portanto, na primeira linha antiinflamatória no tratamento da asma (8). Oitenta por cento das crianças asmáticas e 40-50% dos adultos asmáticos são atópicos (11;75;78).

Na crise da asma alérgica, as células dendríticas são as principais células apresentadoras de antígenos e são as únicas a ativar as células T *naïves*. Derivam do precursor CD35+ da

medula óssea, e correspondem a 0,2% dos leucócitos no sangue, onde transitam por curto espaço de tempo. Encontram-se em vários tecidos, particularmente na pele e nas mucosas. Produzem um alto nível de proteínas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) Classe II e a proteína co-estimuladora B-7, estando presentes em grande número no epitélio e submucosa das vias aéreas superiores e inferiores (1). As células dendríticas participam na sensibilização alérgica primária e secundária. Durante a resposta primária, as células dendríticas provenientes da medula óssea são atraídas por quimiocinas inflamatórias até os tecidos, onde capturam os antígenos. O reconhecimento do alérgeno constitui um sinal de alerta, que induz a maturação destas células dendríticas. Nos linfonodos as células dendríticas se agrupam. Caracterizam-se pela expressão constitutiva das moléculas do (MHC) classe II, e moléculas co-estimuladoras. Atraem e interagem com células T *naives* para induzir uma resposta imune primária, gerando células Th2 efectoras e células T reguladoras que controlam a síntese de IgE pelos linfócitos B.

### **2.6.2 Asma ocupacional**

A asma ocupacional é aquela induzida por agentes inaláveis, particulares a um dado ambiente de trabalho, na forma de gases, vapores ou fumos. Sua prevalência não é conhecida no Brasil (79). O mecanismo mais freqüente é a sensibilização, mediada principalmente por anti-corpos IgE. Mas também pode ser causada por mecanismo farmacológico ou irritativo. A atopia é um fator predisponente para a sensibilização a agentes de alto peso molecular (>1.000 daltons) e o tabagismo para a sensibilização a alguns agentes de baixo peso molecular, como os anidridos ácidos (80).

Já foram descritos mais de 200 agentes capazes de causar asma ocupacional. Uma lista extensa dos agentes está disponível na literatura, entre eles animais de laboratório, poeira de



farinha, enzimas, produtos farmacêuticos, anidridos ácidos, metais como níquel, cromo, platina, zinco, vanádio, cobalto, alumínio, além de formaldeído, PVC e polipropileno (81).

O diagnóstico é dado na história clínica compatível, como melhora sintomática em muitos casos, após dias ou semanas de afastamento e piora durante a jornada de trabalho ou nas semanas de trabalho; Presença de agente conhecidamente causador de asma ocupacional no ambiente de trabalho; Exposição a esse agente por tempo suficiente; Teste de função pulmonar que mostre obstrução das vias aéreas após exposição ao agente. A condição asmática geralmente se desenvolve quando o trabalhador se expõe a baixa concentração do agente causador (82).

### **2.6.3 Doença do refluxo gastroesofágico**

O refluxo gastroesofágico (RGE), causado por relaxamento anormal do esfíncter esofágico inferior, é mais freqüente em asmáticos do que na população em geral. Entretanto, nem sempre pode estabelecer-se uma relação causal entre ambos. O RGE é um desencadeante potencial da asma. O tratamento agressivo anti-refluxo pode melhorar os sintomas de asma e a função pulmonar em pacientes selecionados. RGE silencioso deve ser considerado em asmáticos de difícil controle (83). A relação entre RGE e asma é complexa. O RGE pode piorar a asma por via reflexa, pela presença de ácido no esôfago distal, por micro-aspiração para as vias aéreas e por aumento da reatividade brônquica, demonstrável após o refluxo. A asma por sua vez, facilita a o RGE pela hiper-insuflação e tosse, sendo que a teofilina pode facilitar RGE (84).

#### **2.6.4 Asma induzida por exercício**

A asma induzida por exercício (AIE) é uma condição particular na qual a atividade física vigorosa desencadeia um estreitamento agudo das vias aéreas em pessoas com reatividade brônquica aumentada. Tipicamente, a AIE não ocorre durante o exercício e sim dentro de poucos minutos depois de completado o esforço físico. No início do exercício, por liberação de catecolaminas, há broncodilatação (85).

A AIE ocorre em 70-90% dos pacientes com asma. É mais comum em crianças devido a ser o exercício usual nessa idade. A variação de incidência em testes laboratoriais é justificada pelas diferenças na seleção dos pacientes (gravidade da asma), tipo de exercício empregado no teste de desencadeamento (corrida livre, esteira ou bicicleta ergométrica), critérios utilizados na demonstração da broncoconstrição e uso de medicação broncodilatadora previamente ao desencadeamento. A reatividade brônquica aumentada ao exercício em crianças e adolescentes assintomáticos não prediz o desenvolvimento subsequente de asma sintomática (85;86).

Alguns pacientes com AIE, ao término do exercício, desenvolvem sintomas clássicos, como tosse, dispnéia e sibilância. Nesses, muitas vezes, o diagnóstico de AIE é estabelecido através da história clínica. Outros podem queixar-se somente de tosse ao final do exercício ou de falta de ar, desproporcionais ao exercício executado. Esses últimos devem ser avaliados em laboratório, mediante execução de prova de broncoprovocação, para que o diagnóstico possa ser adequadamente confirmado (87).

### 2.6.5 Infecções

Os vírus respiratórios humanos, especialmente aqueles que causam resfriado comum (rinovírus e coronavírus), são as maiores causas de exacerbação da asma. Os rinovírus afetam pacientes de todas as idades, seguido pelo parainfluenza e pelos adenovírus (9;14;88).

As crises asmáticas desencadeadas por vírus respiratórios podem ser graves e resultar em internações. Os diferentes agentes etiológicos variam conforme o período etário do paciente. No primeiro ano de vida, predominam as infecções pelos VRS, parainfluenza 1, 2 e 3 e adenovírus. Entre um e cinco anos, predominam o VRS, o parainfluenza 1 e 2 e influenza A e B. Entre seis e quinze anos, predominam o *Mycoplasma pneumoniae*, o vírus influenza A e B e o rinovírus. Em lactentes, infecções pelo VRS freqüentemente levam à sibilância. Fatores de risco para essa situação incluem exposição à fumaça de cigarro e ser do sexo masculino. Com o crescimento, os episódios de sibilância diminuem, devido ao desenvolvimento pulmonar e melhora da imunidade. Mais de 50% das crianças que desenvolvem infecções com VRS na infância irão ter episódios posteriores de sibilância (89).

A síntese aumentada de anticorpos IgE caracteriza as doenças alérgicas e está intimamente relacionada à maior atividade do sistema de células Th2. Em indivíduos predispostos, O VRS tem propensão a ativar o sistema Th2. Assim, além de contribuir para a doença no lactente, facilita o desenvolvimento da sensibilização alérgica. Desse modo, a bronquiolite é um fator de risco importante e um marcador capaz de prever o desenvolvimento posterior de atopia (89;90).

Os mecanismos da asma induzida por infecções virais incluem efeitos diretos e indiretos. São efeitos diretos: dano epitelial, redução das respostas dos beta-receptores, sensibilização de terminações nervosas sensoriais vagais, produção de citocinas e cininas. São efeitos indiretos: estimulação de anticorpo IgE vírus-específicos e respiração bucal. O aumento da reatividade brônquica pode persistir por seis semanas (91).

Estudos sugerem que a importância da infecção viral tem sido subestimada como fator desencadeante da agudização da asma em adultos, o que ocorre principalmente devido à limitação da metodologia diagnóstica disponível para identificar os vírus respiratórios (9;14;92). Sabe-se que os asmáticos são mais susceptíveis a infecções virais respiratórias do que os não-asmáticos, apresentando uma resposta nitidamente mais intensa (93).

Em 1988, em estudo envolvendo pacientes adultos com exacerbação da asma, pacientes em asma estável e indivíduos não asmáticos, concluiu que as infecções virais estão implicadas como um importante fator da exacerbação (94).

Em 1992, um estudo de revisão sobre a fisiologia e o mecanismo de como as viroses precipitam os sintomas da asma sugeriu que o efeito combinado da asma e dos vírus respiratório em infecção respiratória viral pode ampliar os sintomas e resultar num maior período de obstrução das vias aéreas (13).

Sintomas de asma e redução do PFE estão normalmente associados ao resfriado comum e viroses respiratórias. Quarenta e quatro por cento das exacerbações da asma estão associadas às infecções do trato respiratório alto por rinovírus, coronavírus, influenza B, VRS, parainfluenza e clamídia (9).

Um estudo feito por Sokhandan e cols. em pacientes com exacerbação da asma na sala de emergência utilizando *swab* nasal para isolamento viral e rápida detecção de antígeno por imunofluorescência (IF) foi negativa em todos os pacientes, sugerindo que infecção viral não estaria relacionada com a exacerbação da asma (18).

Johnston SL et al estudaram crianças de 9 a 11 anos de idade e encontraram infecção viral respiratória associada a 80-85% das exacerbações da asma (14). Já em adultos, para a incidência de infecções do trato respiratório que requereram hospitalização por asma foi encontrada uma taxa de 37%, das quais 62% eram infecções de etiologia viral (95).

Em Atmar RL et al, em 1998 realizaram um estudo de coorte longitudinal para associar infecções do trato respiratório e exacerbação da asma, usando a reação da cadeia de polimerase precedida pela transcrição reversa (RT-PCR) para Picornavirus (rinovírus), coronavírus e influenza. Concluíram que esses agentes eram os mais frequentes, e que a identificação viral exigia novos métodos de diagnóstico (96).

Infecções virais têm sido crescentemente reconhecidas como a maior causa da exacerbação da asma, principalmente pela descoberta de novas técnicas para a detecção viral. Infelizmente a habilidade para especificar o tratamento das infecções virais e para limitar a mortalidade da asma associada a esses agentes não tem o mesmo desenvolvimento que a tecnologia do diagnóstico (97).

Estudo epidemiológico prospectivos utilizando a técnica RT-PCR, evidenciou que 80% das exacerbações de asma em crianças em idade escolar e 50% de todas as exacerbações em adultos estavam associadas a infecções virais do trato respiratório superior, sendo o rinovírus o principal responsável (98). Em outro estudo também utilizando técnicas de PCR detectou vírus em 85% dos episódios de exacerbação de asma em crianças, sendo também o rinovírus o agente mais importante, seguido pelo VRS que é detectado predominantemente em crianças e nos bebês (15).

Indivíduo asmático não tem maior risco para a infecção viral por rinovírus que outros indivíduos, mas as infecções respiratórias têm uma maior severidade e uma duração mais longa dos sintomas (99).

Alérgenos e vírus podem agir juntos na precipitação dos sintomas da asma aguda (100).

Tem sido evidenciado que os vírus respiratórios infectam o trato respiratório baixo e que a célula epitelial agredida dá início à resposta imune. Esta resposta imune tem efeito anti-viral, mas a resposta inflamatória resultante contribui para a obstrução das vias aéreas (101). Estudos *in vivo* e *in vitro* evidenciaram que o rinovírus pode estimular células epiteliais

brônquicas a produzir citocinas e pró-inflamatório, ou seja, aumentam a sintomatologia clínica e a hiper-reatividade brônquica (102).

Pesquisa de vírus respiratório realizada em crianças com crise de asma e infecções virais do trato respiratório (VRTI), tendo como controle crianças com asma estabilizada sem VRTI e crianças com infecção viral sem diagnóstico de asma, tiveram uma taxa de infecção alta em crianças asmáticas, sugerindo a possibilidade de crianças asmáticas serem mais suscetíveis à infecção viral (103).

Para verificar a epidemiologia das viroses respiratórias foram avaliados três grupos: pacientes hospitalizados com asma fatal, pacientes com asma aguda e paciente com DPOC. Picornavírus e adenovírus foram os vírus mais identificados nos pacientes com asma fatal, entretanto o vírus da influenza foi o predominante em DPOC. A prevalência de vírus respiratório foi 59%, 41% e 61%, respectivamente, com similar proporção em todos os grupos (104).

### **2.6.6 Poluição**

Pela presença de inflamação nas vias aéreas e conseqüentemente hiper-responsividade brônquica, os asmáticos são mais sensíveis aos poluentes inalados. Os poluentes com reconhecido efeito respiratório são o ozônio (O<sub>3</sub>), dióxido de nitrogênio (NO<sub>2</sub>), dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) e material particulado (MP)(105).

Ozônio é um poluente oxidante gerado pelos veículos a motor e por outras emissões que resultam em reações fotoquímicas na atmosfera. Concentrações ambientais elevadas de O<sub>3</sub> se associam com aumento do número de crises de asma. A inalação de O<sub>3</sub> resulta em maior inflamação das vias aérea e, conseqüentemente, maior resposta após a inalação de antígenos. Inflamação das vias aéreas não foi demonstrada com outros poluentes (106).

A maior parte do NO<sub>2</sub> é gerada pela queima de combustíveis derivados de fósseis. A principal fonte de NO<sub>2</sub> no ar externo são as emissões dos veículos a motor, mas os níveis dentro de casa frequentemente são mais elevados. As principais fontes internas de NO<sub>2</sub> são os fogões e fornos a gás, e aquecedores a querosene. Como o ozônio, o NO<sub>2</sub> é um poluente oxidante, embora menos potente. O NO<sub>2</sub> também aumenta a resposta imediata com a inalação de antígenos (107).

O SO<sub>2</sub> é um poluente primariamente gerado na queima de combustíveis fósseis que contêm enxofre. Tem efeito broncoconstritor potente que pode ocorrer com exposições muito leves, especialmente se a respiração é bucal, como em exercícios intensos. Também potencializa a resposta a alérgenos (108).

O MP é uma mistura de substâncias, freqüentemente incluindo partículas sólidas e líquidas, partículas de origem biológicas, tais como esporos de fungos e pólenes, e outras de tamanho variável. As fontes primárias são as usinas elétricas, fábricas de indústria pesada, fogões a lenha e veículos motores a diesel. Vários estudos demonstraram forte correlação entre MP10 e crises de asma ou quedas do pico de fluxo expiratório seriado. Os compostos do MP com efeitos estudados em humanos são os ácidos sulfúrico e nítrico. Combinação de alta temperatura, umidade e tráfego pesado elevam os níveis de poluentes acima dos aceitáveis. Asmáticos devem ser alertados para seguir as medidas de qualidade do ar e, sempre que possível, permanecem afastados de áreas de alta poluição, particularmente quando estão fazendo exercício (109).

A fumaça do cigarro é um dos poluentes internos mais comuns. O fumo passivo é claramente associado com o risco aumentado de infecções do trato respiratório inferior em crianças. Essas infecções podem ser importante fator de risco para o desenvolvimento posterior da asma. O fumo passivo também tem efeito direto na etiologia da asma na infância. Exposição passiva à fumaça do cigarro é o fator de risco previsível para asma até hoje identificado (110).

### **2.6.7 Fatores Psicossociais**

Os distúrbios emocionais são comuns entre pacientes portadores de doenças crônicas. Entretanto, questiona-se se a frequência desses distúrbios seria maior entre os asmáticos, sobretudo em crianças. Apesar disso, há um consenso entre os estudiosos do comportamento das crianças asmáticas, pelo que afirmam: 1) os fatores psicológicos não são causa primária de asma e 2) os distúrbios emocionais podem desencadear os sintomas, agravar as crises e interferir na adesão da criança ao tratamento(105).

Os dois componentes, asma grave e fatores psicológicos, são inter-relacionados. Enquanto a doença persiste podem aumentar os problemas emocionais, alterações da personalidade podem levar à má adesão ao tratamento e pior controle. Negação é freqüente e pode ser uma barreira para uso apropriado de estratégias de auto-manejo (111).

Assim, no manejo da asma deve-se avaliar se as crises são desencadeadas por situações de estresse, se há maior vulnerabilidade ao estresse por depressão ou ansiedade, ou se rupturas de vida ocorreram, como separação ou morte de parentes (105).

A asma está, freqüentemente, associada à ansiedade e ao pânico. Pacientes altamente ansiosos ou com pânico tendem a receber ou fazer tratamentos mais intensos com broncodilatadores e corticóides e ficam mais tempo internados, independentes da função pulmonar. Crises leves de broncoespasmos podem desencadear ataques de ansiedade (112).



## 2.8 DIAGNÓSTICO DOS VÍRUS RESPIRATÓRIOS

O diagnóstico etiológico de infecções virais é feito tradicionalmente mediante a detecção do agente durante a doença, ou pela determinação de um aumento do título de anticorpos durante a convalescença. Tal diagnóstico é complexo, devido à grande variedade de vírus, mas foi simplificado grandemente com as metodologias atuais para a detecção direta do vírus no aspirado nasofaríngeo (ANF) (113).

O isolamento em cultura celular e a identificação por técnica imunoquímica são considerados métodos de eleição para o diagnóstico virológico. Entretanto, são métodos custoso e relativamente lentos (às vezes leva mais de uma semana). Um encurtamento do tempo de obtenção de resultados da cultura viral foi obtido com a centrifugação a baixa velocidade das culturas celulares inoculadas com a amostra, seguida da identificação posterior por imunofluorescência (IF) (114).

Nos últimos anos, foram desenvolvidos métodos de diagnóstico direto que permitem detectar em poucas horas a presença de vírus em amostras clínicas. Estes procedimentos são: a IF, tanto direta como indireta; o imunoenensaio enzimático (ELISA) de similar sensibilidade; o imunofluoroensaio de resolução por tempo (TR-FIA); a PCR; e a hibridação de ácidos nucléicos. Estes métodos podem dar um diagnóstico entre as 4 e 24 horas posteriores à coleta da amostra (21).

Os métodos sorológicos de detecção de anticorpos antivirais não são os de eleição para o diagnóstico de infecções virais, devido à sua baixa sensibilidade e ao fato de que a resposta imune-humoral aos vírus que não produzem viremia é, em geral, de escassa magnitude. Por outro lado, a necessidade de usar amostras pareadas de soro, ou seja, amostras do período

agudo e do período de convalescença, fazem com que o resultado não influa na terapêutica do paciente. De toda maneira, o diagnóstico sorológico é útil em estudos epidemiológicos, na avaliação de vacinas e em ensaios de novos antivirais, nos quais é importante detectar tanto infecções clínicas como subclínicas. Em geral a técnica ELISA para detectar anticorpos IgG em soros pareados é o método sorológico mais sensível para diagnosticar as infecções de origem viral (115).

### **2.8.1 Amostras Clínicas para diagnósticos**

Para obtenção de um diagnóstico acertado é essencial a seleção adequada da amostra e sua correta extração, envio, conservação e processamento. Dado que, a duração de excreção do vírus costuma ser breve, é importante recolher as amostras na fase aguda da doença. Uma amostra tardia pode levar a um resultado falso-negativo. Por outro lado, devido à relativa frequência das infecções contraídas no hospital com estes vírus, a amostra do paciente hospitalizado deve ser obtida no momento da admissão, a fim de evitar o dilema de atribuir o vírus encontrado à doença que originou a hospitalização ou a uma infecção nosocomial (116).

O Aspirado nasofaringe é a amostra de eleição para a identificação dos vírus causadores das infecções virais, já que prevê um número apropriado de células infectadas. Os ANF são obtidos introduzindo-se uma sonda estéril nas fossas nasais do paciente, e usando-se uma bomba de aspiração a vácuo ou seringa para realizar a aspiração da secreção nasofaríngea, que é colocada em um tubo cônico estéril. A amostra fechada hermeticamente é colocada em um banho de gelo e enviada ao laboratório de virologia para seu processamento. Não deve ser congelada (116).

Outras amostras que podem ser utilizadas são os lavados broncoalveolares, nasais ou faríngeos e também os raspados, embora contenham menor número de células, o que os torna menos apropriados para o diagnóstico (116).

### **2.8.2 Métodos Diagnósticos**

O objetivo de um bom processamento das amostras é otimizar o isolamento ou a identificação de qualquer vírus presente nas mesmas. Em primeiro lugar, procede-se a uma desagregação cuidadosa do muco. Para a detecção de antígenos virais pelo método de ELISA, ou de ácidos nucléicos virais pela PCR ou hibridação molecular, é conveniente a utilização do ANF sem centrifugar. Para a detecção do vírus por IF ou por isolamento por culturas celulares, centrifuga-se a amostra a 4°C durante 10 a 15 minutos a 3000 g (aceleração da gravidade). O sobrenadante é utilizado para o isolamento viral em culturas de células. Por outro lado, as células no sedimento são lavadas e depositadas sobre lamina, que são fixadas em acetona fria por 10 minutos e processados para IF(116).

A seguir descrevem-se brevemente, em separado, os métodos mencionados para a identificação dos vírus.

#### **a) Isolamento em Cultura Celular**

O isolamento é recomendado, se houver disponibilidade no laboratório, já que é o método de eleição quando os possíveis agentes etiológicos são diversos vírus. As amostras devem ser mantidas entre 4°C a 6°C, sem congelar. O material residual deve ser guardado fracionado a -70°C ou menos no caso em que se tenha que usar a amostra original novamente (19).

A técnica consiste em inocular uma alíquota de 0,2 mL do sobrenadante do ANF nos distintos cultivos celulares em monocamada, dos quais se tenha retirado previamente o meio de cultura. Depois da inoculação, agrega-se o meio de conservação (sem soro fetal bovino e contendo de tripsina, para as células sensíveis, no caso dos vírus influenza e parainfluenza) e

incubam-se entre 34° e 35°C. As culturas devem ser observadas diariamente, durante 11 dias, para detectar o aparecimento do efeito citopático (ECP) sobre a monocamada. Entre 4 a 7 dias depois da inoculação, para a detecção de vírus influenza e parainfluenza, realiza-se sobre culturas específicas (MDCK, LLC-MK2 e outras), uma hemadsorção (Had) com glóbulos vermelhos de cobaias. Aquelas culturas nas quais se observa EACP e/ou Had são processadas para a identificação do vírus por meio de IF. As culturas celulares primárias ou de linhagens estabelecidas que permitem o isolamento dos distintos vírus respiratórios são numerosas e são mencionadas mais adiante na descrição de cada vírus(116).

Obteve-se um aumento na infectividade viral e um encurtamento do tempo de obtenção dos resultados com a centrifugação a baixa velocidade das culturas celulares inoculadas com a amostra do paciente, o que aumenta a sensibilidade da cultura. Depois de uma incubação mais curta, a fim de permitir a replicação, realiza-se o ensaio IF para a identificação do agente viral presente. A combinação de ambas as técnicas demonstrou ter especificidade e sensibilidade equivalentes ao isolamento tradicional em culturas celulares em tubos, e com uma redução no tempo de 10 para 2 a 3 dias (19;20).

## **b) Imunofluorescência**

A IF, tanto direta quanto indireta, é uma técnica simples que permite a rápida identificação de numerosos vírus. Na prova direta, o soro antivírus específico é marcado com fluoresceína. Na prova indireta, faz-se reagir um soro específico contra o antígeno do vírus a detectar (produzido em animais) e logo se agrega um anticorpo dirigido contra a imunoglobulina da espécie animal empregada no passo anterior, marcado com fluoresceína (116).

A OMS coordenou estudos multicêntricos para o desenvolvimento e utilização de anticorpos monoclonais no diagnóstico de IRA viral por IF. Foram realizados ensaios com Kits de diagnóstico de IF em 16 laboratórios diferentes, que demonstraram sua eficácia (117;118).

Atualmente, é possível obter os anti-soros específicos, policlonais ou monoclonais, para a identificação da maioria dos vírus respiratórios (118). Já foi demonstrado que as misturas de anticorpos monoclonais têm alta sensibilidade e especificidade, para identificar antígenos virais em amostras clínicas, comparável a qualquer método de referência. Pode-se esperar uma perda mínima de sensibilidade quando são comparados com anticorpos policlonais de alta qualidade, mas os monoclonais permitem uma leitura mais simples e de qualidade muito superior (117;118).

### **c) Ensaio Imunoenzimático (ELISA)**

Os métodos imunoenzimáticos para a identificação de vírus respiratório têm sido desenvolvidos nos últimos anos com resultados variados e são utilizados para a detecção de antígenos em amostras clínicas. Emprega-se o princípio do sanduíche, agregando-se as amostras a tubos ou placas de plástico especial nos quais se fixou o anticorpo de “captura” dirigido contra o antígeno que se busca. Em seguida agrega-se outro anticorpo específico contra o antígeno, mas marcado com uma enzima (as mais usadas são a peroxidase e a fosfatase alcalina). A atividade enzimática é detectada ao agregar o substrato, por uma mudança de coloração que pode ser lida visualmente ou com um leitor de ELISA. Os anticorpos monoclonais melhoraram a sensibilidade e especificidade destes métodos e contribuíram para difundir o uso do ELISA como método de diagnóstico. Este método também pode ser utilizado para a detecção de anticorpos no soro (119;120).

#### **d) Hibridação com Sondas**

Um enfoque diagnóstico mais recente está dirigido à detecção de genomas virais por hibridação com sondas de ácidos nucléicos específicos para a detecção de vírus. A sonda marcada é aplicada à amostra clínica e, se existe uma cadeia complementar de ácido nucléico viral, ocorre a hibridação que é detectada segundo o sistema de marcação empregado (sondas radioativas ou biotinizadas) Estas sondas podem ser preparadas por diferentes métodos que dependem, fundamentalmente, do vírus a ser investigado. Nos últimos tempos a tendência tem sido utilizar clones de ácidos nucléicos recombinantes ou oligonucleotídeos sintéticos que representem seqüências específicas do genoma viral de interesse (121-123).

#### **e) Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**

Este método permite detectar quantidades muito pequenas de vírus, mediante a amplificação de seqüências de ácido desoxirribonucléico (DNA) genômico viral presente na amostra. O processo requer o uso de oligonucleotídios complementares de seqüências genômicas conservadas do vírus, denominadas *primers*, e de uma enzima DNA polimerase termoestável. Como resultados da reação, são obtidos milhões de cópias, a partir de uma seqüência do DNA viral, que logo podem ser detectadas a olho nu (por meio de coloração com brometo de etídio) e transiluminação com UV ou por meio de hibridação (radioativa ou enzimática).

#### **f) Imunofluoroensaio de Resolução por Tempo (TR-FIA)**

Este método, desenvolvido recentemente para a detecção de vírus respiratórios, é até o momento o ensaio em fase sólida mais sensível. Permitiu aumentar a sensibilidade da fluorescência ao eliminar a fluorescência inespecífica de fundo e conseguir uma fluorescência

de maior intensidade e de maior tempo de queda com o uso de quelato de európio. Sua simplicidade e rapidez derivam do fato de que a amostra é incubada simultaneamente, durante apenas uma hora, com o anticorpo de captura e o anticorpo específico marcado com o quelato de európio. O alto custo do equipamento requerido limitou seu uso aos laboratórios de referência (123).

## **2.9 PRINCIPAIS VIRUS ENVOLVIDOS NA EXACERBAÇÃO DA ASMA**

### **2.9.1 Virus Sincicial Respiratório (VRS)**

Vírus da família *Paramixoviridae*, do gênero pneumovírus. O virion é pleomórfico, tem envelope lipídico e seu diâmetro varia entre 150 e 300nm (124).

O ácido nucléico do VSR é uma cadeia simples de RNA de polaridade negativa. Não possui atividade de hemaglutinação, nem de hemadsorção, hemolítica ou neuraminidase. É muito sensível às quedas de temperatura (descongelamento), o que deve ser levado em conta quando se pretende isolá-lo em culturas celulares. Até o momento, existe a descrição de um sorotipo de VSR e pelo menos duas variantes antigênicas ou subgrupos (A e B 2). A maior diferença entre os subgrupos reside na glicoproteína G. Ambos circulam simultaneamente na população e não está clara a importância clínica ou epidemiológica destas variantes antigênicas (125;126). É provável que a diversidade antigênica dos dois subgrupos de VSR tenha alguma influência na susceptibilidade das crianças à infecção seqüencial com os mesmos. Em alguns países foram demonstrados recentemente padrões epidêmicos que alternam os subgrupos A e B em ciclos de 2 anos (123).

O período de incubação da doença respiratória é de quatro a cinco dias. O vírus se replica na nasofaringe e pode permanecer até três semanas na criança infectada. O mecanismo pelo qual o vírus se estende desde as vias altas ao trato respiratório poderia ser através do epitélio respiratório ou pela aspiração das secreções infectadas. Até agora, não se detectou viremia (124). Parece ser necessário um sistema imunológico intacto para se terminar com a infecção, apesar de que a infecção em crianças possa ocorrer inclusive na presença de anticorpos maternos. São comuns as re-infecções em todas as idades, ocorrendo algumas vezes há poucas semanas uma da outra (127). Encontrou-se evidência da infecção por VSR em todas as áreas geográficas estudadas. Epidemias anuais ocorrem comumente durante os meses frios. Durante as epidemias há um aumento do número de casos de bronquiolites e pneumonias e um aumento de internação de crianças pequenas por infecção de vias respiratórias baixas. Antes de começar a etapa escolar (entre os 4 e 5 anos), a maioria das crianças já se infectou com VSR. A idade, o sexo, e as condições socioeconômicas influem na gravidade da doença, mas não na taxa de ataque (116).

A bronquiolite é a doença mais comum causada por este vírus, sendo mais freqüente entre as 6 semanas e os 6 meses de idade. Esta doença é pouco freqüente durante as primeiras 6 semanas de vida (128). A infecção primária com o VSR pode se manifestar como uma infecção respiratória baixa, como pneumonia, bronquiolite, traqueobronquite ou infecção respiratória alta, muitas vezes acompanhada por febre ou otite média. A infecção é raras vezes assintomática. A pneumonia e a bronquiolite podem ser difíceis de diferenciar e muitos lactentes parecem ter ambas as síndromes (129). O VSR causa epidemias que afetam uma proporção muito alta de crianças, algumas das quais devem ser hospitalizadas. Estas crianças excretam altos títulos de vírus durante vários dias, o que provoca freqüentes infecções nosocomiais, especialmente em alas de lactentes. Estas infecções podem manifestar-se desde



a forma de doença febril leve das vias aérea altas, até um quadro com grave comprometimento respiratório baixo e morte subsequente (129).

O VSR é replicado em uma grande variedade de células de origem humana e animal. As linhagens nas quais se podem isolar o VSR são Hep-2, Hela, Vero, LLC-MK2, MRC-5, BSC-1 e CV-1 e também em culturas primárias de rim bovino ou de rim de embrião humano. O vírus induz à formação de sincícios característicos em células Hep-2 (120;124). A imunofluorescência direta e indireta com anticorpos poli ou monoclonais demonstrou ser de grande utilidade para a detecção de antígenos do vírus nas células de descamação nasofaríngea (20;117;130). Os métodos imunoenzimáticos apresentaram uma eficiência similar a obtida com IF, sendo capaz de detectar entre 20 e 30 ng de proteína viral (119). Vários kits estão hoje disponíveis no mercado, apresentando valores distintos de especificidade e sensibilidade (120;126). Realizam-se ensaios utilizando a reação em cadeia da polimerase e sondas de ácidos nucléicos para detectar VSR em amostras clínicas, assim como a detecção da nucleoproteína viral, mediante a aplicação de anticorpos monoclonais com a técnica TR-FIA (123).

### **2.9.2 Adenovirus**

A família *Adenoviridae* compreende um grande número de espécies de origem humana e animal que estão amplamente distribuídas na natureza. A classificação atual agrupou os numerosos membros da família em dois gêneros: mastadenovírus e aviadenovírus. O gênero mastadenovírus inclui os adenovírus humanos e muitos outros isolados de diversos animais. Todos eles caracterizam-se por serem específicos de sua espécie hospedeira e por apresentarem uma grande variabilidade genética. Em geral, infectam a seus hospedeiros através da conjuntiva ocular ou da mucosa digestiva. Até o presente foram reconhecidas 47 espécies ou sorotipos diferentes de adenovírus humanos (131).

Desde seu descobrimento por Rowe em 1953 (132), foram utilizados distintos critérios para a classificação destes agentes, ficando agrupados finalmente em seis subgêneros (do A ao F). Todos os adenovírus apresentam a mesma estrutura geral: partículas virais de simetria icosaédrica, sem invólucro e com um diâmetro médio de 80 nm. O genoma viral é o DNA fita dupla. A replicação do DNA e a transcrição e amadurecimento dos adenovírus realizam-se no núcleo celular, dentro do qual ocorre um acúmulo de proteínas estruturais “em corpos de inclusão”, característicos em células alveolares durante as pneumonias por adenovírus (133;134).

Os adenovírus encontram-se distribuídos em todo o mundo. Os diferentes sorotipos causam doença em diferentes grupos de idade, e a gravidade varia segundo a área geográfica. As infecções são, em geral autolimitadas, e as características clínicas da doença dependem tanto do hospedeiro como do sorotipo envolvido. Aproximadamente 65% dos isolamentos de adenovírus provêm de crianças menores de 4 anos (133;135).

Os adenovírus são responsáveis por 5% dos casos de infecção respiratória, em crianças menores de 4 anos de idade, e por 10% das infecções respiratórias que requerem hospitalização, nesse mesmo grupo de idade (134). Podem causar faringite, conjuntivite, laringotraqueobronquite e bronquiolite, mas as pneumonias agudas são, sem sombra de dúvida, as manifestações clínicas mais graves, sobretudo nas crianças pequenas, nas quais podem ser fatais. Os tipos mais freqüentemente associados a estes quadros são Ad3, Ad4, Ad7 e Ad21, bem como Ad2 e Ad5. Gerando seqüelas de dano pulmonar residual importante como bronquiectasia e bronquiolite obliterante (136).

Estes sorotipos representam um problema cada vez mais freqüente no hospedeiro com o sistema imune comprometido. Ultimamente, foram descritos 5 novos sorotipos, do 42 ao 47, associados a casos de AIDS (133).

Os adenovírus são vírus estáveis que podem ser recuperados de amostras clínicas com relativa facilidade. O ANF, os raspados nasais e o material de biópsia ou necrópsia, são amostras adequadas para seu isolamento. A recuperação do vírus pode ser considerada um sinal de infecção recente e está frequentemente associada à doença sintomática. As culturas primárias, as linhagens diplóides e as linhagens contínuas de células humanas (células A-549, Hep-2, HeLa, Kb), podem ser empregadas para diagnosticar a infecção com adenovírus, produzindo um efeito citopático característico, com arredondamento e agrupamento celular em cachos, e formação de corpos de inclusão intra-nucleares. A identificação do isolamento pode ser feita por imunofluorescência (134).

A detecção de genomas virais por hibridação com sondas de ácidos nucléicos específicos é uma técnica que se usa atualmente para o diagnóstico de adenovírus (121;122).

Um aumento de 4 vezes ou mais do título de anticorpos entre uma amostra de período agudo e outra de convalescença testada por fixação de complemento ou ELISA, é um sinal significativo da presença da infecção por adenovírus. Atualmente, considera-se o ELISA superior para a detecção da resposta imune em crianças (134).

### **2.9.3 Virus Parainfluenza**

Os vírus parainfluenza são classificados dentro do gênero *paramyxovirus*, família *Paramyxoviridae*. São vírus envelopados que contêm RNAs em um nucleocapsídeo. São pleomórficos, com 100 a 200 nm, com uma espícula que têm funções de hemaglutinina e neuroaminidase (proteína HN), atividades que não podem ser separadas. Possuem também outras espículas responsáveis pela ação hemolítica e de fusão (proteína F), o que os torna capazes de fundir células e hemolisar certos tipos de eritrócitos, o que os diferencia dos vírus influenza (137).

Foram identificados os tipos 1, 2, 3 e 4. Estes vírus podem ser reconhecidos pela ação citopática nas células infectadas ou pelas reações de hemadsorção com glóbulos vermelhos de cobaias em monocapas de células infectadas (116). Estes vírus causam infecções respiratórias freqüentes e de gravidade variável, que dependem do tipo de vírus e, sobretudo, da idade do hospedeiro, em relação direta com a produção de primoinfecções ou re-infecções. Os tipos 1, 2 e 3 são reconhecidos como os principais agentes causais do crupe, ainda que possam causar também pneumonias e bronquiolites (138).

Os vírus parainfluenza, especialmente os tipos 1 e 2, são responsáveis por mais de 50% dos casos de crupe ou laringite obstrutiva. As bronquiolites associadas ao tipo 3 podem apresentar-se a partir do primeiro mês de vida, ocorrem durante todo o ano e aparecem em surtos epidêmicos. Os vírus parainfluenza têm uma distribuição geográfica mundial. Em geral, a doença que causam é leve. Os quatro tipos são capazes de causar infecções respiratórias, tendo-se demonstrado re-infecções em adultos e crianças, causadas principalmente pelo sorotipo 3. Estes agentes geralmente infectam a indivíduos de pouca idade. Os tipos 1 e 2 causam epidemias no outono. O tipo 3 causa doença durante todo o ano. Em um estudo sorológico indica-se que 60% das crianças se infecta por parainfluenza 3 no transcurso dos 2 primeiros anos de vida e, aproximadamente 80%, se infecta antes dos 4 anos, a maioria de forma assintomática (139). A alta taxa de infecção sugere uma disseminação rápida. Pode causar doença grave em lactentes como faz o VSR, mas essa gravidade diminui a partir dos 3 anos (140). É pouco freqüente uma doença tão grave que requeira internação hospitalar (138).

De maneira geral a excreção de vírus é de curta duração, motivo pelo qual estes vírus devem ser isolados de aspirados traqueais ou nasofaríngeos colhidos precocemente. A amostra clínica é inoculada em diferentes linhagens celulares, especialmente linhagens primárias de rim de macaco (ainda que também possam ser usadas linhagens estabelecidas LLC-MK2 ou MDCK), mantendo as células em meio livre de soro. Algumas vezes podem apresentar efeito

citopático e em outras é preciso buscar a presença viral nas culturas com provas de hemadsorção (Had), com eritrócitos de cobaia a 4°C (141). A identificação do vírus pode ser realizada por IF, inibição da hemadsorção ou neutralização com anti-soros específicos.

A técnica de IF é aplicada com êxito para a detecção do antígeno viral em células nasofaríngeas (130;141).

#### **2.9.4 Vírus da Influenza**

Os vírus influenza pertencem à família *Orthomyxoviridae* e ao gênero influenza vírus. Determinantes antigênicos específicos permitem diferenciar 3 tipos: A, B e C, os quais podem causar doença respiratória aguda. Os vírus influenza A e B estão distribuídos amplamente e são sazonais em climas temperados. O vírus tipo A foi isolado em 1933 e o tipo B em 1940, ainda que haja evidências de epidemias causadas por este agente há 200 anos (142).

O virion é pleomórfico, medindo cerca de 80 a 120 nm, com um envelope de dupla capa lipídica, derivada da célula hospede modificada pela presença de projeções em forma de espículas que são as glicoproteínas hemaglutininas (HA) e a neuraminidase (NA) (142).

O nucleocapsídeo é de simetria helicoidal constituído de 8 fragmentos de RNA monocatenário associados à nucleoproteína e a 3 polimerases. A estrutura segmentada do ácido nucléico explica a labilidade genética e a facilidade com que ocorrem os rearranjos genômicos nestes vírus.

A infecção se apresenta em forma de epidemias explosivas e com uma disseminação rápida do vírus em uma região geográfica. A causa fundamental da ocorrência das epidemias de influenza é a contínua geração de novas cepas antagonicamente diferentes, derivadas de cepas anteriores, que desconhecem a imunidade dos indivíduos e causam doença em pessoas de todas as idades. Estas variações antigênicas são mais freqüentes na influenza A. Durante

alguns anos, estas epidemias são causadas predominantemente por um tipo de vírus, mas é freqüente que circule mais de um tipo, seja de forma simultânea ou em seqüência(142).

O vírus da influenza apresenta dois padrões de variabilidade genética disseminação diferenciáveis. O primeiro se caracteriza por uma mudança antigênica maior (*antigenic shift*) que ocorre quando aparece um subtipo antigênico para o qual a população não tenha imunidade prévia. Induz pandemias por influenza a intervalos irregulares e imprevisíveis. Calcula-se que em 1918 morreram aproximadamente 20 milhões de pessoas em todo o mundo, por causa de infecção por um vírus tipo A subtipo H1N1. As pandemias melhor documentadas aconteceram em 1918, 1957, 1968 e 1977 (142).

O segundo padrão de disseminação se caracteriza por uma tendência ou variação antigênica menor (*antigenic drift*), com mudanças relativamente menores e freqüentes (a cada ano ou a cada poucos anos) em um subtipo de influenza. A evolução dos vírus de influenza não é simples e previsível como se acreditava a princípio. Atualmente considera-se que uma “nova” cepa não é, necessariamente, a que causa uma pandemia. Já se comprovou, por exemplo, que a cepa A/H1N1 que apareceu em 1977, era geneticamente idêntica a uma que circulou em 1950 (123) .

Os vírus influenza A e B podem causar doença respiratória alta e baixa como traqueobronquite ou pneumonia. Muitas vezes a infecção é subclínica ou apresenta-se com sintomas leves. O vírus, que se dissemina de pessoa a pessoa, tem um período de incubação de um a quatro dias. A infecção por influenza C está associada a infecções subclínicas; não causam epidemias e a mortalidade é infreqüente (142).

O diagnóstico do vírus influenza pode ser realizado por inoculações de secreções nasofaríngeas em culturas primárias de células de rim de diversas espécies, ou de pulmão de embriões de galinha, ou ainda em ovos embrionados. Demonstrou-se que o emprego de enzimas proteolíticas, habitualmente de tripsina, aumenta a replicação em linhagens contínuas

de células como a MDCK (143). Quarenta e oito horas depois de inoculadas as células, é possível detectar a presença do vírus por hemadsorção com eritrócitos de cobaias (141). Se esta for negativa, o procedimento deve ser repetido 2 vezes por semana. Se o resultado for positivo ou se for observada a ação citopática, a identificação deve ser realizada por IF, com anticorpos específicos. Também se pode realizar hemaglutinação no sobrenadante. A detecção do antígeno em células epiteliais por IF é usada há muitos anos e, atualmente, é um método empregado comumente (130;144). A técnica de TR-FIA também vem sendo utilizada com êxito há alguns anos (145).

A técnica de PCR tem sido utilizada para a identificação do vírus de influenza em amostras clínicas (146), assim como para diferenciação dos diferentes tipos do vírus e subtipos do gênero A (147).

O diagnóstico sorológico por fixação de complemento ou por inibição da hemaglutinação é útil quando se tem soros pareados, já que a infecção aguda está acompanhada de um aumento importante do título de anticorpos séricos (144).

### **2.9.5 Rinovírus**

Os rinovírus pertencem à família *Picornaviridae*. Caracterizam-se por sua susceptibilidade aos ácidos. São conhecidos até o momento 100 imunotipos (148). Têm de 20 a 27nm e contêm quatro proteínas estruturais que formam um capsídeo sem invólucro de simetria icosaédrica. A síntese e maturação do vírus ocorrem no citoplasma (148). Constituem a principal causa conhecida do resfriado comum. Infectam somente a seres humanos e primatas superiores e crescem em culturas celulares derivadas destas espécies. A temperatura ótima de replicação é de 33 a 35°C, a temperatura que se encontra no nariz e nas vias respiratórias superiores (148).

Os rinovírus têm distribuição mundial e tendem a ser epidêmicos no outono e na primavera. Os diferentes tipos antigênicos circulam ao acaso. Os sorotipos atuais são substituídos lentamente por diferentes tipos antigênicos (148). As infecções começam na primeira infância e continuam durante toda a vida. As taxas de infecção variam entre uma e duas infecções por pessoa por ano em crianças menores de 1 ano, a 0,7 infecções em adultos. A disseminação ocorre por meio de secreções de mão para mão, ou por intermédio de aerossóis. A duração média da doença, que habitualmente é leve, é de sete dias (149).

É pouco freqüente que se solicite um diagnóstico de rinovírus, mas quando necessário o diagnóstico é feito fundamentalmente por isolamento em células de pulmão embrionário humano (WI-38, MRC5) e em células HeLa. O efeito citopático é característico e aparece entre os dois e os seis dias. A identificação estrita é realizada por demonstração da labilidade aos ácidos (em PH 2,9) e por neutralização com anticorpos específicos, realizada em muito poucos laboratórios, e raramente se faz necessária. A detecção do genoma viral com técnicas de hibridação de ácidos nucléicos e PCR está sendo atualmente utilizada para estes vírus, nos quais a detecção de antígenos não é possível devido à multiplicidade de sorotipos (123;150).

### **2.9.6 Coronavírus**

Os coronavírus pertencem à família *Coronaviridae*, gênero coronavírus. São partículas pleomórficas de 80 a 150 nm, com projeções superficiais em forma de pétala que lhes dão o aspecto de uma coroa. São vírus RNA e todos se desenvolvem de forma exclusiva no citoplasma das células infectadas (151).

Os coronavírus causam resfriados em crianças e adultos. Observou-se que as distintas cepas causam doenças com características semelhantes. O período de incubação é mais prolongado e sua duração mais breve que no caso dos rinovírus, mas os sintomas são similares. Com pouca freqüência causam uma doença respiratória mais grave (151).



Estes vírus encontram-se distribuídos mundialmente e são mais freqüentes no inverno e na primavera. Podem chegar a constituir 35% do total das infecções virais das vias aéreas superiores. A reinfecção é comum. A infecção pode ocorrer em qualquer idade, se bem que é mais freqüente nas crianças. Atualmente podem-se aplicar métodos de detecção de antígenos do vírus por imunofluorescência ou ELISA (151). A recuperação do vírus de amostras clínicas é difícil. A cultura é realizada especialmente em tecidos animais. Há algumas cepas que se adaptaram a crescer em culturas de células fibroblásticas diplóides humanas (151).

A forma de diagnóstico mais utilizada até o momento tem sido o aumento de quatro vezes ou mais do título de anticorpos em amostras pareadas, especialmente por fixação de complemento (152).

### **2.9.7 Vírus echo e coxsackie**

Ambos os vírus pertencem a família *Picornaviridae* do gênero enterovírus. Compartilham muitas das características morfológicas, estruturais e físico-químicas dos rinovírus. Possuem um capsídeo icosaédrico nu de 20 a 30nm, com genoma RNA não segmentado. Têm distintas quantidades de sorotipos: 34 no caso dos ECHO; 24 nos Coxsackie A; e 6 nos Coxsackie B. Todos podem causar doença febril com sintomas respiratórios e mais de 90% das infecções causadas por este grupo são assintomáticas. Tendo infectado o hospedeiro, eles permanecem presentes no trato respiratório por uma a duas semanas (153).

Ambos os gêneros, com sua grande variedade de sorotipos, apresentam problemas para o diagnóstico de laboratório. O fato de replicarem muito lentamente em culturas celulares faz com que sua identificação seja complexa. Em termos gerais, não existem até o momento métodos rápidos, acessíveis, para detectar os antígenos de todos estes vírus e a sorologia é em geral difícil e custosa (154), motivo pelo qual o diagnóstico destes agentes nas infecções respiratórias agudas não é feito como rotina (153).

### **3 OBJETIVOS**

### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Estudar a prevalência de vírus respiratório em pacientes atendidos por exacerbação da asma no setor de adultos do Serviço de Emergência do HCPA.

### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

3.2.1 Identificar os principais vírus respiratórios (vírus sincicial respiratório, adenovírus, influenza A e B e parainfluenza 1,2,3 e 4), utilizando o teste de imunofluorescência indireta aos antígenos virais em secreção de nasofaringe, em pacientes com asma aguda com idade superior a 12 anos, atendidos no setor de adultos do Serviço de Emergência do HCPA.

3.2.2 Correlacionar as características clínicas à presença de vírus respiratório.

3.2.3 Verificar a sazonalidade dos vírus respiratórios envolvidos na exacerbação da asma aguda.

#### **4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Busse WW, Lemanske RF, Jr. Asthma. *N Engl J Med* 2001 Feb 1;344(5):350-62.
- (2) Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, Beasley CR, Twentyman OP, Howarth RH, et al. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990 Aug;142(2):434-57.
- (3) Kumar RK. Understanding airway wall remodeling in asthma: a basis for improvements in therapy? *Pharmacol Ther* 2001 Aug;91(2):93-104.
- (4) Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J* 1998 Aug;12(2):315-35.
- (5) Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde, Estatística de Mortalidade. 2004.
- (6) Campos HS. Mortalidade por asma no Brasil (1980-1996). 9 ed. 2000.
- (7) Salto JJ, Pagliaro H, Solé D, Naspitz CK. Mortalidade por asma brônquica no Estado de São Paulo, Brasil :1970 a 1994. *Rev Ped Pern* 1997;10:51.
- (8) Arruda LK, Rizzo MC, Chapman MD, Fernandez-Caldas E, Baggio D, Platts-Mills TA, et al. Exposure and sensitization to dust mite allergens among asthmatic children in Sao Paulo, Brazil. *Clin Exp Allergy* 1991 Jul;21(4):433-9.
- (9) Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *BMJ* 1993 Oct 16;307(6910):982-6.

- (10) Colloff MJ, Ayres J, Carswell F, Howarth PH, Merrett TG, Mitchell EB, et al. The control of allergens of dust mites and domestic pets: a position paper. *Clin Exp Allergy* 1992 Sep;22 Suppl 2:1-28.
- (11) Custovic A, Taggart SC, Francis HC, Chapman MD, Woodcock A. Exposure to house dust mite allergens and the clinical activity of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996 Jul;98(1):64-72.
- (12) Busse WW. Respiratory infections: their role in airway responsiveness and the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990 Apr;85(4):671-83.
- (13) Bardin PG, Johnston SL, Pattemore PK. Viruses as precipitants of asthma symptoms. II. Physiology and mechanisms. *Clin Exp Allergy* 1992 Sep;22(9):809-22.
- (14) Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, Smith S, Lampe F, Josephs L, et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ* 1995 May 13;310(6989):1225-9.
- (15) Message SD, Johnston SL. Viruses in asthma. *Br Med Bull* 2002;61:29-43.
- (16) Hudgel DW, Langston L, Jr., Selner JC, McIntosh K. Viral and bacterial infections in adults with chronic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1979 Aug;120(2):393-7.
- (17) Jennings LC, Barns G, Dawson KP. The association of viruses with acute asthma. *N Z Med J* 1987 Aug 12;100(829):488-90.
- (18) Sokhandan M, McFadden ER, Jr., Huang YT, Mazanec MB. The contribution of respiratory viruses to severe exacerbations of asthma in adults. *Chest* 1995 Jun;107(6):1570-4.

- (19) Hudson JB, Misra V, Mosmann TR. Cytomegalovirus infectivity: analysis of the phenomenon of centrifugal enhancement of infectivity. *Virology* 1976 Jul 1;72(1):235-43.
- (20) Johnston SL, Siegel CS. Evaluation of direct immunofluorescence, enzyme immunoassay, centrifugation culture, and conventional culture for the detection of respiratory syncytial virus. *J Clin Microbiol* 1990 Nov;28(11):2394-7.
- (21) Xiang X, Qiu D, Chan KP, Chan SH, Hegele RG, Tan WC. Comparison of three methods for respiratory virus detection between induced sputum and nasopharyngeal aspirate specimens in acute asthma. *J Virol Methods* 2002 Mar;101(1-2):127-33.
- (22) Openshaw PJ, Lemanske R. Respiratory viruses and asthma: can the effects be prevented. *Eur Respir J* 1998;12:27-35s.
- (23) Ciba Foundation Guest Symposium. Terminology, definitions and classification of chronic pulmonary emphysema and related conditions. *Thorax* 1959;(14):286.
- (24) Dunnili MS. The Pathology of asthma with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J Clin Pathol* 1960;(13):224.
- (25) Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989 Mar;139(3):806-17.
- (26) Jeffrey PK, Wardlaw A.J, Nelson FC, Cjka. Bronchial Biopsies in asthma: an ultrastructural quantification study and correlation with hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1989;(140):1745.

- (27) Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Workshop Report National Institutes of Health National Heart, Lung and Blood Institute 1995;(95):3659.
- (28) Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. Bethesda,MD,National Asthma Education and Prevention Program; National Heart and Blood Institute; Nacional Institute of Health. 1997.
- (29) Indicadores Básicos para a Saúde no Brasil: Conceitos e Aplicações.Redde Interagencial de Informação para Saúde- Ripsa- Brasília.Organização Pan Americana da Saúde- OPAS/OMS. 2005.
- (30) O Connor GT, weiss ST, Speizer FE. The epidemiology of asthma. Bronchial Astma: Principles of Diagnosis and Treatment.Orlando: Grune & Stratton; 1986.
- (31) Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. 351 ed. 1998.
- (32) Ferrari FP, Rosário NA, Schimdt AV, Farias L. Frequência de consultas por asma em pronto atendimento pediátrico. 1995.
- (33) Chatkin JM, Barreto SM, Fonseca NA, Gutierrez CA, Sears MR. Trends in asthma mortality in young people in southern Brazil. Ann Allergy Asthma Immunol 1999 Mar;82(3):287-92.
- (34) Molinari JM, Chatkin JM. Tendência da mortalidade por asma brônquica no Rio Grande do Sul. J Pneumologia 1995;21:103-6.



- (35) Duran-Tauleria E, Rona RJ. Geographical and socioeconomic variation in the prevalence of asthma symptoms in English and Scottish children. *Thorax* 1999 Jun;54(6):476-81.
- (36) Carr W, Zeitel L, Weiss K. Variations in asthma hospitalizations and deaths in New York City. *Am J Public Health* 1992 Jan;82(1):59-65.
- (37) Pattermore PK, Asher MI, Harrison AC, Mitchell EA, Rea HH, Stewart AW. Ethnic differences in prevalence of asthma symptoms and bronchial hyperresponsiveness in New Zealand schoolchildren. *Thorax* 1989 Mar;44(3):168-76.
- (38) Johnston SL. *Viral infections in children with existing asthma*. Seattle: Hogrefe & Huber Publishers; 1996.
- (39) Podosin RL, Felton WL. The clinical picture of Far East influenza occurring at the Fourth National Boy Scout Jamboree; report of 616 cases. *N Engl J Med* 1958 Apr 17;258(16):778-82.
- (40) Rebhan AW. An outbreak of Asian influenza in a girls' camp. *Can Med Assoc J* 1957 Oct 15;77(8):797-9.
- (41) Neddenriep D, Schumacher MJ, Lemen RJ. Asthma in childhood. *Curr Probl Pediatr* 1989 Jul;19(7):325-85.
- (42) Broder I, Higgins MW, Mathews KP, Keller JB. Epidemiology of asthma and allergic rhinitis in a total community. *J Allergy Clin Immunol* 1974 Mar;53(3):127-38.
- (43) Bardana EJ, Jr. Is asthma really different in the elderly patient? *J Asthma* 1993;30(2):77-9.

- (44) Dodge RR, Burrows B. The prevalence and incidence of asthma and asthma-like symptoms in a general population sample. *Am Rev Respir Dis* 1980 Oct;122(4):567-75.
- (45) Barnes PJ, Grunstein MM, Leff AR. *Asthma*. 1997.
- (46) Djukanovic R, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR, et al. Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am Rev Respir Dis* 1990 Oct;142(4):863-71.
- (47) Louis R, Lau LC, Bron AO, Roldaan AC, Radermecker M, Djukanovic R. The relationship between airways inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 2000 Jan;161(1):9-16.
- (48) Vignola AM, Chanez P, Campbell AM, Souques F, Lebel B, Enander I, et al. Airway inflammation in mild intermittent and in persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 Feb;157(2):403-9.
- (49) Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990 Oct 11;323(15):1033-9.
- (50) Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley AM, et al. Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med* 1992 Jan 30;326(5):298-304.
- (51) Holgate ST, Djukanovic R, Wilson J, Roche W, Britten K, Howarth PH. Allergic inflammation and its pharmacological modulation in asthma. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991;94(1-4):210-7.

- (52) Holgate ST. Inflammatory and structural changes in the airways of patients with asthma. *Respir Med* 2000 Sep;94 Suppl D:S3-S6.
- (53) Macklem PT. Mechanical factors determining maximum bronchoconstriction. *Eur Respir J Suppl* 1989 Jun;6:516s-9s.
- (54) Woolcock AJ, Read J. The static elastic properties of the lungs in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1968 Nov;98(5):788-94.
- (55) Blackie SP, al-Majed S, Staples CA, Hilliam C, Pare PD. Changes in total lung capacity during acute spontaneous asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990 Jul;142(1):79-83.
- (56) Burt CW, Knapp DE. Ambulatory care visits for asthma: United States, 1993-94. *Adv Data* 1996 Sep 27;(277):1.
- (57) Singh AK, Cydulka RK, Stahmer SA, Woodruff PG, Camargo CA, Jr. Sex differences among adults presenting to the emergency department with acute asthma. Multicenter Asthma Research Collaboration Investigators. *Arch Intern Med* 1999 Jun 14;159(11):1237-43.
- (58) Trawick DR, Holm C, Wirth J. Influence of gender on rates of hospitalization, hospital course, and hypercapnea in high-risk patients admitted for asthma : a 10-year retrospective study at Yale-New Haven Hospital. *Chest* 2001 Jan;119(1):115-9.
- (59) Smith DH, Malone DC, Lawson KA, Okamoto LJ, Battista C, Saunders WB. A national estimate of the economic costs of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 Sep;156(3 Pt 1):787-93.
- (60) Weiss KB, Gergen PJ, Hodgson TA. An economic evaluation of asthma in the United States. *N Engl J Med* 1992 Mar 26;326(13):862-6.

- (61) Hoskins G, McCowan C, Neville RG, Thomas GE, Smith B, Silverman S. Risk factors and costs associated with an asthma attack. *Thorax* 2000 Jan;55(1):19-24.
- (62) Sur S, Hunt LW, Crotty TB, Gleich GJ. Sudden-onset fatal asthma. *Mayo Clin Proc* 1994 May;69(5):495-6.
- (63) Sur S, Crotty TB, Kephart GM, Hyma BA, Colby TV, Reed CE, et al. Sudden-onset fatal asthma. A distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa? *Am Rev Respir Dis* 1993 Sep;148(3):713-9.
- (64) Nannini LJ. [Potentially fatal asthma]. *Arch Bronconeumol* 1997 Oct;33(9):462-71.
- (65) Zar HJ, Stickells D, Toerien A, Wilson D, Klein M, Bateman ED. Changes in fatal and near-fatal asthma in an urban area of South Africa from 1980-1997. *Eur Respir J* 2001 Jul;18(1):33-7.
- (66) Plaza V, Serrano J, Picado C, Sanchis J. Frequency and clinical characteristics of rapid-onset fatal and near-fatal asthma. *Eur Respir J* 2002 May;19(5):846-52.
- (67) Turner MO, Noertjojo K, Vedal S, Bai T, Crump S, Fitzgerald JM. Risk factors for near-fatal asthma. A case-control study in hospitalized patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 Jun;157(6 Pt 1):1804-9.
- (68) Molfino NA. Near-fatal asthma. In: Hall JB, Corbridge T, Rodrigo C, et al, editors. *Acute asthma: assessment and management*. New York: McGraw-Hill; 2000. p. 29-47.
- (69) Mitchell I, Tough SC, Semple LK, Green FH, Hessel PA. Near-fatal asthma: a population-based study of risk factors. *Chest* 2002 May;121(5):1407-13.

- (70) Rodrigo GJ. Emergency department assessment: severity and outcome prediction. In: Hall JB, Corbridge T, Rodrigo C et al, editors. Acute Asthma: Assessment and management. New York: McGraw-Hill; 2000. p. 125-38.
- (71) Rodrigo G, Rodrigo C. Assessment of the patient with acute asthma in the emergency department. A factor analytic study. Chest 1993 Nov;104(5):1325-8.
- (72) Dalcin PdTR, Medeiros AC, Siqueira Marcelo Kurtz et al. Acute Asthma in adults in the emergency room: clinical management in the first hour. J Pneumologia 2000;26(6):297-306.
- (73) Dalcin PT, Piovesan DM, Kang S, Fernandes AK, Franciscatto E, Millan T, et al. Factors associated with emergency department visits due to acute asthma. Braz J Med Biol Res 2004 Sep;37(9):1331-8.
- (74) Fernandes AK, Mallmann F, Steinhorst AM, Nogueira FL, Avila EM, Saucedo DZ, et al. Characteristics of acute asthma patients attended frequently compared with those attended only occasionally in an emergency department. J Asthma 2003 Sep;40(6):683-90.
- (75) Brown MA, Halonen MJ, Martinez FD. Cutting the cord: is birth already too late for primary prevention of allergy? Clin Exp Allergy 1997 Jan;27(1):4-6.
- (76) Bollinger ME, Eggleston PA, Flanagan E, Wood RA. Cat antigen in homes with and without cats may induce allergic symptoms. J Allergy Clin Immunol 1996 Apr;97(4):907-14.

- (77) Custovic A, Green R, Taggart SC, Smith A, Pickering CA, Chapman MD, et al. Domestic allergens in public places. II: Dog (Can f1) and cockroach (Bla g 2) allergens in dust and mite, cat, dog and cockroach allergens in the air in public buildings. *Clin Exp Allergy* 1996 Nov;26(11):1246-52.
- (78) Custovic A, Taggart SC, Kennaugh JH, Woodcock A. Portable dehumidifiers in the control of house dust mites and mite allergens. *Clin Exp Allergy* 1995 Apr;25(4):312-6.
- (79) Smith DD. Medical-legal definition of occupational asthma. *Chest* 1990 Oct;98(4):1007-11.
- (80) Chan-Yeung M, Malo JL. Aetiological agents in occupational asthma. *Eur Respir J* 1994 Feb;7(2):346-71.
- (81) Guidelines for the evaluation of impairment/disability in patients with asthma. American Thoracic Society. Medical Section of the American Lung Association. *Am Rev Respir Dis* 1993 Apr;147(4):1056-61.
- (82) Burge PS. Single and serial measurements of lung function in the diagnosis of occupational asthma. *Eur J Respir Dis Suppl* 1982;123:47-59.
- (83) Field SK, Sutherland LR. Does medical antireflux therapy improve asthma in asthmatics with gastroesophageal reflux?: a critical review of the literature. *Chest* 1998 Jul;114(1):275-83.
- (84) Field SK, Underwood M, Brant R, Cowie RL. Prevalence of gastroesophageal reflux symptoms in asthma. *Chest* 1996 Feb;109(2):316-22.

- (85) Haby MM, Peat JK, Mellis CM, Anderson SD, Woolcock AJ. An exercise challenge for epidemiological studies of childhood asthma: validity and repeatability. *Eur Respir J* 1995 May;8(5):729-36.
- (86) Cochrane LM, Clark CJ. Benefits and problems of a physical training programme for asthmatic patients. *Thorax* 1990 May;45(5):345-51.
- (87) McFadden ER, Jr., Gilbert IA. Exercise-induced asthma. *N Engl J Med* 1994 May 12;330(19):1362-7.
- (88) Nicholson KG, Kent J, Hammersley V, Cancio E. Risk factors for lower respiratory complications of rhinovirus infections in elderly people living in the community: prospective cohort study. *BMJ* 1996 Nov 2;313(7065):1119-23.
- (89) Duff AL, Pomeranz ES, Gelber LE, Price GW, Farris H, Hayden FG, et al. Risk factors for acute wheezing in infants and children: viruses, passive smoke, and IgE antibodies to inhalant allergens. *Pediatrics* 1993 Oct;92(4):535-40.
- (90) Forster J, Tacke U, Krebs H, Streckert HJ, Werchau H, Bergmann RL, et al. Respiratory syncytial virus infection: its role in aeroallergen sensitization during the first two years of life. *Pediatr Allergy Immunol* 1996 May;7(2):55-60.
- (91) Enarsson et.al. IL-11: Stimulation in vivo and in vitro by respiratory viruses and induction of airways hyperresponsiveness. *J Clin Invest* 1996;97:915-24.
- (92) Pattemore PK, Johnston SL, Bardin PG. Viruses as precipitants of asthma symptoms. I. Epidemiology. *Clin Exp Allergy* 1992 Mar;22(3):325-36.

- (93) Bardin PG, Fraenkel D, Sanderson G, Dorward M, Johnston S, Holgate S. Increased sensitivity to the consequences of rhinoviral infection in atopic subjects. *Chest* 1995 Mar;107(3 Suppl):157S.
- (94) Beasley R, Coleman ED, Hermon Y, Holst PE, O'Donnell TV, Tobias M. Viral respiratory tract infection and exacerbations of asthma in adult patients. *Thorax* 1988 Sep;43(9):679-83.
- (95) Teichtahl H, Buckmaster N, Pertnikovs E. The incidence of respiratory tract infection in adults requiring hospitalization for asthma. *Chest* 1997 Sep;112(3):591-6.
- (96) Atmar RL, Guy E, Guntupalli KK, Zimmerman JL, Bandi VD, Baxter BD, et al. Respiratory tract viral infections in inner-city asthmatic adults. *Arch Intern Med* 1998 Dec 7;158(22):2453-9.
- (97) Peebles RS, Jr., Hartert TV. Respiratory viruses and asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2000 Jan;6(1):10-4.
- (98) Micillo E, Bianco A, D'Auria D, Mazzarella G, Abbate GF. Respiratory infections and asthma. *Allergy* 2000;55 Suppl 61:42-5.
- (99) Corne JM, Marshall C, Smith S, Schreiber J, Sanderson G, Holgate ST, et al. Frequency, severity, and duration of rhinovirus infections in asthmatic and non-asthmatic individuals: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2002 Mar 9;359(9309):831-4.
- (100) Green RM, Custovic A, Sanderson G, Hunter J, Johnston SL, Woodcock A. Synergism between allergens and viruses and risk of hospital admission with asthma: case-control study. *BMJ* 2002 Mar 30;324(7340):763.



- (101) Gern JE. Mechanisms of virus-induced asthma. *J Pediatr* 2003 Feb;142(2 Suppl):S9-13.
- (102) Boquete M, Carballada F. [Childhood asthma and viral infection: interactions and therapeutic possibilities]. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2001 May;29(3):133-40.
- (103) Azevedo AM, Durigon EL, Okasima V, Queiroz DA, de Moraes-Vasconcelos D, Duarte AJ, et al. Detection of influenza, parainfluenza, adenovirus and respiratory syncytial virus during asthma attacks in children older than 2 years old. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2003 Nov;31(6):311-7.
- (104) Tan WC, Xiang X, Qiu D, Ng TP, Lam SF, Hegele RG. Epidemiology of respiratory viruses in patients hospitalized with near-fatal asthma, acute exacerbations of asthma, or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Med* 2003 Sep;115(4):272-7.
- (105) II Consenso Brasileiro no Manejo da Asma. *J Pneumologia* 1998;24(4).
- (106) Christian DL, Chen LL, Scannell CH, Ferrando RE, Welch BS, Balmes JR. Ozone-induced inflammation is attenuated with multiday exposure. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 Aug;158(2):532-7.
- (107) Goings SA, Kulle TJ, Bascom R, Sauder LR, Green DJ, Hebel JR, et al. Effect of nitrogen dioxide exposure on susceptibility to influenza A virus infection in healthy adults. *Am Rev Respir Dis* 1989 May;139(5):1075-81.
- (108) Bascom R. Environmental factors and respiratory hypersensitivity: the Americas. *Toxicol Lett* 1996 Aug;86(2-3):115-30.
- (109) Bascom R, Bromberg PA, Costa DA et al. Health effects of outdoor air pollution Part 2. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:477-98.

- (110) Bascom R, Kesavanathan J, Permutt T, Fitzgerald TK, Sauder L, Swift DL. Tobacco smoke upper respiratory response relationships in healthy nonsmokers. *Fundam Appl Toxicol* 1996 Jan;29(1):86-93.
- (111) Smoller JW, Otto MW. Panic, dyspnea, and asthma. *Curr Opin Pulm Med* 1998 Jan;4(1):40-5.
- (112) Smoller JW, Pollack MH, Otto MW, Rosenbaum JF, Kradin RL. Panic anxiety, dyspnea, and respiratory disease. Theoretical and clinical considerations. *Am J Respir Crit Care Med* 1996 Jul;154(1):6-17.
- (113) Weissenbacher M, Carballal G, Avila M, Salomon H, Harisiadi J, Catalano M, et al. Etiologic and clinical evaluation of acute lower respiratory tract infections in young Argentinian children: an overview. *Rev Infect Dis* 1990 Nov;12 Suppl 8:S889-S898.
- (114) West PG, Aldrich B, Hartwig R, Haller GJ. Increased detection rate for varicella-zoster virus with combination of two techniques. *J Clin Microbiol* 1988 Dec;26(12):2680-1.
- (115) Doller G, Schuy W, Tjhen KY, Stekeler B, Gerth HJ. Direct detection of influenza virus antigen in nasopharyngeal specimens by direct enzyme immunoassay in comparison with quantitating virus shedding. *J Clin Microbiol* 1992 Apr;30(4):866-9.
- (116) Benguigui Y, Antuñano FJL, Schmunis G, Yunes J. Os Vírus como causa de IRA Alta e Baixa em Crianças: Características Gerais e Diagnóstico. *Infecções Respiratórias em Crianças*. Washington, E.U.A.: Organização Pan-Americana da Saúde; Repartição Sanitária Pan-Americana, Escritório Regional da OMS; 1998. p. 91-108.
- (117) Use of monoclonal antibodies for rapid diagnosis of respiratory viruses: Memorandum from a WHO meeting. *Boletim da Organização Mundial da Saúde*. 1992;699-703.

- (118) Stout C, Murphy MD, Lawrence S, Julian S. Evaluation of a monoclonal antibody pool for rapid diagnosis of respiratory viral infections. *J Clin Microbiol* 1989 Mar;27(3):448-52.
- (119) Chao RK, Fishaut M, Schwartzman JD, McIntosh K. Detection of respiratory syncytial virus in nasal secretions from infants by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Infect Dis* 1979 Apr;139(4):483-6.
- (120) Halstead DC, Todd S, Fritch G. Evaluation of five methods for respiratory syncytial virus detection. *J Clin Microbiol* 1990 May;28(5):1021-5.
- (121) Gomes SA, Nascimento JP, Siqueira MM, Krawczuk MM, Pereira HG, Russell WC. In situ hybridization with biotinylated DNA probes: a rapid diagnostic test for adenovirus upper respiratory infections. *J Virol Methods* 1985 Oct;12(1-2):105-10.
- (122) Hyypia T. Detection of adenovirus in nasopharyngeal specimens by radioactive and nonradioactive DNA probes. *J Clin Microbiol* 1985 May;21(5):730-3.
- (123) McIntosh K, Halonen P, Ruuskanen O. Report of a workshop on respiratory viral infections: epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Infect Dis* 1993 Jan;16(1):151-64.
- (124) McIntosh K, Chanock RM. Respiratory Syncytial virus. In: B.N, Fields et col. Raven Press, editors. *Virology*. Nova York: 1985.
- (125) Hendry RM, Talis AL, Godfrey E, Anderson LJ, Fernie BF, McIntosh K. Concurrent circulation of antigenically distinct strains of respiratory syncytial virus during community outbreaks. *J Infect Dis* 1986 Feb;153(2):291-7.

- (126) Salomon HE, Avila MM, Cerqueiro MC, Orvell C, Weissenbacher M. Clinical and epidemiologic aspects of respiratory syncytial virus antigenic variants in Argentinian children. *J Infect Dis* 1991 May;163(5):1167.
- (127) Beem M. Repeated infections with respiratory syncytial virus. *J Immunol* 1967 Jun;98(6):1115-22.
- (129) Parrott RH, Kim HW, Arrobio JO, Hodes DS, Murphy BR, Brandt CD, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. II. Infection and disease with respect to age, immunologic status, race and sex. *Am J Epidemiol* 1973 Oct;98(4):289-300.
- (129) Hall CB, Walsh EE, Long CE, Schnabel KC. Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1991 Apr;163(4):693-8.
- (130) Ray CG, Minnich LL. Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 1987 Feb;25(2):355-7.
- (131) Hierholzer JC, Wigand R, Anderson LJ, Adrian T, Gold JW. Adenoviruses from patients with AIDS: a plethora of serotypes and a description of five new serotypes of subgenus D (types 43-47). *J Infect Dis* 1988 Oct;158(4):804-13.
- (132) Rowe WP, Huebner RJ, Gilmore LK, Parrott RH, Ward TG. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med* 1953 Dec;84(3):570-3.
- (133) Hierholzer JC. Adenovirus. In: Balows A, Hausler WJJr, Hermann KL, Isemberg HD, Shadomy HJ, editors. *Manual de Microbiologia Clínica*. 5<sup>a</sup> ed. 1991.

- (134) Hierholzer JC. Adenoviruses. Diagnostic procedures for viral rickettsial and chlamydial infections. In: N.J.Schmidt e R.W Emmons.American Public Health Association, editor. Adenovirus. 6ª ed. Inc. Washington, DC: 1989. p. 219-64.
- (135) Schmitz H, Wigand R, Heinrich W. Worldwide epidemiology of human adenovirus infections. Am J Epidemiol 1983 Apr;117(4):455-66.
- (136) Becroft DMO. Pulmonary sequelae of epidemic type 21 adenovirus infection: 1-13 year followup. Arch Dis Child 1979;54:155-6.
- (137) Chanock RM, McIntosh K. Parainfluenza viruses. In: N.Fields, D.M.Knipe e col.Raven Press, Ltda, editors. Virologia. 2ª ed. Nova Iorque: 1990. p. 963-88.
- (138) Hendley JO. Virus parainfluenza. In: Mendell, Douglas, Bennett., editors. Doenças Infeciosas, Princípios e Práticas. 3ª ed. Médica Pan-Americana.; 1991. p. 1223-8.
- (139) Parrott RH, Vargosko AJ, Kimhw, Bell JA, Chanock RM. Acute respiratory diseases of viral etiology. III. parainfluenza. Myxoviruses. Am J Public Health 1962 Jun;52:907-17.
- (140) Glezen WP, Frank AL, Taber LH, Kasel JA. Parainfluenza virus type 3: seasonality and risk of infection and reinfection in young children. J Infect Dis 1984 Dec;150(6):851-7.
- (141) Minnich LL, Ray CG. Early testing of cell cultures for detection of hemadsorbing viruses. J Clin Microbiol 1987 Feb;25(2):421-2.
- (142) Kendal A, Harman MW. Orthomyxoviridae: The Influenza Viruses. In: Lennette EH, Halonen P, Murphy FA, editors. Diagnóstico Laboratorial de Doenças Infeciosas (Princípios e Práticas).Nova Iorque: Vol II, Springer-Verlag; 1988. p. 602-25.

- (143) Klenk HD, Rott R, Orlich M, Blodorn J. Activation of influenza A viruses by trypsin treatment. *Virology* 1975 Dec;68(2):426-39.
- (144) Walls HH, Harmon MW, Slagle JJ, Stocksdales C, Kendal AP. Characterization and evaluation of monoclonal antibodies developed for typing influenza A and influenza B viruses. *J Clin Microbiol* 1986 Feb;23(2):240-5.
- (145) Walls HH, Johansson KH, Harmon MW, Halonen PE, Kendal AP. Time-resolved fluoroimmunoassay with monoclonal antibodies for rapid diagnosis of influenza infections. *J Clin Microbiol* 1986 Dec;24(6):907-12.
- (146) Yamada A, Imanishi J, Nakajima E. [Detection of influenza virus with PCR (polymerase chain reaction)]. *Kansenshogaku Zasshi* 1991 Jun;65(6):759-60.
- (147) Claas EC, Sprenger MJ, Kleter GE, van BR, Quint WG, Masurel N. Type-specific identification of influenza viruses A, B and C by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 1992 Sep;39(1-2):1-13.
- (148) Hamparian VV, Colonno RJ, Cooney MK, Dick EC, Gwaltney JM, Jr., Hughes JH, et al. A collaborative report: rhinoviruses--extension of the numbering system from 89 to 100. *Virology* 1987 Jul;159(1):191-2.
- (149) Dick EC, Jennings LC, Mink KA, Wartgow CD, Inhorn SL. Aerosol transmission of rhinovirus colds. *J Infect Dis* 1987 Sep;156(3):442-8.
- (150) Landry ML. Rhinoviruses. In: Balows A, Hausler WJ Jr, Hemann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, editors. *Manual de Clínica Microbiológica*. 5ª ed. 1991.

- (151) Fleming JO, el Zaatari FA, Gilmore W, Berne JD, Burks JS, Stohlman SA, et al. Antigenic assessment of coronaviruses isolated from patients with multiple sclerosis. Arch Neurol 1988 Jun;45(6):629-33.
- (152) Ray CG. Coronaviruse. In: Balows A, Hausler WJJr, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, editors. Manual de Clinica Microbiológica. 5ª ed. 1991.
- (153) Modlin JF. Coxsackieviruses, echovirus y nuevos enterovirus. In: Mendell, Douglas, Bennett., editors. Doenças infecciosas, Princípios e Práticas. 3ª ed. Médica Pan-americana; 1991. p. 1442-59.

**5 ARTIGO EM INGLÊS**



**Title**

Prevalence of Respiratory Viruses and the Associations with Clinical Findings of Acute Asthma in the Emergency Room

**Authors**

Ivete Terezinha Machado da Rocha <sup>1</sup>, Selir Stralioetto <sup>2</sup>, Diego Menegotto <sup>3,4</sup>, Angela Zanonato<sup>3</sup>, Gabriela Seeger<sup>3</sup>, Lilian Rech Pasin <sup>3</sup>, Fernando Soliman <sup>3</sup>, Diego Menegotto <sup>3,4</sup>, Sérgio Saldanha Menna Barreto <sup>5</sup>, and Paulo de Tarso Roth Dalcin <sup>6</sup>

**Credentials and Affiliations of Authors**

<sup>1</sup> Post-Graduate Program in Medical Sciences, Master's Degree, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Biochemist of the Respiratory Virus Laboratory of the State Foundation of Production and Research in Health, Central Laboratory (FEPPS/IPB-LACEN).

<sup>2</sup> Biochemist, Supervisor of the Respiratory Virus Laboratory FEPS/IPB-LACEN

<sup>3</sup> Undergraduate students, Faculdade de Medicina, UFRGS

<sup>4</sup> Scholarship holders in Scientific Initiation, Institutional Program of Scientific Initiation Scholarships (PIBIC), UFRGS, Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq)

<sup>5</sup> Professor of Medicine, Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, UFRGS; Head Professor of Serviço de Pneumologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

<sup>6</sup> Associate Professor, Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Meidicna, UFRGS; Serviço de Pneumologia, HCPA

**Address, Telephone number, and E-mail for Contact**

Ivete Terezinha Machado da Rocha

Rua Sargento Manoel Raimundo Soares 753 casa 25, Bairro Jardim Carvalho, Porto Alegre,  
RS

CEP 91.430-380

E-mail: [kalinrs@yahoo.com.br](mailto:kalinrs@yahoo.com.br)

Phone/Fax: (51) 3338-7382 (51) 9956-3345

## **ACRONYMS**

PBS Phosphate Buffered Saline

IIF Indirect Immunofluorescence

ICU Intensive Care Unit

SpO<sub>2</sub> Oxygen saturation measured by digital pulse oximetry

RT Reverse Transcription

PCR Polymerase Chain Reaction

## ABSTRACT

**Introduction:** Respiratory tract viral infections (RTVI) have been frequently identified in association with acute asthma (AA) in children, but few studies have shown similar results in adults with asthma. **Objectives:** Evaluate the prevalence of viral infection with acute asthma in patients presented to the adult sector of the Emergency Department (ED), comparing the characteristics among the groups with positive and negative samples for respiratory viruses.

**Materials and Methods:** It was conducted a cohort study of patients with AA that presented themselves to the adult sector of the ED (age 12 or older) at Hospital de Clínicas in Porto Alegre. A nasopharyngeal aspirate was obtained for detection of viral by indirect immunofluorescence technique (respiratory syncytial virus, adenovirus, influenza, and parainfluenza type 1, 2, 3, and 4). Data related to demographic characteristics, regular medication, previous medical history, the exacerbation that resulted in coming to the ED, and the outcomes of the crisis. **Results:** From March 2004 to November 2005, 111 patients were examined for RTVI. Respiratory viruses were identified in 15 patients (8 with Adenoviruses, 1 with RSV, 2 with Influenza A, and 4 with Parainfluenza type 1). Using the logistic regression analysis, the variables ( $p < 0.10$ ) Body Mass Index (BMI) and fever at home were significantly associated to the identification of respiratory virus. Sixty-six percent of the patients with RTVI had fever at home while only 27% of the patients without viral infection presented fever a home ( $p = 0.006$ ). There was not another significant difference in the clinical characteristics, time of stay, and outcomes. **Conclusion:** This study shows a prevalence of 13.5% of RTVI in AA in patients 12 years or older treated at the emergency room, which confirms viral infection as an important asthma-triggering factor in this age bracket. Among the clinical characteristics studied, fever at home and high BMI present the highest chance of positive viral identification.

**Key Terms:** emergency medicine, asthma, exacerbation, respiratory virus

## INTRODUCTION

Asthma exacerbations are associated with precipitants of various natures. The exposure to inhaled allergens, especially mold, pollen, and dust mites at home has been given much attention as triggering extrinsic asthma (1). Other important precipitants are being exposed to cold, exercise, drugs, atmospheric pollution, and climatic changes (1-3). Respiratory tract infections have also been associated with asthmatic crises (3). Studies suggest that the importance of the viral infection has been underestimated as a factor triggering exacerbation of asthma, which occurs mainly due to the limitation of the diagnostic methodology available in order to identify the respiratory viruses (1;3-6).

In children, viral infection increases the reactivity of the airways and is responsible for 26% to 80% of the episodes of acute asthma (7-10).

In adults, the role of viral infection as an exacerbation cause of asthma is still not very well defined (11,12) and the identification of respiratory viruses associated to asthmatic crises has varied from 0% to 44% of the cases (1,13). Furthermore, the utilization of new diagnostic techniques (research by polymerase chain reaction – PCR) has elevated the identification of viral infections as the cause of exacerbation of asthma in adults (8;14;15).

In many hospital institutions, asthma exacerbations constitute a very common medical emergency. According to North-American data, patients with an acute asthma crisis contribute with 1 to 5% of the services provided annually in the medical emergency sectors, which corresponds to approximately a million medical appointments (16).

The prevalence of respiratory viruses as a factor that triggers acute asthma in patients brought to the emergency room has not been studied in our context. This way the elucidation of the role of the precipitants of acute asthma would contribute to optimize the care for preventing this disease (17; 18).

The objective of this study was to evaluate the prevalence of respiratory viruses in patients treated for acute asthma in the adult sector of the Emergency Service of HCPA, comparing the characteristics among the groups with positive and negative samples for respiratory viruses.

## **TESTING & METHODS**

### *Delineation*

Prevalence study of respiratory viruses (respiratory syncytial virus, adenovirus, influenza, and parainfluenza type 1, 2, 3, and 4), with convenience sample, using Indirect Immunofluorescence (IIF) as the diagnostic test for viral antigens in nasopharyngeal secretion from patients suffering from severe acute asthma, 12 years or older, presented to the adult sector of the Emergency Service of Hospital de Clínicas in Porto Alegre.

### *Population of the Study*

The population of the study consisted of patients with acute asthma cared for at the adult sector of the Emergency Service at HCPA. The criteria of inclusion were the following: previous medical diagnosis of bronchial asthma, be 12 years old or older, and be needing medical attention due to the gravity of the disease symptoms, considering dyspnea, and/or wheezing, and/or coughing. The following patients were excluded. Patients with chronic pneumopathies, patients with cardiac insufficiency, and patients or those responsible for them that did not accept signing the term of consent for participating in the study.

The sampling consisted of individuals that once they met the criteria of inclusion and exclusion were studied in a consecutive way during a restricted period of availability for carrying out the IIF test for viral identification. The research team would arrive at the emergency sector in the morning and in the afternoon in search of acute asthma patients. However, since the

diagnostic test was not available during the night shift, weekends, and holidays, the patients arriving at the emergency center during these periods were not considered for possible inclusion.

### *Measurements & Instruments*

The clinical evaluation was carried out by the members of the study and consisted in filling out a standardized questionnaire. This questionnaire included demographic data, gender, age, color, marital status, and body mass index (BMI); data as to previous clinical history (age when asthma was diagnosed, number of previous visits to the emergency service in the last 30 days and in the last year, number of hospitalizations in the last year, number of times admitted to an intensive care unit in their life, number of intubation episodes and commencing mechanical ventilation in their lifetime, current medications, use of nebulization for bronchodilator treatment, and smoking history); data on the history of the current disease (duration of the crisis, subjective identification of the crisis triggering factor, symptoms during the asthma crisis, and flu symptoms in the family). Also recorded were the clinical findings at the time of admission (axillary temperature, cardiac frequency, respiratory frequency, results from pulmonary auscultation, and oxygen saturation measured by digital pulse oximetry - SpO<sub>2</sub>) and the outcomes after asthma crisis treatment (admission to the intensive care unit, hospitalization in the infirmary, and discharge from the Emergency Service). As for identifying the factors that triggered the crisis, the patient was asked if he/she had noticed an event that could have brought about the worsening of the asthma and if they could pinpoint it from the following options: respiratory infection (flu, cold, or sinusitis), inhaled allergens (dust, mold, animal hair, pollen or other factor at home), exercise, or climatic change.

The diagnostic evaluation for identifying the respiratory virus included carrying out the Indirect Immunofluorescence test in the nasopharyngeal secretion using the antigens from the respiratory syncytial virus, adenovirus, influenza, and parainfluenza type 1, 2, 3, and 4. The

nasopharyngeal secretion was collected by means of uretral catheter connected to a biojet, (Komponent do Nordeste Ind. e Com. LTDA Rod BR 324 –km 523 – Feira de Santana – BA). The catheter was introduced through the nostril to the nasopharynx and aspiration of 20cm H<sub>2</sub>O was applied in order to obtain the secretion with a vacuum aspiration machine of the brand FANEN São Paulo, Brazil. The samples were transported to the Biological Research Institute, Central Lab, in a styrofoam recipient with recyclable ice bars (4°C).

At the laboratory, the samples were transferred to a sterile centrifuge tube, previously identified, containing approximately 2 ml of phosphate buffered saline. The suspended samples were centrifuged at 1500 rpm for ten minutes at ambient temperature for the dilution of the mucous and release of the cells. Three slides were prepared for each sample to be analyzed. One slide was used for the screening of positivity and the second for determining the agent in cases of positive screening. The third slide was stored in a freezer at -70°C for cases in which the repetition of the IIF would be necessary. On each slide, the material was distributed in 7 circles of approximately 0.05 in diameter, dried, and fixed in acetone at 4°C for 10 minutes. For the staining of the slide, 25µl of the monoclonal antibodies specific for each virus (respiratory syncytial virus, anti-adenovirus, anti-influenza A, anti-influenza B, and anti-parainfluenza type 1, 2, 3, and 4) were applied to each circle. The Respiratory Panel 1 Viral Screening & Identification Kit (Chemicon International, Temecula, USA) was used. Next the slides were incubated in a humidity chamber at 37°C during thirty minutes, washed three times by immersion, left for 5 minutes in phosphate buffered saline solution, and then dried with cold air. After this a drop of the specific conjugation solution was added with incubation in the humidity chamber at 37°C, washing and drying. The reading of the slides, set in buffered glycerol, was done under a fluorescence microscope.



### *Statistical Analysis*

The data was typed into a database using Microsoft Excel®, version 2000, which was then processed and analyzed with the help of the program Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 12.0. Descriptive and comparative analyses were done among the study groups (positive samples and negative samples for respiratory viruses). The Student-t test was used for independent samples for analyzing the continual variables with normal distribution. The Mann-Whitney U test was used for analyzing the continual variables without normal distribution. The chi-square test was used in the analyses of the category variables using Yates' correction or the Exact Test of Fisher if necessary. The odds ratio was calculated with confidence interval of 95% for the variables studied. The variables identified with  $p < 0.10$  in the univariate analysis were included in a Poisson multiple regression analysis with estimation of robust variance, seeking association with the positive viral identification. The level of statistical significance was established at  $p < 0.05$  and all the tests used were two-tailed.

The sample size was calculated based on the data obtained during the three first months of study. Thus with a prevalence of 12% of viral identification and considering that  $\alpha = 0.05$  and  $1-\beta = 90\%$ , an adequate sample size was estimated at 176 patients.

For this publication, the data obtained from March 2004 to November 2005 was used, but the gathering of the data continues during 2006.

### *Ethics*

The study was approved by the research ethics committees of the Hospital de Clínicas in Porto Alegre (HCPA) and the post-information consent was obtained from the patients or those responsible for them in the case of patients under the age of 18.

## RESULTS

From March 2004 to November 2005, 817 patients diagnosed with acute asthma were presented for care at the adult sector of the Emergency Service at HCPA. Of these, 290 were considered as possible candidates to be included in the study but 117 of these were excluded because of being patients with chronic pneumopathies, 26 because of being diagnosed with cardiac insufficiency, and 30 patients because they did not want to participate in the study. Therefore, 117 patients were included in the study from whom were collected clinical information and nasopharyngeal secretion, but the material collected from 6 of these patients was unsatisfactory for the IIF test, bringing the total patients to be analyzed in the research to 111.

Of the 111 patients studied, 90 (81.1%) were women and 21 (18.9%) were men. Sixty-seven patients (67%) were Caucasian and 33 (38.7%) were not Caucasian in color. The average age of the patients studied was  $45 \pm 20.3$  years.

Fifteen patients (13.5%) had samples that were positive for respiratory viruses. The viruses identified were as follows: Adenovirus (8 cases), respiratory syncytial virus (1 case), Influenza A (2 cases), and Parainfluenza type 1 (4 cases). Figure 1 shows a prevalence of viral identification between the seasons of the year: 12.5% in the fall, 15.8% in the winter, 13.6% in the spring, and 9.1% in the summer. There were no statistically significant differences between the seasons ( $p = 0.943$ ).

Table 1 presents the general characteristics of the patients studied. Using the univariate analysis, no statistically significant difference was observed between the variables cited in this table.

Table 2 presents the analysis of the data of past medical history. No statistically significant difference ( $p > 0.05$ ) was observed between the groups of positive and negative viral

identification for the following variables studied: age at time of asthma diagnosis, previous visits to the emergency room (% of yes), number of visits to the emergency room in the last 30 days and in the last year, hospitalization in the last year (% of yes), number of hospital admissions in the last year, in ICU (% of yes), number of admissions in ICU, previous intubations (% of yes), number of previous intubations, smoking history (% of yes), number of cigarettes (packs a year), currently smoking (% of yes), and passive smoking (% of yes).

Table 3 presents the data concerning the use of medications (oral cortisone in the last month, inhaled cortisone, inhaled beta<sub>2</sub>-long action, oral xanthine, inhaled beta<sub>2</sub>-short action, bromide of inhaled ipratropium) and use of nebulization. No statistically significant difference was identified ( $p > 0.05$ ) for these variables between the groups of positive and negative viral identification.

Table 4 presents the analysis of the data of the current crisis. There was a significant difference for fever at home. The group with positive viral identification presented 66.7% of fever at home while the group with negative viral identification presented 27.1% ( $p = 0.006$ ). The median duration of the crisis was of 12 hours in both groups ( $p = 0.742$ ). In the group with positive virus, 53.37% of the patients had the subjective impression that the asthma crisis was triggered by respiratory infections while in the group with negative virus, 39.6% attributed their crises to respiratory infections ( $p = 0.469$ ). In the group with positive viral identification, three patients attributed the triggering of their crisis to being exposed to inhaled allergens, two to exercise, and five to climatic changes; while in the group with negative viral identification, 29.2% of the patients identified it to exposure to inhaled allergens ( $p = 0.670$ ), 13.5% to exercise ( $p = 0.999$ ) and 36.5% to climatic change ( $p = 0.999$ ). In the group with positive virus, 33.3% of the patients were using oral cortisone at the time of the crisis while in the group with negative virus, 42.7% of the patients were using cortisone ( $p = 0.686$ ). Comparing the groups of positive and negative viral identification, the following frequencies of symptoms and signs were observed,

respectively: headache (80.0% and 71.9%;  $p = 0.729$ ), coryza (66.7% and 62.5%;  $p = 0.981$ ), nasal congestion (66.7% and 60.4%;  $p = 0.859$ ), sore throat (46.7% and 32.3%;  $p = 0.425$ ), otalgia (26.7% and 24%;  $p = 0.999$ ), dysphonia (53.3% and 45.8%;  $p = 0.792$ ), myalgia (73.3% and 68.8%;  $p = 0.955$ ), cough (100.0% and 88.4%;  $p = 0.872$ ), expectoration (73.3% and 75%;  $p = 0.999$ ), symptoms of flu in the family (40.0% and 54.2%;  $p = 0.457$ ), axillary temperature  $\geq 37.8^{\circ}\text{C}$  (26.7% and 9.5%;  $p = 0.077$ ). There was also no statistically significant difference between the groups for cardiac frequency, respiratory frequency, wheezing, case of crepitus, snoring, and  $\text{SpO}_2$ .

Table 5 presents the outcomes of the asthma crisis. Eight-one percent of the patients were discharged directly from the emergency room in the group with positive virus, compared with 82.8% in the group with negative virus ( $p = 0.999$ ). Eighteen percent of the patients were hospitalized in the group with positive virus, compared with 17.2% in the group with negative virus ( $p = 0.999$ ). The average permanence in the emergency room was 16.7 hours in the group with positive virus and of 14.1 hours in the group with negative virus ( $p = 0.665$ ).

In the univariate analysis, three variables were identified with  $p < 0.10$ : fever at home ( $p = 0.006$ ), fever at the emergency room (0.077), and body mass index ( $p = 0.071$ ).

Table 6 presents the analysis of multiple logistic regression of Poisson considering as a dependent variable the viral identification and as independent variables the BMI, fever at home, and fever at the emergency room. Fever at the emergency room was removed from the model later on as it was associated with fever at home, and the model that included as independent variables only the BMI ( $p = 0.01$ ) and fever at home ( $p = 0.03$ ) remained.

## DISCUSSION

In this study, a prevalence of 13.5% of respiratory virus was identified. From the clinical characteristics studied, fever at home and the body mass index were associated with the identification of respiratory virus, considering that 66% of the patients with virus identified had fever at home compared with 27% of the patients without virus identified. In relation to BMI, the patients with positive virus presented an average of  $27.9 \pm 3.87$  and the patients without virus an average of  $24.6 \pm 6.1$ .

In relation to the multivariate analysis for the variables with  $p < 0.10$ , a patient with fever at home has three times the chance of having a positive viral identification as long as the BMI is controlled.

The prevalence found in our study is similar to that found in other works that also used the IIF technique as the diagnostic method and where the frequency of identification of respiratory virus was 10 to 21% (11;19;20). Various factors may contribute to underestimate the viral identification in the present study. The first of them was the sensitivity itself of the IIF method. Furthermore, the time of duration of the viral picture may have interfered in the viral identification since the IIF has its best performance when done between 24 to 48 hours from when the symptoms begin (21). In our study, the median duration of the asthma crisis symptoms for all the patients was of 12 hours with an interquartile deviation of 4 to 24 hours. Furthermore, the frequency of the asthma crisis virus identification depends directly on the methodology applied. Some techniques such as viral isolation in culture of cells may increase the viral load and improve the sensitivity of the IIF test, but these are difficult to do and they are not available in our context (22-24). Furthermore, the respiratory infection with other viruses such as Rhinovirus and coronavirus, not considered in this study, may contribute as a factor that triggers the asthma crisis (25-27). The identification of these viruses requires special techniques such as

cell cultivation and PCR (5). Studies using these new diagnostic techniques showed a greater frequency of viral infections in adults with exacerbation of asthma (22-27).

However, it is important to point out that the IIF technique is of good use in the clinical practice for the diagnosis of respiratory infections because it is a fast and effective viral detecting method. Despite this, the task remains of complementing this study using the PCR technique.

A technical difficulty found in this job was the small quantity of secretion obtained by nasopharyngeal aspirate even though the procedure has been done as routine consecutively from both nostrils. This was expressed in the fact that the secretion sample obtained was insufficient for the viral research in 6 of the 111 patients included in the study.

As for the data of the current crisis presented on Table 4, special attention should be given to the findings that the patients with negative viral identification had an elevated frequency of symptoms compatible with the viral clinical picture (migrane, coryza, nasal congestion, sore throat, otalgia, dysphonia, myalgia), not differing from the patients with positive viral identification. Furthermore, the subjective identification of respiratory infection (cold, flu, or sinusitis) as triggering the crisis did not differ between these two groups. Even though the viral diagnosing method used underestimated the actual prevalence of respiratory virus in this sample, the elevated frequency of these symptoms in the group without viral identification points, with greater probability, to the lack of specificity of these clinical parameters as indicators of viral respiratory infection.

The means of sampling should also be considered as methodological limitations in this study. Convenience sampling (28) made the execution of this clinical research feasible in our current reality. We thought that the voluntarism and other types of selection means were minimized in comparison with the strategy of consecutively enlisting the people accessible during the period of the study and that the sample obtained adequately represents the study's target population.

In relation to the seasons of the year, the present study did not see any significant

difference in viral identification prevalence. A greater prevalence of the adenovirus type virus was observed in this study.

In conclusion, a prevalence of 13.5% of respiratory virus in acute asthma was identified in patients 12 years or older treated at the emergency room, which confirms the viral nature as a factor associated to the triggering of asthma crises, however not as frequent as the pediatric age bracket. The clinical characteristics associated with the identification of respiratory virus were fever at home and BMI. The patients with fever at home and with high BMI presented a higher chance of having positive viral identification than the patients without this characteristic.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

We would like to thank Vânia Naomi Hirakata and Daniela Benzano for their statistical analysis, the technical team at the Respiratory Virus Laboratory of FEPPS-IPB-LACEN for their contribution in carrying out the viral identification tests, the medical, administrative, and nursing personnel of the Emergency Service at HCPA for their collaboration in the study, and FIPE/HCPA for their technical support in this article.

## BIBLIOGRAPHY

- (1) Busse WW. Respiratory infections: their role in airway responsiveness and the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990 Apr;85(4):671-83.
- (2) Cerwenka A, Carter LL, Reome JB, Swain SL, Dutton RW. In vivo persistence of CD8 polarized T cell subsets producing type 1 or type 2 cytokines. *J Immunol* 1998 Jul 1;161(1):97-105.
- (3) Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *BMJ* 1993 Oct 16;307(6910):982-6.
- (4) Bardin PG, Johnston SL, Pattermore PK. Viruses as precipitants of asthma symptoms. II. Physiology and mechanisms. *Clin Exp Allergy* 1992 Sep;22(9):809-22.
- (5) Johnston SL, Pattermore PK, Sanderson G, Smith S, Lampe F, Josephs L, et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ* 1995 May 13;310(6989):1225-9.
- (6) Pattermore PK, Johnston SL, Bardin PG. Viruses as precipitants of asthma symptoms. I. Epidemiology. *Clin Exp Allergy* 1992 Mar;22(3):325-36.
- (7) Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J* 1998 Aug;12(2):315-35.



- (8) Jennings LC, Anderson TP, Werno AM, Beynon KA, Murdoch DR. Viral etiology of acute respiratory tract infections in children presenting to hospital: role of polymerase chain reaction and demonstration of multiple infections. *Pediatr Infect Dis J* 2004 Nov;23(11):1003-7.
- (9) Johnston SL. *Viral infections in children with existing asthma*. Seattle: Hogrefe & Huber Publishers; 1996.
- (10) Noah TL, Henderson FW, Wortman IA, Devlin RB, Handy J, Koren HS, et al. Nasal cytokine production in viral acute upper respiratory infection of childhood. *J Infect Dis* 1995 Mar;171(3):584-92.
- (11) Hudgel DW, Langston L, Jr., Selner JC, McIntosh K. Viral and bacterial infections in adults with chronic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1979 Aug;120(2):393-7.
- (12) Jennings LC, Barns G, Dawson KP. The association of viruses with acute asthma. *N Z Med J* 1987 Aug 12;100(829):488-90.
- (13) Teichtahl H., McFadden ER Jr, Huang YT, Mazanec MB. The contribution of respiratory viruses to severe exacerbations of asthma in adults. *Chest* 1995;107:1570-5.
- (14) Mertsola J, Ziegler T, Ruuskanen O, Vanto T, Koivikko A, Halonen P. Recurrent wheezy bronchitis and viral respiratory infections. *Arch Dis Child* 1991 Jan;66(1):124-9.
- (15) Macek V, Dakhama A, Hogg JC, Green FH, Rubin BK, Hegele RG. PCR detection of viral nucleic acid in fatal asthma: is the lower respiratory tract a reservoir for common viruses? *Can Respir J* 1999 Jan;6(1):37-43.
- (16) Gentry SR, Schneider SM, Howton J. Acute Asthma in adults. in: Schwartz GR. ed. *Principles and practice of emergency of medicine*. 4<sup>o</sup> ed. Baltimore: 1999.

- (17) Openshaw PJ, Lemanske R. Respiratory viruses and asthma: can the effects be prevented. *Eur Respir J* 1998;12:27-35s.
- (18) Tuffaha A, Gern JE, Lemanske RF, Jr. The role of respiratory viruses in acute and chronic asthma. *Clin Chest Med* 2000 Jun;21(2):289-300.
- (19) Huhti E, Mokka T, Nikoskelainen J, Halonen P. Association of viral and mycoplasma infections with exacerbations of asthma. *Ann Allergy* 1974 Sep;33(3):145-9.
- (20) Sokhandan M, McFadden ER, Jr., Huang YT, Mazanec MB. The contribution of respiratory viruses to severe exacerbations of asthma in adults. *Chest* 1995 Jun;107(6):1570-4.
- (21) Madey CR, Peiris JSM. Methods in virus diagnosis: immunofluorescence revised. *Journal of clinical virology* 2002 Mar 24;25:121-34.
- (22) Atmar RL, Guy E, Guntupalli KK, Zimmerman JL, Bandi VD, Baxter BD, et al. Respiratory tract viral infections in inner-city asthmatic adults. *Arch Intern Med* 1998 Dec 7;158(22):2453-9.
- (23) Green RM, Custovic A, Sanderson G, Hunter J, Johnston SL, Woodcock A. Synergism between allergens and viruses and risk of hospital admission with asthma: case-control study. *BMJ* 2002 Mar 30;324(7340):763.
- (24) Simpson JL, Moric I, Wark PA, Johnston SL, Gibson PG. Use of induced sputum for the diagnosis of influenza and infections in asthma: a comparison of diagnostic techniques. *J Clin Virol* 2003 Apr;26(3):339-46.

- (25) Corne JM, Marshall C, Smith S, Schreiber J, Sanderson G, Holgate ST, et al. Frequency, severity, and duration of rhinovirus infections in asthmatic and non-asthmatic individuals: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2002 Mar 9;359(9309):831-4.
- (26) Osur SL. Viral Respiratory infections in association with asthma and sinusitis: a review. *\* 2005;89:553-60.
- (27) Papadopoulos NG, Johnston SL. Viruses and asthma exacerbations. *Thorax* 1998 Nov;53(11):913-4.
- (28) Hulley SB, Cummings SR, Browner WS GD, Hearst N, Newman TB. Escolhendo os sujeitos do estudo: especificações, amostragem e recrutamento. Em *Delineando a Pesquisa Clínica. Uma abordagem epidemiológica*. In: Artmed Editora S.A. 2e2PP, editor. 2006.

TABLE 1  
General Characteristics of patients treated for acute asthma in the Emergency Service of HCPA

Variable	Total (n = 111)	Positive Virus (n = 15)	Negative Virus (n = 96)	OR OR (CI 95%)	P
Gender, n (% yes)					0.999
Men	21 (18.9)	3 (20.0)	18 (18.8)	1.07 (0.33-3.46)	
Women	90 (81.1)	12 (80.0)	78 (81.3)	-	
Age (years), average $\pm$	45.1 $\pm$ 20.3	48.8 $\pm$ 16.8	45.0 $\pm$ 20.8	1.01 (0.99-1.03)	0.507
OR					
Color, n (% yes)					0.479
Caucasian	57(63.3)	6 (50.0)	51(65.4)	0.58 (0.20-1.65)	
Not Caucasian	33 (36.7)	6 (50.0)	27 (34.6)	-	
Marital status, n (% yes)					0.999
Single	65 (60.7)	9 (64.3)	56 (60.2)	1.16 (1.42-3.23)	
Married	42 (39.3)	5 (35.7)	37 (39.8)	-	
BMI, average $\pm$ SD	22.5 $\pm$ 5.9	27.9 $\pm$ 3.87	24.7 $\pm$ 6.1	1.09 (1.02-1.16)	0.071

n = number of cases, OR = odds ratio, CI = confidence interval of 95%, SD = standard deviation, and BMI = body mass index.

Chi-square test for categorical variables, t-test for independent samples for the quantitative variables, and odds ratio with interval of 95% for the strength of association with the positive viral identification.

TABLE 2  
Data on past medical history of patients treated for acute asthma in the Emergency Service of HCPA

Variable	Positive Virus (n = 15)	Negative Virus (n = 96)	OR (CI 95%)	P
Age diagnosed with asthma (years) median (II)	14 (2;27)	14 (3;39)	0.99 (0.97-1.02)	0.793
Previous visits to emergency room, n (% yes)	12 (80.0)	85 (88.5)	0.58 (0.19-1.80)	0.611
Visits in last 30 days, median (II)	1 (1;2)	1 (1;1)	1.26 (0.87-1.84)	0.242
Visits in last year, median (II)	2 (1;7)	3 (1;5.3)	1.03 (0.93-1.14)	0.784
Hospitalization in last year, n (% yes)	3 (20.0)	35 (36.5)	0.48 (0.14-1.60)	0.339
No. of hospitalizations in last year, median (II)	2 (1;7)	1 (1;2)	1.40 (0.74-2.65)	0.773
Admitted to ICU, n (% yes)	3 (20.0)	22 (22.9)	0.86 (0.26-2.81)	0.999
No. of admissions to ICU, median (II)	1 (1;1)	1 (1;2)	0.41 (0.18-0.93)	0.442
Previous intubation, n (% yes)	2 (13.3)	16 (16.7)	0.80 (0.20-3.23)	0.999
No. of intubations, median (II)	1 (1;1)	1 (1;1)	2.44 (3.36-1.76)	0.634
Smoking history, n (% yes)	8 (53.3)	35 (36.5)	1.81 (0.71 - 4.63)	0.336
Pack per year, median (II)	2(1.1;24.3)	17.8 (5;29.3)	0.99 (0.94-1.03)	0.248
Currently smoking, n (% yes)	2 (13.3)	4 (4.2)	2.70 (0.78 - 9.3)	0.397
Passive smoking, n (% yes)	5 (33.3)	49 (51.0)	0.53 (0.19 - 1.45)	0.318

n = number of cases, ICU = intensive care unit, OR = odds ratio, and CI = confidence interval of 95%

Mann-Whitney U Test for quantitative variables, chi-square test for categorical variables, and odds ratio with confidence interval of 95% for the strength of association with the positive viral identification.

TABLE 3

Medications used for patients treated for acute asthma in the Emergency Service of HCPA

Variable	Positive Virus (n = 15)	Negative Virus (n = 96)	OR (CI 95%)	p
Oral cortisone in last month, n (% yes)	9 (60.0)	48 (50.0)	1.42 (0.54 - 3.73)	0.658
Inhaled cortizone, n (% yes)	7 (46.7)	45 (46.9)	0.99 (0.39 - 2.55)	0.999
Inhaled beta2-long action, n (% yes)	4 (26.7)	37 (38.5)	0.62 (0.21 - 1.82)	0.549
oral xanthine, n (% yes)	3 (20.0)	13 (13.5)	1.48 (0.47 - 4.68)	0.789
Inhaled beta2-short action, n (% yes)	11 (73.3)	70 (72.9)	1.02 (0.35 - 2.95)	0.999
Inhaled ipratropium, n (% yes)	5 (33.3)	41 (42.7)	0.71 (0.26 - 1.93)	0.686
Use of nebulization, n (% yes)	9 (60.0)	77 (80.2)	0.44(0.17 - 1.11)	0.159

OR = odds ratio for the positive viral identification, CI 95% = confidence interval of 95%

Chi-square test for categorical variables and odds ratio with confidence interval of 95% for the strength of association with the positive viral identification.

TABLE 4

Data on the current exacerbation of patients treated for acute asthma in the Emergency Service  
of HCPA

Variable	Positive Virus (n = 15)	Negative Virus (n = 96)	OR (CI 95%)	p
Duration of the crisis (hours), median (II)	12 (6;36)	12 (3.3;24)	1.00 (0.98 - 1.00)	0.742
Identification of triggering factor, n (% yes)				
Infection	8 (53.3)	38 (39.6)	1.62 (0.63 - 4.14)	0.469
Allergens	3 (20.0)	28 (29.2)	0.65 (0.20 - 2.13)	0.670
Exercise	2 (13.3)	13 (13.5)	0.98 (0.25 - 3.94)	0.999
Climatic change	5 (33.3)	35 (36.5)	0.89 (0.33 - 2.42)	0.999
Crisis in using cortizone Systemic, n (% yes)	5 (33.3)	41 (42.7)	0.70 (0.26 - 1.93)	0.686
Symptoms, n (% yes)				
Migrane	12 (80.0)	69 (71.9)	1.48 (0.45 - 4.89)	0.729
Coryza	10 (66.7)	60 (62.5)	1.17 (0.43 - 3.19)	0.981
Nasal congestion	10 (66.7)	58 (60.4)	1.27 (0.46 - 3.45)	0.859
Sore throat	7(46.7)	31(32.3)	1.68 (0.66 - 4.28)	0.425
Otalgia	4 (26.7)	23 (24)	1.30 (0.39 - 3.26)	0.999
Dysphonia	8 (53.3)	44 (45.8)	1.35 (0.50 - 3.33)	0.792
Myalgia	11(73.3)	66 (68.8)	1.21 (0.42 - 3.54)	0.955
Cough	15 (100.0)	84 (87.5)	0.85 (0.78 - 0.93)	0.316
Expectoration	11(73.3)	72 (75)	0.93 (0.32 - 2.68)	0.999



Fever at home	10 (66.7)	26 (27.1)	4.17 (1.54 - 11.3)	0.006
Symptoms of flu in the family, n (% yes)	6 (40.0)	52 (54.2)	0.61 (0.23 - 1.60)	0.457
Signs				
Axillary temp. $\geq 37.8^\circ\text{C}$ , n (% yes)	4 (26.7)	9 (9.4)	2.71 (1.01 - 7.3)	0.077
CF (bpm)	113 (98;119)	108 (96;21)	1.01(0.97 - 1.03)	0.860
RF (rmpm)	26 (24;31)	26 (22;28)	1.01(0.94 - 1.09)	0.624
Wheezing, n (% yes)	14 (93.3)	84 (87.5)	1.85 (0.26 - 13.0)	0.825
Crepitus, n (% yes)	2 (13.3)	16 (16.7)	0.80 (0.20 - 3.23)	0.999
Snoring, n (% yes)	4 (27.0)	21(22.0)	1.25 (0.44 - 3.60)	0.936
SpO <sub>2</sub> (%), median (I)	98 (96;98)	96 (94;98.3)	1.12 (0.97 - 1.28)	0.287

OR = odds ratio of the positive viral identification, CI 95% = confidence interval of 95%, CF = cardiac frequency, bpm = beats per minute, RF = respiratory frequency, rmpm = respiratory movements per minute, and SpO<sub>2</sub> = oxygen saturation measured by digital pulse oxymetry.

T-test for independent samples or Mann-Whitney U Test for the quantitative variables, chi-square test for the categorical variables, and odds ratio with confidence interval of 95% for the strength of association with the positive viral identification.

TABLE 5

Outcomes of the Crisis of patients treated for acute asthma in the Emergency Service of HCPA

Outcomes	Positive Virus (n = 15)	Negative Virus (n = 96)	OR (CI 95%)	P
Discharge from emergency room, n (% yes)	9 (60.0)	72 (75.0)	0.94 (0.22 - 4.0)	0.999
Hospital admission, n (% yes)	2 (13.3)	15 (15.63)	-	
Stay in the emergency room in h, average $\pm$ SD	16.7 $\pm$ 6.05	14.1 $\pm$ 2.02	-	0.665

OR = odds ratio for the positive viral identification, CI = confidence interval of 95%, and SD = standard deviation

Chi-square test for categorical variables, odds ratio with reliability interval of 95% for the strength of association with the positive viral identification, t-test for independent samples, or Mann-Whitney U Test for the quantitative variables.

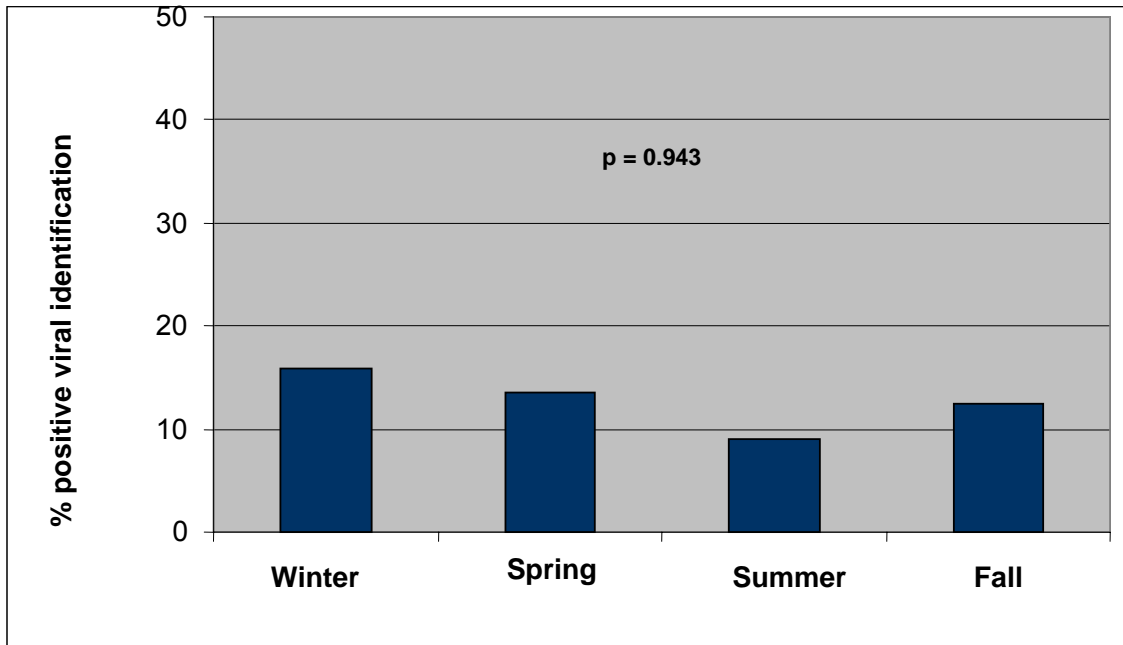
TABLE 6

Logistic regression analysis of patients treated for acute asthma in the Emergency Service of  
HCPA

Independent variables	OR (CI 95%)	P
BMI	1.08 (1.02;1.14)	0.01
Fever at home	3.06 (1.09;8.58)	0.03

OR = odds ratio, CI = confidence interval of 95%, BMI = body mass index

Multiple logistic regression analysis of Poisson using the positive viral  
identification as the dependent variable



**Figure 1** - Prevalence of the respiratory virus identification in acute asthma cared for at the adults sector of the emergency room in relation to the season of the year.

**6 ARTIGO EM PORTUGUES**

## **Título**

Prevalência de Vírus Respiratório e suas Associações com Achados Clínicos na Asma Aguda na Sala de Emergência

## **Autores**

Ivete Terezinha Machado da Rocha <sup>1</sup>, Selir Straliozzo <sup>2</sup>, Diego Menegotto <sup>3,4</sup>, Angela Zanonato<sup>3</sup>, Gabriela Seeger<sup>3</sup>, Lilian Rech Pasin <sup>3</sup>, Fernando Soliman <sup>3</sup>, Diego Menegotto <sup>3,4</sup>, Sérgio Saldanha Menna Barreto <sup>5</sup>, Paulo de Tarso Roth Dalcin <sup>6</sup>

## **Credenciais e Filiações dos Autores**

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Nível Mestrado, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); Bioquímica do Laboratório de Vírus Respiratório da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, Laboratório Central (FEPPS/IPB-LACEN).

<sup>2</sup> Bioquímica, Chefe do Laboratório de **Vírus Respiratório da FEPS/IPB-LACEN**

<sup>3</sup> Estudantes de Graduação, Faculdade de Medicina, UFRGS

<sup>4</sup> Bolsistas de Iniciação Científica, Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), UFRGS, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq).

<sup>5</sup> Professor Titular, Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, UFRGS; Chefe do Serviço de Pneumologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

<sup>6</sup> Professor Adjunto, Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, UFRGS; Serviço de Pneumologia (HCPA).

**Endereço, Telefone e E-mail para Contato**

Ivete Terezinha Machado da Rocha

Rua Sargento Manoel Raimundo Soares 753 casa 25, Bairro Jardim Carvalho, Porto Alegre,  
RS

CEP 91.430-380

E-mail: [kalinrs@yahoo.com.br](mailto:kalinrs@yahoo.com.br)

Fone/Fax: (51)33387382 (51)99563345

## **SIGLAS**

PBS *Phosphate Buffered Saline* (salina fosfato)

IFI Imunofluorescência indireta

UTI Unidade de tratamento intensivo

SpO<sub>2</sub> Saturação de oxigênio medida pela oximetria de pulso digital

TR Transcrição reversa

PCR *Polymerase Chain Reaction* (reação em cadeia da polimerase)



## RESUMO

**Introdução:** As infecções virais do trato respiratório (IVTR) têm sido freqüentemente identificadas em associação com asma aguda (AA) em crianças, porém poucos estudos têm mostrado resultados similares em adultos com asma. **Objetivos:** Avaliar a prevalência de infecção viral na asma aguda em pacientes atendidos no setor de adultos do departamento de emergência (DE), comparando as características entre os grupos com amostras positivas e negativas para os vírus respiratórios. **Material e Métodos:** Conduzimos um estudo transversal de pacientes que se apresentaram com AA no setor de adultos do DE (idade igual ou maior que 12 anos) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Um aspirado nasofaríngeo foi obtido para detecção de antígeno com a técnica de coloração de imunofluorescência indireta (vírus sincicial respiratório, adenovírus, influenza e parainfluenza tipo 1, 2, 3 e 4). Foram coletados dados referentes a características demográficas, medicações regulares, história médica pregressa, crise que levou à atual visita ao DE e desfechos da crise. **Resultados:** No período de março de 2004 a novembro de 2005, 111 pacientes foram examinados para IVTR. Foram identificados vírus respiratórios em 15 pacientes (8 com Adenovírus, 1 com RSV, 2 com Influenza A, e 4 com Parainfluenza tipo 1). Utilizando a análise de regressão logística, as variáveis com ( $p < 0,10$ ), índice de massa corporal (IMC) e febre no domicílio, foram significativamente associados à identificação de vírus respiratório. Sessenta e seis por cento dos pacientes com IVTR apresentaram febre no domicílio, enquanto que somente 27% dos pacientes sem infecção viral apresentaram febre a domicílio, ( $p = 0,006$ ). Não houve outra diferença significativa nas características clínicas, tempo de permanência e desfechos. **Conclusão:** Este estudo mostra uma prevalência de 13,5% de IVTR na AA em pacientes com idade igual ou maior que 12 anos atendidos na sala de emergência, confirmando a infecção viral como importante desencadeante

nesta faixa etária. Dentre as características clínicas estudadas, febre no domicílio e IMC elevado, apresentam maior chance de identificação viral positiva.

**Unitermos:** medicina de emergência, asma, exacerbação, vírus respiratórios

## INTRODUÇÃO

As exacerbações da asma estão associadas com fatores precipitantes de diversas naturezas. A exposição aos alérgenos inalatórios, principalmente mofo, pólen e ácaro da poeira domiciliar, têm merecido muita atenção como desencadeante da asma extrínseca (1). Outros fatores precipitantes importantes são: a exposição ao frio, exercício, drogas, poluição atmosférica e mudanças climáticas (1-3). Além disto, as infecções do trato respiratório também têm sido associadas com as crises asmáticas (3). Estudos recentes sugerem que a importância da infecção viral tem sido subestimada como fator desencadeante da agudização da asma, o que ocorre principalmente devido à limitação da metodologia diagnóstica disponível para identificar os vírus respiratórios (1;3-6).

Em crianças, a infecção viral aumenta a reatividade das vias aéreas e é responsável por 26% a 80 % dos episódios de asma aguda(7-10). Em adultos, o papel da infecção viral como causa da exacerbação da asma ainda não está muito bem definido (11;12) e a identificação de vírus respiratório associado à crise asmática tem variado de 0% a 44% dos casos (1;13). Ainda, a utilização de novas técnicas de diagnóstico (pesquisa pela reação em cadeia da polimerase - PCR) tem elevado a identificação de infecções virais como causa de exacerbação da asma em adultos (8;14;15).

As crises asmáticas constituem, em várias instituições hospitalares, uma emergência médica muito comum. Segundo dados norte-americanos, pacientes com crise de asma aguda contribuem com 1 a 5% dos atendimentos realizados anualmente nos setores de emergência médica, o que corresponde a, aproximadamente, um milhão de consultas médicas (16).

A prevalência de vírus respiratórios como fator desencadeante de asma aguda em pacientes atendidos na sala de emergência não tem sido estudada em nosso meio. Desta maneira, a elucidação do papel dos precipitantes na asma aguda grave contribuiria para otimizar o manejo da prevenção desta doença (17;18).

O objetivo desse estudo foi avaliar a prevalência de vírus respiratório em pacientes atendidos por asma aguda no setor de adultos do Serviço de Emergência do HCPA, comparando as características entre os grupos com amostras positivas e negativas para os vírus respiratórios.

## **CASUÍSTICA E MÉTODOS**

### *Delineamento*

Estudo de prevalência de vírus respiratórios (vírus sincicial respiratório, adenovírus, influenza e parainfluenza tipo 1, 2, 3 e 4), com amostra de conveniência, utilizando como teste diagnóstico a imunofluorescência indireta (IFI) para detecção de antígenos virais em secreção de nasofaringe, em pacientes com asma aguda grave, com idade igual ou maior que 12 anos, atendidos no setor de adultos do Serviço de emergência do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

### *População do Estudo*

A população do estudo consistiu em pacientes com asma aguda atendidos no setor de adultos do Serviço de Emergência do HCPA. Os critérios de inclusão utilizados foram: diagnóstico médico prévio de asma brônquica, idade igual ou maior que 12 anos e atendimento por sintomas de agudização da doença, isto é, dispnéia e/ou sibilância e/ou tosse. Foram excluídos: pacientes com pneumopatias crônicas; pacientes com insuficiência cardíaca; e

pacientes que não aceitaram ou cujos responsáveis não aceitaram assinar o termo de consentimento para participação no estudo.

A amostragem consistiu de indivíduos que, uma vez obedecidos aos critérios de inclusão e exclusão, foram estudados de forma consecutiva em um período restrito de disponibilidade de execução do teste de IFI para identificação viral. A equipe de pesquisa comparecia ao setor de emergência pela manhã e à tarde na busca de pacientes com asma aguda. Entretanto, como o teste diagnóstico não estava disponível no período noturno, nos finais de semana e nos feriados, os pacientes atendidos nesses períodos não eram considerados para possível inclusão.

#### *Medidas e Instrumentos*

A avaliação clínica foi realizada pelos membros do estudo e consistiu no preenchimento de um questionário padronizado. Esse questionário abordava dados demográficos, sexo, idade, cor, estado civil e índice de massa corporal (IMC); dados da história clínica pregressa (idade do diagnóstico da asma; números de visitas prévias a serviço de emergência nos últimos 30 dias e no último ano; número de hospitalizações no último ano; número de internações em unidade de terapia intensiva ao longo da vida; número de episódios de intubação e ventilação mecânica ao longo da vida; medicamentos em uso; uso de nebulização para o tratamento broncodilatador; e história tabágica); dados da história da doença atual (duração da crise, identificação subjetiva do fator desencadeante da crise, sintomas durante a crise asmática, e sintomas de gripe na família). Também eram registrados os achados clínicos na admissão (temperatura axilar, frequência cardíaca, frequência respiratória, achados na ausculta pulmonar e saturação de oxigênio medida pela oximetria de pulso digital - SpO<sub>2</sub>) e os desfechos após tratamento da crise asmática (internação em unidade de terapia intensiva, internação em enfermaria e alta do Serviço de Emergência). Na identificação dos fatores desencadeantes da crise, o paciente era questionado se havia notado algum evento desencadeante para a piora da asma e se podia

precisar o desencadeante: infecção respiratória (gripe, resfriado ou sinusite), alérgeno inalatório (poeira domiciliar, mofo, pêlo de animal, pólen ou outro), exercício ou mudança climática.

A avaliação diagnóstica para a identificação de vírus respiratórios envolveu a realização do teste de imunofluorescência indireta na secreção de nasofaringe, utilizando os antígenos virais do sincicial respiratório, adenovírus, influenza e parainfluenza tipo 1,2,3,4. A secreção de nasofaringe foi coletada através de uma sonda uretral acoplada a um equipo da biojet, (komponent do nordeste ind. e com. LTDA, rod. br 324 – km 523 – Feira de Santana – BA). A sonda foi introduzida pela narina até a nasofaringe, sendo aplicada aspiração de 20 cm H<sub>2</sub>O para a obtenção da secreção, com aparelho de aspiração a vácuo da marca FANEM, São Paulo, Brasil. As amostras foram transportadas para o Instituto de Pesquisas Biológicas, Laboratório Central, em recipiente de isopor com barras de gelo reciclável (4°C).

No laboratório, a amostra era transferida para um tubo de centrífuga estéril, previamente identificado, contendo aproximadamente 2 ml de salina fosfato tamponada (*Phosphate buffered saline*). As amostras suspensas, para diluição do muco e liberação das células, foram centrifugadas a 1500 rotações por minuto (r.p.m), durante dez minutos em temperatura ambiente. Três lâminas foram preparadas para cada amostra a ser analisada. Uma lâmina foi usada para a triagem de positividade, e a segunda para a determinação do agente em casos de triagem positiva. A terceira lâmina foi estocada em *freezer* a -70°C, para casos onde a repetição da IFI fosse necessária. Em cada lâmina o material foi distribuído em 7 círculos de aproximadamente 0,05 de diâmetro, secado e fixado em acetona a 4°C por 10 minutos. Para a coloração das lâminas foram colocados 25 µl dos anticorpos monoclonais específicos para cada vírus (antivírus sincicial respiratório, anti-adenovírus, antiinfluenza A, antiinfluenza B e anti-parainfluenza tipo 1,2,3 e 4), em cada círculo. Utilizou-se o Respiratory Panel 1 Viral Screening & Identification Kit da (Chemicon Internacional, Temecula, EUA). A seguir as lâminas foram incubadas em câmara úmida a 37°C, por trinta minutos, lavadas três vezes por imersão, com

tempo de 5 minutos em solução salina fosfato tamponada e secadas com ar frio. A seguir, era adicionada uma gota do conjugado específico com incubação em câmara úmida a 37°C, lavagem e secagem. As lâminas foram montadas com glicerol tamponado e a leitura foi realizada em microscópio de fluorescência.

### *Análise Estatística*

Os dados foram digitados em uma base de dados do programa Microsoft Excel®, versão 2000, sendo processados e analisados com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 12.0. Foram realizadas análises descritivas e comparativas entre os grupos do estudo (amostras positivas e amostras negativas para vírus respiratório). Na análise das variáveis contínuas de distribuição normal foi empregado o teste t de Student para amostras independentes. Na análise das variáveis contínuas sem distribuição normal foi utilizado o teste U de Mann-Whitney. Na análise das variáveis categóricas foi empregado o teste do qui-quadrado, utilizando, se necessário, correção de Yates ou teste exato de Fisher. Foi calculada a razão de prevalência com intervalo de confiança de 95% para as variáveis estudadas. As variáveis identificadas com  $p < 0,10$ , na análise univariada, foram incluídas em uma análise de regressão múltipla de Poisson, com estimativa de variância robusta, buscando associação com a identificação viral positiva. O nível de significância estatística foi estabelecido em  $p < 0,05$  e todos os testes utilizados foram bicaudais.

O tamanho amostral foi calculado a partir dos dados obtidos durante os três primeiros meses de estudo. Assim, com a prevalência de 12% de identificação viral e considerando um  $\alpha = 0,05$  e  $1-\beta = 90\%$ , foi estimado um adequado tamanho amostral de 176 pacientes.

Para essa publicação, foram utilizados os dados obtidos no período de março de 2004 a novembro de 2005, sendo que a coleta de dados continua ao longo de 2006.

## *Ética*

O estudo foi aprovado pelos comitês de ética em pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e o consentimento pós-informação foi obtido de todos os pacientes ou de seus responsáveis, em caso de pacientes menores de 18 anos.

## **RESULTADOS**

No período de março de 2004 a novembro de 2005, foram atendidos no setor de adultos do Serviço de Emergência do HCPA 817 pacientes com diagnóstico de asma aguda. Destes, 290 foram avaliados para possível inclusão no estudo, sendo excluídos 117 pacientes por serem portadores de pneumopatia crônica, 26 pacientes por terem diagnóstico de insuficiência cardíaca, 30 pacientes por não terem aceitado participar do estudo. Assim, foram incluídos no estudo 117 pacientes, dos quais foram coletadas informações clínicas e secreção nasofaríngea, sendo que, em 6 desses pacientes, o material coletado foi insatisfatório para o teste de IFI, permanecendo 111 pacientes para serem analisados na pesquisa.

Dos 111 pacientes estudados, 90 (81,1%) eram do sexo feminino e 21(18,9%), do sexo masculino. Sessenta e sete pacientes (67%) eram de cor branca e 33 (38,7%) de cor não-branca. A média de idade dos pacientes estudados foi de  $45 \pm 20,3$  anos.

Quinze pacientes (13,5%) tiveram amostras positivas para vírus respiratórios. Os vírus identificados foram: Adenovírus (8 casos), vírus sincicial respiratório (1 caso), Influenza A (2 casos) e Parainfluenza tipo 1 (4 casos). A figura 1 mostra uma prevalência de identificação



viral entre as estações do ano: 12,5% no outono, 15,8% no inverno, 13,6% na primavera e 9,1% no verão. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as estações ( $p = 0,943$ ).

A Tabela 1 apresenta as características gerais dos pacientes estudados. Usando a análise univariada, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as variáveis citadas nessa tabela.

A Tabela 2 apresenta a análise dos dados da história progressiva. Nenhuma diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) foi observada entre os grupos de identificação viral positiva e negativa para as seguintes variáveis estudadas: idade do diagnóstico de asma, visitas prévias à emergência (% de sim), número de visitas à emergência nos últimos 30 dias e no último ano, hospitalizações no último ano (% de sim), número de internações no último ano, internações em UTI (% de sim), número de internações em UTI, intubações prévias (% de sim), número de intubações prévias, história de tabagismo (% de sim), número de cigarros (maços-ano), tabagismo atual (% de sim), e tabagismo passivo (% de sim).

A tabela 3 apresenta os dados referentes ao uso de medicamentos (corticóide oral no último mês, corticóide inalatório, beta2-longa ação inalatório, xantina oral, beta2-curta ação inalatório, brometo de ipratrópio inalatório) e uso de nebulização. Não foi identificada diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) para essas variáveis entre os grupos de identificação viral positiva e negativa.

A Tabela 4 apresenta a análise dos dados da crise atual. Houve diferença significativa para febre no domicílio. O grupo com identificação viral positiva apresentou 66,7% de febre no domicílio, enquanto que o grupo com identificação viral negativa apresentou 27,1%; ( $p = 0,006$ ). A duração mediana da crise foi de 12 horas nos dois grupos ( $p = 0,742$ ). No grupo com vírus positivo 53,37% dos pacientes tiveram a impressão subjetiva de que a crise asmática foi desencadeada por infecção respiratória, enquanto, no grupo com vírus negativo, 39,6% atribuíram sua crise à infecção respiratória ( $p = 0,469$ ). No grupo com identificação viral

positiva, três pacientes atribuíram o desencadeamento de sua crise à exposição a alérgeno inalatório, dois aos exercícios e 5 à mudança climática, enquanto no grupo com identificação viral negativa, 29,2% dos pacientes identificaram à exposição a alérgeno inalatório ( $p = 0,670$ ), 13,5% ao exercício ( $p = 0,999$ ) e 36,5% à mudança climática ( $p = 0,999$ ). No grupo com vírus positivo, 33,3% dos pacientes estavam em uso de corticóide oral no momento da crise, enquanto no grupo com vírus negativo, 42,7% dos pacientes estavam usando corticóide ( $p = 0,686$ ). Comparando os grupos com identificação viral positiva e negativa foram observadas, respectivamente, as seguintes frequências de sintomas e sinais: cefaléia (80,0% e 71,9%;  $p = 0,729$ ), coriza (66,7% e 62,5%;  $p = 0,981$ ), congestão nasal (66,7% e 60,4%;  $p = 0,859$ ), dor de garganta (46,7% e 32,3%;  $p = 0,425$ ), otalgia (26,7% e 24%;  $p = 0,999$ ), disfonia (53,3% e 45,8%;  $p = 0,792$ ), mialgia (73,3% e 68,8%;  $p = 0,955$ ), tosse (100,0% e 88,4%;  $p = 0,872$ ), expectoração (73,3% e 75%;  $p = 0,999$ ), sintomas gripais na família (40,0% e 54,2%;  $p = 0,457$ ), temperatura axilar  $\geq 37,8^{\circ}\text{C}$  (26,7% e 9,5%;  $p = 0,077$ ). Também não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para frequência cardíaca, frequência respiratória, achado de sibilância, achado de crepitanes, achado de roncos e  $\text{SpO}_2$ .

A Tabela 5 apresenta os desfechos da crise asmática. Oitenta e um por cento dos pacientes tiveram alta diretamente da emergência no grupo com vírus positivo, comparado com 82,8% no grupo com vírus negativo ( $p = 0,999$ ). Dezoito por cento dos pacientes foram internados no grupo com vírus positivo, comparado com 17,2 no grupo com vírus negativo ( $p = 0,999$ ). A permanência média na emergência foi de 16,7 h no grupo com vírus positivo e de 14,1 h no grupo com vírus negativo ( $p = 0,665$ ).

Na análise univariada foram identificadas três variáveis com  $p < 0,10$ : febre no domicílio ( $p = 0,006$ ), febre na emergência (0,077) e índice de massa corporal ( $p = 0,071$ ).

A tabela 6 apresenta a análise de regressão logística múltipla de Poisson, considerando como variável dependente a identificação viral e como variáveis independentes o IMC, febre no

domicilio e febre na emergência. Febre na emergência foi posteriormente removida do modelo pois esta estava associada com a febre no domicilio, permanecendo o modelo que incluía como variáveis independentes somente o IMC ( $p = 0,01$ ) e a febre a domicilio ( $p = 0,03$ ).

## DISCUSSÃO

Neste estudo, foi identificada uma prevalência de 13,5% de vírus respiratório. Dentre as características clínicas estudadas, a febre no domicílio e índice de massa corporal estiveram associados com a identificação de vírus respiratório, sendo que 66% dos pacientes com vírus identificado apresentaram febre no domicílio comparado a 27% de pacientes sem vírus identificados. Em relação ao IMC os pacientes com vírus positivo apresentaram uma média de  $27,9 \pm 3,87$  e os pacientes sem vírus, uma média de  $24,6 \pm 6,1$ .

Em relação a análise multivariada para as variáveis com  $p < 0,10$ , um paciente com febre a domicilio apresenta 3 vezes a chance de possuir identificação viral positiva desde que, controlado para o IMC.

A prevalência encontrada em nosso estudo é semelhante à encontrada em outros trabalhos que também utilizaram a técnica de IFI como método diagnóstico e nos quais a frequência de identificação de vírus respiratório foi de 10 a 21% (11;19;20). Vários fatores podem ter contribuído para subestimar a identificação viral no presente estudo. O primeiro deles foi a própria sensibilidade do método de IFI. Também o tempo de duração do quadro viral pode ter interferido na identificação viral, já que a IFI tem seu melhor rendimento quando realizada em 24 a 48 horas do início dos sintomas (21). Em nosso estudo, a duração mediana dos sintomas da crise asmática para todos os pacientes foi de 12 horas com desvio interquartilico de (4-24h). Além disso, a frequência da identificação de vírus na crise asmática depende diretamente da metodologia aplicada. Algumas técnicas, como isolamento viral em cultura de células, podem aumentar a carga viral e melhorar a sensibilidade do teste de IFI, mas são de

difícil realização e não estão disponíveis em nosso meio (22-24). Além disso, a infecção respiratória com outros vírus, como o rinovírus e o coronavírus, não considerados neste estudo, pode contribuir como fator desencadeante da crise asmática (25-27). A identificação desses vírus exige técnicas especiais como o cultivo celular e PCR (5). Estudos utilizando estas novas técnicas de diagnóstico têm mostrado maior frequência de infecções virais em adultos com exacerbação da asma (22-27).

No entanto, cabe defender a técnica de IFI que, por ser um rápido e efetivo método de detecção viral, com custos razoáveis, encontra utilidade na prática clínica para o diagnóstico das infecções respiratórias (21). Apesar disso, fica a tarefa de complementar esse estudo com a utilização da técnica de PCR.

Uma dificuldade técnica encontrada nesse trabalho foi a pouca quantidade de secreção obtida pela aspiração nasofaríngea, mesmo que o procedimento tenha sido realizado de rotina consecutivamente através das duas narinas. Isto fica expresso pelo fato de que a amostra de secreção obtida foi insuficiente para a pesquisa viral em 6 dos 111 pacientes incluídos no estudo.

Nos dados da crise atual, apresentado na Tabela 4, merecem atenção os achados de que os pacientes com identificação viral negativa tiveram frequência elevada de sintomas compatíveis com quadro clínico viral (cefaléia, coriza, congestão nasal, dor de garganta, otalgia, disфонia, mialgia), não diferindo dos pacientes com identificação viral positiva. Também a identificação subjetiva de infecção respiratória (resfriado, gripe ou sinusite) como desencadeante da crise não diferiu entre esses dois grupos. Ainda que o método de diagnóstico viral empregado tenha subestimado a real prevalência de vírus respiratório nessa amostra, a elevada frequência desses sintomas no grupo sem identificação viral aponta, com maior probabilidade, para a falta de especificidade desses parâmetros clínicos como indicadores de infecção respiratória viral.

Ainda cabe considerar como limitações metodológicas nesse estudo a forma de amostragem. A amostragem de conveniência (28) tornou factível a execução dessa pesquisa clínica em nossa realidade atual. Achamos que o voluntarismo e outros tipos de vieses de seleção foram minimizados com a estratégia de arrolar consecutivamente as pessoas acessíveis no período de realização do estudo e que a amostra obtida representa adequadamente a população-alvo do estudo.

Em relação às estações do ano, o presente estudo não observou diferença significativa na prevalência de identificação viral. Neste estudo foi observada uma maior prevalência do vírus do tipo adenovírus.

Em conclusão, foi identificada uma prevalência de 13,5% de vírus respiratório na asma aguda, em pacientes com idade igual ou maior que 12 anos, atendidos na sala de emergência, confirmando a natureza viral como um fator associado ao desencadeamento de crises asmáticas, porém não tão freqüente quanto na faixa etária pediátrica. As características clínicas associadas com a identificação de vírus respiratório foram febre no domicílio e IMC. Os pacientes com febre no domicílio e com maior IMC apresentam maior chance de ter identificação viral positiva do que os pacientes sem essa característica.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos à Vânia Naomi Hirakata e à Daniela Benzano pela análise estatística; à equipe técnica do Laboratório de Vírus Respiratório do FEPPS-IPB-LACEN pela contribuição na realização dos testes de identificação viral; e ao pessoal médico, administrativo e de enfermagem do Serviço de Emergência do HCPA pela colaboração no estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Busse WW. Respiratory infections: their role in airway responsiveness and the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990 Apr;85(4):671-83.
- (2) Cerwenka A, Carter LL, Reome JB, Swain SL, Dutton RW. In vivo persistence of CD8 polarized T cell subsets producing type 1 or type 2 cytokines. *J Immunol* 1998 Jul 1;161(1):97-105.
- (3) Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *BMJ* 1993 Oct 16;307(6910):982-6.
- (4) Bardin PG, Johnston SL, Pattermore PK. Viruses as precipitants of asthma symptoms. II. Physiology and mechanisms. *Clin Exp Allergy* 1992 Sep;22(9):809-22.
- (5) Johnston SL, Pattermore PK, Sanderson G, Smith S, Lampe F, Josephs L, et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ* 1995 May 13;310(6989):1225-9.
- (6) Pattermore PK, Johnston SL, Bardin PG. Viruses as precipitants of asthma symptoms. I. Epidemiology. *Clin Exp Allergy* 1992 Mar;22(3):325-36.
- (7) Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J* 1998 Aug;12(2):315-35.

- (8) Jennings LC, Anderson TP, Werno AM, Beynon KA, Murdoch DR. Viral etiology of acute respiratory tract infections in children presenting to hospital: role of polymerase chain reaction and demonstration of multiple infections. *Pediatr Infect Dis J* 2004 Nov;23(11):1003-7.
- (9) Johnston SL. *Viral infections in children with existing asthma*. Seattle: Hogrefe & Huber Publishers; 1996.
- (10) Noah TL, Henderson FW, Wortman IA, Devlin RB, Handy J, Koren HS, et al. Nasal cytokine production in viral acute upper respiratory infection of childhood. *J Infect Dis* 1995 Mar;171(3):584-92.
- (11) Hudgel DW, Langston L, Jr., Selner JC, McIntosh K. Viral and bacterial infections in adults with chronic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1979 Aug;120(2):393-7.
- (12) Jennings LC, Barns G, Dawson KP. The association of viruses with acute asthma. *N Z Med J* 1987 Aug 12;100(829):488-90.
- (13) Teichtahl H., McFadden ER Jr, Huang YT, Mazanec MB. The contribution of respiratory viruses to severe exacerbations of asthma in adults. *Chest* 1995;107:1570-5.
- (14) Mertsola J, Ziegler T, Ruuskanen O, Vanto T, Koivikko A, Halonen P. Recurrent wheezy bronchitis and viral respiratory infections. *Arch Dis Child* 1991 Jan;66(1):124-9.
- (15) Macek V, Dakhama A, Hogg JC, Green FH, Rubin BK, Hegele RG. PCR detection of viral nucleic acid in fatal asthma: is the lower respiratory tract a reservoir for common viruses? *Can Respir J* 1999 Jan;6(1):37-43.

- (16) Gentry SR, Schneider SM, Howton J. Acute Asthma in adults. in: Schwartz GR. ed. Principles and practice of emergency of medicine. 4<sup>o</sup> ed. Baltimore: 1999.
- (17) Openshaw PJ, Lemanske R. Respiratory viruses and asthma: can the effects be prevented. *Eur Respir J* 1998;12:27-35s.
- (18) Tuffaha A, Gern JE, Lemanske RF, Jr. The role of respiratory viruses in acute and chronic asthma. *Clin Chest Med* 2000 Jun;21(2):289-300.
- (19) Huhti E, Mokka T, Nikoskelainen J, Halonen P. Association of viral and mycoplasma infections with exacerbations of asthma. *Ann Allergy* 1974 Sep;33(3):145-9.
- (20) Sokhandan M, McFadden ER, Jr., Huang YT, Mazanec MB. The contribution of respiratory viruses to severe exacerbations of asthma in adults. *Chest* 1995 Jun;107(6):1570-4.
- (21) Madey CR, Peiris JSM. Methods in virus diagnosis: immunofluorescence revised. *Journal of clinical virology* 2002 Mar 24;25:121-34.
- (22) Atmar RL, Guy E, Guntupalli KK, Zimmerman JL, Bandi VD, Baxter BD, et al. Respiratory tract viral infections in inner-city asthmatic adults. *Arch Intern Med* 1998 Dec 7;158(22):2453-9.
- (23) Green RM, Custovic A, Sanderson G, Hunter J, Johnston SL, Woodcock A. Synergism between allergens and viruses and risk of hospital admission with asthma: case-control study. *BMJ* 2002 Mar 30;324(7340):763.
- (24) Simpson JL, Moric I, Wark PA, Johnston SL, Gibson PG. Use of induced sputum for the diagnosis of influenza and infections in asthma: a comparison of diagnostic techniques. *J Clin Virol* 2003 Apr;26(3):339-46.



- (25) Corne JM, Marshall C, Smith S, Schreiber J, Sanderson G, Holgate ST, et al. Frequency, severity, and duration of rhinovirus infections in asthmatic and non-asthmatic individuals: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2002 Mar 9;359(9309):831-4.
- (26) Osur SL. Viral Respiratory infections in association with asthma and sinusitis: a review. *\* 2005;89:553-60.
- (27) Papadopoulos NG, Johnston SL. Viruses and asthma exacerbations. *Thorax* 1998 Nov;53(11):913-4.
- (28) Hulley SB, Cummings SR, Browner WS GD, Hearst N, Newman TB. Escolhendo os sujeitos do estudo: especificações, amostragem e recrutamento. Em *Delineando a Pesquisa Clínica. Uma abordagem epidemiológica*. In: Artmed Editora S.A. 2e2PP, editor. 2006.

TABELA 1

Características Gerais de pacientes atendidos por asma aguda no Serviço de Emergência do HCPA

Variável	Total (n = 111)	Vírus positivo (n = 15)	Vírus negativo (n = 96)	RP RP (IC95%)	p
Sexo, n (% sim)					0,999
Masculino	21 (18,9)	3 (20,0)	18 (18,8)	1,07 (0,33-0,46)	
Feminino	90 (81,1)	12 (80,0)	78 (81,3)	-	
Idade (anos), média ± DP	45,1 ± 20,3	48,8 ± 16,8	45,0 ± 20,8	1,01(0,99-1,03)	0,507
Cor n, (% sim)					0,479
Branca	57(63,3)	6 (50,0)	51(65,4)	0,58 (0,20-0,65)	
Não-branca	33 (36,7)	6 (50,0)	27 (34,6)	-	
Estado civil, n (% sim)					0,999
Solteiro	65 (60,7)	9 (64,3)	56 (60,2)	1,16 (1,42-0,23)	
Casado	42 (39,3)	5 (35,7)	37 (39,8)	-	
IMC, média ± DP	22,5±5,9	27,9±3,87	24,7±6,1	1,09(1,02-1,16)	0,071

n = número de casos, RP = razão de prevalência, IC = intervalo de confiança de 95%, DP = desvio padrão e IMC = índice de massa corporal.

Teste do qui-quadrado para variáveis categóricas, teste t para amostras independentes para as variáveis quantitativas e razão de prevalência com intervalo de 95% para a força de associação com a identificação viral positiva.

TABELA 2

Dados da história pregressa de pacientes atendidos por asma aguda no Serviço de Emergência do HCPA

Variável	Vírus positivo (n = 15)	Vírus negativo (n = 96)	RP (IC 95%)	P
Idade do diagnóstico (anos), mediana (II)	14 (2;27)	14 (3;39)	0,99(0,97-1,02)	0,793
Visitas prévias à emergência, n (% sim)	12 (80,0)	85 (88,5)	0,58(0,19-1,80)	0,611
Visitas nos últimos 30 dias, mediana (II)	1(1;2)	1(1;1)	1,26(0,87-1,84)	0,242
Visitas no último ano, mediana (II)	2(1;7)	3 (1;5,3)	1,03(0,93-1,14)	0,784
Hospitalização no último ano, n (% sim)	3(20,0)	35(36,5)	0,48 (0,14-1,60)	0,339
Nº de hospitalizações no último ano, mediana (II)	2 (1;7)	1 (1;2)	1,40(0,74-2,65)	0,773
Internação em UTI, n (% sim)	3 (20,0)	22(22,9)	0,86 (0,26-2,81)	0,999
Nº de internações em UTI, mediana (II)	1 (1;1)	1(1;2)	0,41(0,18-0,93)	0,442
Intubação prévia, n (% sim)	2(13,3)	16(16,7)	0,80(0,20-3,23)	0,999
Nº de intubações, mediana (II)	1 (1;1)	1 (1;1)	2,44(3,36-1,76)	0,634
História de tabagismo, n (% sim)	8(53,3)	35 (36,5)	1,81(0,71-0 ,63)	0,336
Maços-ano, mediana (II)	2(1,1;24,3)	17,8(5;29,3)	0,99(0,94-1,03)	0,248
Fumante atual, n (% sim)	2(13,3)	4(4,2)	2,70 (0,78-9,3)	0,397
Tabagismo passivo, n (% sim)	5(33,3)	49(51,0)	0,53 (0,19-0,45)	0,318

n = número de casos, UTI = unidade de tratamento intensivo, RP = razão de prevalência e IC = intervalo de confiança de 95%.

Teste U de Mann-Whitney para as variáveis quantitativas, teste do qui-quadrado para as variáveis categóricas e razão de prevalência com intervalo de confiança de 95% para a força de associação com a identificação viral positiva.

TABELA 3

Medicamentos usados por pacientes atendidos por asma aguda no Serviço de Emergência do HCPA

Variável	Vírus positivo (n = 15)	Vírus negativo (n = 96)	RP (IC95%)	p
Corticóide VO no último mês, n (% sim)	9(60,0)	48(50,0)	1,42 (0,54 – 3,73)	0,658
Corticóide inalatório, n (% sim)	7(46,7)	45(46,9)	0,99 (0,39 – 2,55)	0,999
Beta <sub>2</sub> -longa ação inalatório, n (% sim)	4(26,7)	37(38,5)	0,62 (0,21 – 1,82)	0,549
Xantina oral, n (% sim)	3(20,0)	13(13,5)	1,48 (0,47 – 4,68)	0,789
Beta <sub>2</sub> -curta ação inalatório, n (% sim)	11(73,3)	70(72,9)	1,02 (0,35 – 2,95)	0,999
Ipratrópio inalatório, n (% sim)	5(33,3)	41(42,7)	0,71 (0,26 – 1,93)	0,686
Uso de nebulização, n (% sim)	9(60,0)	77(80,2)	0,44(0,17 – 1,11)	0,159

VO = via oral, RP = Razão de prevalência para a identificação viral positiva; IC 95% = intervalo de confiança de 95%.

Teste do qui-quadrado para as variáveis categóricas e razão de prevalência com intervalo de confiança de 95% para a força de associação com a identificação viral positiva.

TABELA 4

Dados da crise atual de pacientes atendidos por asma aguda no Serviço de Emergência do HCPA

Variável	Vírus positivo (n = 15)	Vírus negativo (n = 96)	RP (IC 95%)	p
Duração da crise (horas), mediana	12 (6;36)	12 (3,3;24)	1,00(0,98-1,00)	0,742
(II)				
Identificação do fator				
Desencadeante, n (% sim)				
Infecção	8 (53,3)	38 (39,6)	1,62 (0,63 – 4,14)	0,469
Alérgenos	3 (20,0)	28 (29,2)	0,65 (0,20 – 2,13)	0,670
Exercício	2 (13,3)	13 (13,5)	0,98 (0,25 – 3,94)	0,999
Mudança climática	5 (33,3)	35 (36,5)	0,89 (0,33 – 2,42)	0,999
Crise em uso de corticóide	5 (33,3)	41 (42,7)	0,70 (0,26 – 1,93)	0,686
Sistêmico, n (% sim)				
Sintomas, n (% sim)				
Cefaléia	12 (80,0)	69( 71,9)	1,48 (0,45 – 4,89)	0,729
Coriza	10 (66,7)	60 (62,5)	1,17 (0,43 – 3,19)	0,981
Congestão nasal	10 (66,7)	58 (60,4)	1,27 (0,46 – 3,45)	0,859
Dor de garganta	7(46,7)	31(32,3)	1,68 (0,66 – 4,28)	0,425
Otalgia	4 (26,7)	23 (24)	1,30 (0,39 – 3,26)	0,999
Disfonia	8 (53,3)	44 (45,8)	1,35 (0,50 – 3,33)	0,792
Mialgia	11(73,3)	66 (68,8)	1,21 (0,42 – 3,54)	0,955
Tosse	15 (100,0)	84 (87,5)	0,85 (0,78-0,93)	0,316
Expectoração	11(73,3)	72 (75)	0,93 (0,32 – 2,68)	0,999
Febre no domicílio	10 (66,7)	26 (27,1)	4,17 (1,54 – 11,3)	0,006

Sintomas gripais na	6 (40,0)	52 (54,2)	0,61 (0,23 – 1,60)	0,457
Família, n (% sim)				
Sinais				
Temp. axilar $\geq 37,8^{\circ}\text{C}$ ,	4 (26,7)	9 (9,4)	2,71 (1,01 – 7,3)	0,077
n (%sim)				
FC (bpm)	113 (98;119)	108 (96;21)	1,01(0,97-1,03)	0,860
FR (mrpm)	26 (24;31)	26 (22;28)	1,01(0,94-1,09)	0,624
Sibilância, n (% sim)	14 (93,3)	84 (87,5)	1,85 (0,26 –13,0)	0,825
Crepitantes, n (% sim)	2 (13,3)	16 (16,7)	0,80 (0,20 – 3,23)	0,999
Roncos, n (% sim)	4 (27,0)	21(22,0)	1,25 (0,44 –3,60)	0,936
SpO <sub>2</sub> (%), mediana (II)	98 (96;98)	96 (94;98,3)	1.12(0,97-1,28)	0,287

RP = razão da prevalência para a identificação viral positiva, IC 95% = intervalo de confiança de 95%, FC = frequência cardíaca, bpm = batimentos por minuto, FR = frequência respiratória, mrpm = movimentos respiratórios por minuto e SpO<sub>2</sub> = saturação de oxigênio medida pela oximetria de pulso digital.

Teste t para amostras independentes ou teste U de Mann-Whitney para as variáveis quantitativas, teste do qui-quadrado para as variáveis categóricas e razão de prevalência com intervalo de confiança de 95% para a força de associação com a identificação viral positiva.

TABELA 5

Desfechos da Crise de pacientes atendidos por asma aguda no Serviço de Emergência do HCPA

Desfechos	Vírus positivo (n = 15)	Vírus negativo (n = 96)	RP (IC 95%)	P
Alta da emergência, n (% sim)	9 (60,0)	72 (75,0)	0,94 (0,22 – 4,0)	0,999
Internação hospitalar, n (%sim)	2 (13,3)	15 (15,63)	-	
Permanência na emergência em h, média ± DP	16,7±6,05	14,1±2,02	-	0,665

RP = razão da prevalência para a identificação viral positiva, IC = intervalo de confiança de 95% e DP = desvio padrão.

Teste do qui-quadrado para variáveis categóricas, razão de prevalência com intervalo de confiança de 95% para a força de associação com a identificação viral positiva, teste t para amostras independentes ou teste U de Mann-Whitney para as variáveis quantitativas.



TABELA 6

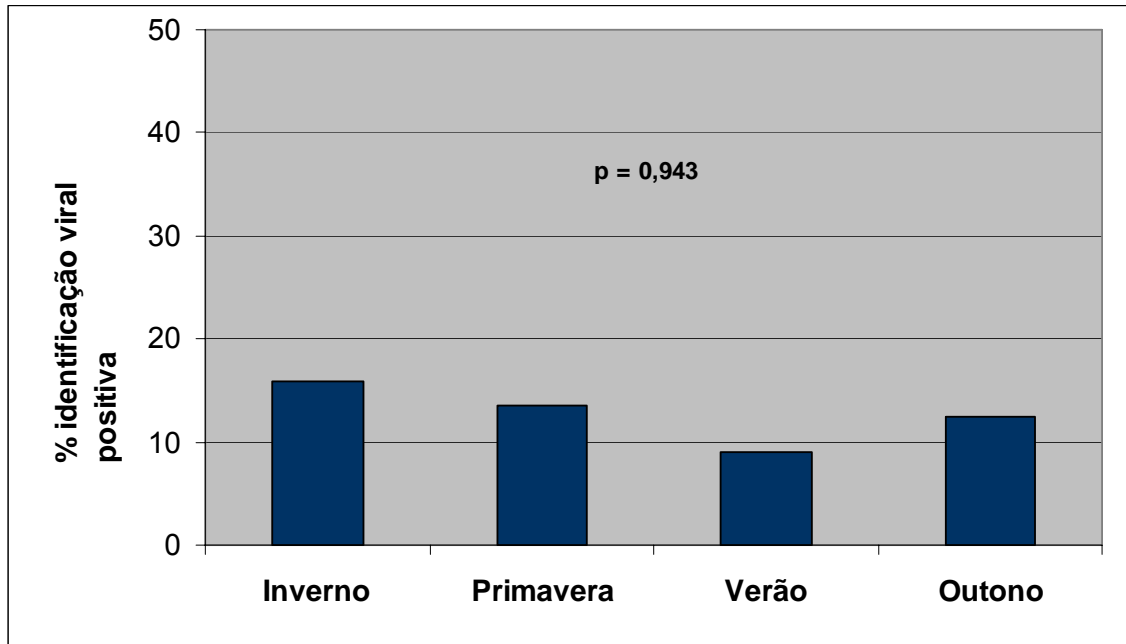
Análise de regressão logística de pacientes atendidos por asma aguda no Serviço de Emergência do HCPA

Variáveis independentes	OR (CI 95%)	P
IMC	1.08 (1.02;1.14)	0.01
Febre no domicílio	3.06 (1.09;8.58)	0.03

RP = razão de prevalência, IC = intervalo de confiança de 95%, IMC = índice de massa corporal.

Análise de regressão logística múltipla de Poisson, utilizando como variável dependente a identificação viral positiva.

### Sazonalidade



**Figura 1** – Prevalência da identificação de vírus respiratório na asma aguda atendida no setor de adultos da sala de emergência em relação à estação do ano.

**7 ANEXOS**



11. Uso regular de xantina via oral:

( ) não; ( ) sim.

12. Uso de beta<sub>2</sub> agonista inalatório de curta duração: ( ) não; ( ) sim.

13. Uso de brometo de ipratrópio inalatório: ( ) não; ( ) sim.

12. Uso de nebulizador no domicílio: ( ) não; ( ) sim.

13. Doença coexistente: ( ) não; ( ) sim, pulmonar \_\_\_\_\_

cardiovascular \_\_\_\_\_

neurológica \_\_\_\_\_

hepática \_\_\_\_\_

psiquiátrica \_\_\_\_\_

outra \_\_\_\_\_

14. Tabagismo: ( ) não; ( ) sim, dos \_\_\_\_\_ aos \_\_\_\_\_ anos, \_\_\_\_\_ cigarros/dia.

15. Fumante atual: ( ) não; ( ) sim.

16. Tabagismo passivo (domiciliar): ( ) não; ( ) sim.

### III. Dados da crise atual:

1. Estimativa da duração da crise até o atendimento na emergência: \_\_\_\_\_ horas.

2. O paciente identifica alguns fatores desencadeantes da crise?

( ) não ; ( ) sim. ( ) infecção (caracteriza gripe, resfriado ou sinusite);

( ) alérgenos inalatórios. Qual? \_\_\_\_\_;

( ) exercício;

( ) mudança climática.

3. Crise em vigência de corticoterapia sistêmica: ( ) não; ( ) sim.

4. Temperatura axilar na admissão: \_\_\_\_\_ °C

5: FC na admissão: \_\_\_\_\_ bpm

- 6: FR na admissão: \_\_\_\_\_ mrpm
7. PFE na admissão da emergência: \_\_\_\_\_ l/min; \_\_\_\_\_ % do previsto
8. Saturação da oxiemoglobina (em ar ambiente) na admissão da emergência: \_\_\_\_\_ %
9. Dor de cabeça: ( ) sim; ( ) não.
10. Coriza: ( ) sim; ( ) não.
11. Congestão/obstrução nasal: ( ) sim; ( ) não.
12. Dor de garganta: ( ) sim; ( ) não.
13. Dor de ouvido: ( ) sim; não.
14. Disfonia (rouquidão): ( ) sim; ( ) não.
15. Mialgia: ( ) sim; ( ) não.
16. Tosse: ( ) sim; ( ) não.
17. Expectoração: ( ) sim; ( ) não.
18. Febre (temperatura axilar  $\geq 38^{\circ}$  C) no domicílio - considerar desde o início da crise:  
( ) sim; ( ) não.
19. Febre (temperatura axilar  $\geq 38^{\circ}$  C) observada em algum momento na emergência:  
( ) sim; ( ) não
20. Ausculta pulmonar no momento da avaliação pelo membro da pesquisa:  
sibilância: ( ) sim; ( ) não;  
crepitanes: ( ) sim; ( ) não;  
roncos: ( ) sim; ( ) não.
21. Realizou Rx de tórax na emergência? ( ) sim; ( ) não.
22. Se realizou Rx de tórax: ( ) não; ( ) sim.  
( ) consolidação; ( ) infiltrado focal; ( ) infiltrado difuso; ( ) espessamento de paredes brônquicas.
23. Algum familiar ou membro de seu domicílio teve sintomas de resfriado ou gripe (coriza, congestão/obstrução nasal, dor de garganta, rouquidão, tosse, expectoração, febre) nas últimas 2 semanas. ( ) sim; ( ) não.

**IV. Desfecho da crise:**

( ) alta da emergência; ( ) internação em enfermaria; ( ) internação em UTI; ( ) óbito.

Tempo de permanência (horas) na emergência: \_\_\_\_\_

**(Anexo 2)**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**ESTUDO DE PREVALÊNCIA DE VÍRUS RESPIRATÓRIO EM PACIENTES COM ASMA  
AGUDA GRAVE**

A asma é uma das doenças mais freqüentes em qualquer faixa etária, sendo que sua prevalência, em diversas séries epidemiológicas, varia de 5% a 10%. Está também entre as mais importantes causas de utilização de recursos de saúde, seja em ambulatório ou em consultórios médicos privados, seja em hospitais, serviços de emergência e, até mesmo, em unidades de tratamento intensivo.

Este é um trabalho de pesquisa para identificar se algum tipo de vírus respiratório é responsável pela sua crise de asma. Este estudo estabelecerá a incidência dos vírus respiratórios como fator desencadeante da crise asmática nos pacientes atendidos no setor de adultos do Serviço de Emergência do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, servindo para o controle da infecção viral em nível hospitalar.

Para o exame será colhida secreção nasofaríngea. Uma sonda é inserida através da narina até atingir a região da nasofaríngea, quando então uma sucção é aplicada aspirando o muco para o interior de um equipo. Este procedimento será realizada por profissional habilitado. O risco para o paciente é mínimo, podendo apenas ter um desconforto momentâneo, ocorrendo coriza, espirro e prurido.

A coleta será realizada com o seu consentimento e o material colhido será levado ao laboratório e somente utilizado para fins deste estudo. Será vetado o uso dessa secreção para outras finalidades. Seu nome e dados não serão divulgados, assegurando-se a sua privacidade. Mesmo aceitando participar desse estudo, você poderá retirar seu consentimento a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo para o seu tratamento.



O presente consentimento atende às Diretrizes e Normas Regulamentadoras para a Pesquisa em Saúde, do Conselho Nacional de Saúde (Resolução 196/96), será assinado em duas vias, de igual teor, ficando uma via em poder do paciente ou de seu representante legal e outra com o pesquisador responsável.

**Prof. Dr. Sérgio Saldanha Menna Barreto (fone 3316 8241) - Hospital de Clínicas de Porto Alegre** é o pesquisador responsável por esta pesquisa.

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome do Paciente ou Voluntário: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Nome do Responsável Legal, quando for o caso: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)