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

FERNANDA LUISI

**Ensaio clínico controlado e randomizado para avaliação
da eficácia da azitromicina no tratamento da
bronquiolite aguda**

**PORTO ALEGRE
2012**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA / PEDIATRIA E
SAÚDE DA CRIANÇA
DOUTORADO EM SAÚDE DA CRIANÇA

**Ensaio clínico controlado e randomizado para avaliação da eficácia da
azitromicina no tratamento da bronquiolite aguda**

Fernanda Luisi

fernandaluisi@yahoo.com.br

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de
Medicina da PUCRS para obtenção do título de
Doutor em Saúde da Criança.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo A. Pinto

Porto Alegre

2012

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

L953e Luisi, Fernanda
Ensaio clínico controlado e randomizado para avaliação da eficácia da azitromicina no tratamento da bronquiolite aguda / Fernanda Luisi.. Porto Alegre: PUCRS, 2012.

88f.: il. tab. Inclui um artigo de periódico submetido à publicação.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Araújo Pinto.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança. Doutorado em Pediatria e Saúde da Criança. Área de Concentração: Pneumologia Pediátrica.

1. BRONQUIOLITE VIRAL/tratamento. 2. AZITROMICINA/uso terapêutico. 3. RESULTADO DE TRATAMENTO. 4. LACTENTE. 5. CRIANÇA HOSPITALIZADA. 6. HOSPITAIS UNIVERSITÁRIOS. 7. MACROLÍDIOS. 8. RESISTÊNCIA MICROBIANA A MEDICAMENTOS. 9. ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO ALEATÓRIO. 10. MÉTODO DUPLO-CEGO. 11. PLACEBOS. I. Pinto, Leonardo Araújo. II. Título.

C.D.D. 616.23
C.D.U. 616.233-053.31:615.33(043.2)
N.L.M. WC 505

Rosária Maria Lúcia Prenna Geremia
Bibliotecária CRB 10/196

DOUTORANDA: Fernanda Luisi

ENDEREÇO: Avenida Ipiranga, 6690, 2º andar, Instituto de Pesquisas Biomédicas.

CEP 90.610-000 - Porto Alegre - RS

E-mail: fernandaluisi@yahoo.com.br

TELEFONE: (51) 9157-7425 / (51) 9895-9531

CREFITO-5: 64.427-F

ÓRGÃO FINANCIADOR: PUCRS

CONFLITO DE INTERESSES: NENHUM

“Cada um tem de mim exatamente o que cativou, e cada um é responsável pelo que cativou, não suporto falsidade e mentira, a verdade pode machucar, mas é sempre mais digna. Bom mesmo é ir a luta com determinação, abraçar a vida e viver com intensidade. Perder com classe e vencer com ousadia, pois o triunfo pertence a quem mais se atreve e a vida é muito para ser insignificante. Eu faço e abuso da felicidade e não desisto dos meus sonhos. O mundo está nas mãos daqueles que tem coragem de sonhar e correr o risco de viver seus sonhos.”

Charles Chaplin

Dedicatória

*Às pessoas mais importantes da minha vida, meus queridos pais,
Laura e Gilberto, que nunca mediram esforços para a minha
formação, obrigada pelo amor, incentivo e apoio sempre.*

Agradecimento Especial

Ao meu querido orientador, Professor Doutor **Leonardo Araújo Pinto**, exemplo de pesquisador, agradeço pela amizade, confiança, oportunidade e inestimável dedicação.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor **Renato Tetelbom Stein**, por sua confiança em meu trabalho, dedicação incondicional, paciência, por sua generosidade, preciosos para a realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor **Paulo Márcio Condessa Pitrez** por sua valorosa motivação, atenção cuidadosa e inestimável empenho e disponibilidade para realização deste trabalho.

À **PUCRS (PROBOLSAS)** pela disponibilização de bolsa de pesquisa.

Ao **Serviço de Pneumologia Pediátrica da PUCRS**, onde tive a oportunidade e o privilégio de trabalhar com uma equipe de profissionais competentes e de conhecer pessoas maravilhosas, das quais recebi permanentes estímulos durante toda essa caminhada.

Às minhas queridas colegas **Dionéia A.H. Sparremberguer** e **Sandra Coutinho** com os quais compartilhei alegrias, dúvidas e incertezas, pela preciosa ajuda no decorrer deste trabalho, além de inesquecíveis momentos de amizade.

Aos alunos de iniciação científica: **Adriana V. Azevedo, Ana Elisa T. Ribeiro, Anastácia F. W. Wiemann, Amanda Reinstein, Arthur D. Daudt, Bruna F. de Conto, Bruna Z. Munhoz, Elisa F. M. Moraes, Fernanda Kliemann, Gabriela A. Bergmann, Gabriela Gomes, João Pedro Z. Sanvitto, Juliana Peres, Laura C. Maróstica, Laura Refosco, Letícia S. Valiati, Luís Fernando Spinelli, Luís Alberto O. Sussela, Marcela R. Nunes, Rebeca Regert, Sílvia L. Lardi e Thays D. Gandolfi,**

pelo importante apoio no andamento da pesquisa e disponibilidade, pelo trabalho cuidadoso e competente no decorrer deste trabalho.

À todos os **integrantes das equipes médicas** (médicos plantonistas, residentes, enfermeiras e técnicas de enfermagem) das unidades pediátricas do HSL-PUCRS pelo auxílio nas coletas do trabalho, pela boa vontade e tranqüilidade com que me ajudaram na execução deste estudo e pelo constante apoio e trabalho conjunto.

Aos **pacientes e seus familiares**, pela sua imprescindível colaboração e participação.

À secretária da Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança - PUCRS, **Carla Rothmann**, pela sua pronta cooperação, dedicação e amizade durante todo o curso na facilitação desta caminhada e pela formatação do trabalho;

A todos os doutores, professores e integrantes do **Instituto de Pesquisas Biomédicas** e aos **professores** do curso de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança - PUCRS, pelo conhecimento e auxílio concedidos;

RESUMO

Introdução: A bronquiolite viral aguda (BVA) é a principal causa de hospitalização em crianças durante o primeiro ano de vida. Diversos estudos têm demonstrado os efeitos imunomoduladores dos macrolídeos. Porém, poucos estudos, utilizando amostras pequenas, testaram a eficácia destes antibióticos em lactentes com BVA. Neste estudo testamos a hipótese de que o tratamento com azitromicina reduz o tempo de internação hospitalar e o tempo de uso de oxigenoterapia nas crianças internadas com BVA.

Métodos: Foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Participaram do estudo lactentes com até 12 meses de idade e que foram internados em um hospital universitário com diagnóstico clínico de BVA (primeiro episódio de sibilância). Estes foram randomizados para receber azitromicina oral (10 mg/kg/dia) ou placebo administrado em dose única diária por 7 dias. Foi aplicado um questionário para coleta de dados clínicos e uma amostra de secreção nasal para identificação viral. Foram registrados o tempo de necessidade de uso de oxigenoterapia (TO₂) e o tempo de internação hospitalar (TIH).

Resultados: Foram incluídos no estudo 105 lactentes com média de idade de 3,4 meses (dp±2,6) (50 no grupo intervenção e 55 no grupo placebo) entre os anos de 2009 a 2011. Os grupos foram comparados com relação às características clínicas e dados de virologia. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos com relação TIH (5,42 ± 2,96 dias [azitromicina] *versus* 6,54 ± 3,56 [placebo]; *p*=0,200) nem com relação ao TO₂. Das amostras coletadas, 62/101 (61,38%) dos pacientes apresentaram positividade para vírus respiratórios ao exame de imunofluorescência e 57 (56,4%) destes para vírus sincicial respiratório (VSR).

Conclusões: Este foi o primeiro ensaio clínico que avaliou a eficácia de um macrolídeo em uma amostra representativa (N=105) de lactentes hospitalizados com BVA. O tratamento com azitromicina não melhora o tempo de internação hospitalar de lactentes com primeiro episódio de sibilância. Nossos achados contribuem para que haja uma redução do uso abusivo de antibióticos, a fim de se evitar o aumento da resistência a estes medicamentos. Ainda sim, não é possível descartar possíveis efeitos benéficos de diferentes classes de macrolídeos, ou mesmo uma associação positiva com diferentes fenótipos/genótipos de sibilância.

Palavras-chaves: Bronquiolite Aguda, macrolídeos, vírus respiratórios, VSR.

ABSTRACT

Rationale: Acute viral bronchiolitis is a leading cause of hospitalization in the first year of life. Several studies have shown that macrolides have immune modulating properties, but only a few and underpowered trials have tested the efficacy of these antibiotics in infants with acute bronchiolitis. In this study we tested the hypothesis that azithromycin reduces the length of hospitalization and oxygen requirement in infants with acute bronchiolitis.

Methods: We performed a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Infants aged less than 12 months were admitted to one university hospital with a clinical diagnosis of acute bronchiolitis (first wheezing episode). They were randomized to receive either oral azithromycin (10 mg/kg/day) or placebo administered once daily for seven days. Clinical data were recorded and nasopharyngeal samples for viral identification were collected at enrollment. Main outcomes were length of oxygen requirement and duration of hospitalization.

Results: The study included 105 infants with a mean age of 3.4 months (sd \pm 2.6) (50 in the intervention, and 55 in the placebo groups) from 2009 to 2011. Patients were comparable with respect to baseline clinical characteristics and viral identification. There were neither differences between the two groups regarding duration of hospitalization (5.42 ± 2.96 [azithromycin] vs 6.54 ± 3.56 [placebo] days; $p=0.200$), nor for oxygen requirement. 62/101 (61.38%) patients had positive viral immunofluorescence and 57 (56.4%) were due to respiratory syncytial virus (RSV).

Conclusions: This is the first trial to test the efficacy of macrolides on acute viral bronchiolitis in a large sample of hospitalized infants. Routine treatment with azithromycin does not improve length of hospitalization in infants with the first episode of wheezing. This finding may potentially reduce antibiotic overuse that carries along the risk for increasing overall antibiotic resistance. Still, one cannot rule out possible beneficial effects of different classes of macrolides, or even a positive association to specific wheeze phenotypes/genotypes.

Keywords: Acute Bronchiolitis, macrolides, respiratory virus, RSV.

LISTA DE FIGURA

FIGURA 1- FLUXOGRAMA DA RANDOMIZAÇÃO	60
--	----



LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES RANDOMIZADOS PARA O TRATAMENTO COM AZITROMICINA OU PLACEBO (N=105).	61
TABELA 2- DETECÇÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS NOS PACIENTES RANDOMIZADOS PARA O TRATAMENTO COM AZITROMICINA OU PLACEBO (N=101)*	62
TABELA 3- DESFECHOS PRINCIPAIS ENTRE OS PACIENTES RANDOMIZADOS PARA O TRATAMENTO COM AZITROMICINA OU PLACEBO (N=104).	63
TABELA 4- DESFECHOS PRINCIPAIS ENTRE OS PACIENTES RANDOMIZADOS PARA O TRATAMENTO COM AZITROMICINA OU PLACEBO - ANÁLISE EM SUBGRUPOS (N=104)	64

LISTA DE ABREVIATURAS

BD	Broncodilatador
BO	Bronquiolite Obliterante
BVA	Bronquiolite Viral Aguda
dp	Desvio padrão
FC	Fibroce Cística
Kg	Kilograma
mg	Miligramas
N	Tamanho da amostra
<i>p</i>	Significância estatística
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i> – Pacote estatístico para as ciências sociais
SUS	Sistema único de saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TIH	Tempo de Internação Hospitalar
TO₂	Tempo de uso de Oxigenoterapia
VSR	Vírus Sincicial Respiratório
%	Porcentagem
>	Maior
≥	Maior e/ou igual
<	Menor
≤	Menor e/ou igual
±	Mais ou menos

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO	16
1.2 JUSTIFICATIVA	20
1.3 OBJETIVOS	21
1.3.1 Objetivo Geral	21
1.3.2 Objetivos Específicos	21
1.4 REFERÊNCIAS	22

CAPÍTULO II

2 ARTIGO DE REVISÃO	25
---------------------------	----

CAPÍTULO III

3 ARTIGO ORIGINAL	46
-------------------------	----

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES	68
------------------	----

ANEXOS

ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	70
ANEXO 2 - PROTOCOLO DA PESQUISA:	73
ANEXO 3 - ARTIGO PUBLICADO COM DADOS PARCIAS RELACIONADOS A COLETA DE DADOS DESTA TESE	80

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

A bronquiolite viral aguda (BVA) é uma doença inflamatória aguda do trato respiratório inferior, resultando em obstrução das vias aéreas de pequeno calibre (bronquíolos). É considerado o primeiro episódio de sibilância aguda do lactente, acometendo as crianças durante os primeiros 2 anos de vida, com um pico de incidência entre os 2 e 6 meses de idade.¹⁻²

Ela é iniciada por infecção das vias aéreas superiores por algum vírus sazonal, sendo o mais comum (50 a 90% dos casos) o vírus sincicial respiratório (VSR). Outros agentes associados à síndrome clínica da BVA são: adenovírus (observado em casos de maior gravidade), rinovírus, parainfluenza tipos 1, 2 e 3, influenza, metapneumovírus, vírus da caxumba e, ocasionalmente o *Mycoplasma pneumoniae*. O parainfluenza ocorre mais no final do inverno e início da primavera.¹⁻⁵

A maioria das infecções pelo VSR tem um curso leve, porém, de 0,5 a 2% desenvolve quadro grave necessitando de hospitalização.² É uma doença, geralmente, benigna e autolimitada, porém, produz significativa morbidade em lactentes pequenos e pacientes portadores de doença crônica, e, com frequência, causam sintomatologias ventilatórias em longo prazo.⁶

Bronquiolite é a causa mais comum de hospitalizações pediátricas durante os meses de outono e inverno, e desde 1980, a prevalência de hospitalizações de crianças com BVA aumentou mais de 20%.¹ As epidemias são anuais e os surtos epidêmicos se estendem por aproximadamente 5 meses. No Rio Grande do Sul, o estudo de Fischer e colaboradores avaliou a prevalência das infecções respiratórias virais de vias aéreas inferiores na infância.⁷ A avaliação da incidência e da prevalência e o estudo da epidemiologia viral, bem como o reconhecimento dos fatores de risco para doença são importantes para o melhor entendimento da situação clínica dos pacientes com BVA.

O manejo da BVA é basicamente de suporte, com oxigenoterapia, hidratação e suporte ventilatório nos casos mais graves.² Apesar de existirem diversos estudos a respeito de novas terapias, nenhum ensaio clínico demonstrou intervenções com impacto relevante na BVA.²

Os macrolídeos são fármacos com efeitos antibióticos consagrados especialmente para patógenos intracelulares (*Mycoplasma pneumoniae* e *Chlamydia pneumoniae*).⁸ Agem inibindo a síntese protéica e inibindo o crescimento bacteriano do ribossomo celular, fazendo com que proteínas vitais deixem de ser sintetizadas, causando a morte do patógeno. Este grupo de antimicrobianos atinge alta concentração no interior das células inflamatórias, o que permite a liberação da droga no local da inflamação induzida por macrófagos. Dentre os macrolídeos, a azitromicina é que possui maior tempo de permanência no meio intracelular.⁹⁻¹⁰

Alguns estudos apontaram que independente de sua atividade antimicrobiana potente, os antibióticos (ATB) macrolídeos apresentam propriedades antiinflamatórias e antivirais.¹¹⁻¹⁵ Dentre seus efeitos mais relevantes estão a inibição da síntese e/ou

secreção de citocinas pró-inflamatórias; efeitos nos neutrófilos através da inibição da migração (quimiotaxia) para os sítios de inflamação, inibindo a apoptose, fagocitose e adesão. Os macrolídeos parecem inibir a degranulação dos leucócitos, reduzir a inflamação eosinofílica; e ainda aumentam o transporte mucociliar, diminuindo a produção de muco *in vivo* e *in vitro*. Além disso, também podem provocar a redução da secreção das células caliciformes; redução da broncoconstrição através da diminuição da liberação da endotelina-1 e inibição de respostas colinérgicas do músculo liso das vias aéreas.^{10, 16-17}

Estudos têm utilizado essa classe de medicamento como droga de ação imunomoduladora, com finalidades antiinflamatórias em várias doenças respiratórias, porém seu uso nestas situações ainda é relativamente recente.^{15,18-19}

No **Capítulo I** desta tese, será apresentado o tema da pesquisa com uma breve introdução, justificativa, objetivos e as referências sobre o tema proposto para a realização deste trabalho.

No **Capítulo II**, será apresentado um artigo de revisão que versará sobre o tema: ***O efeito antiinflamatório dos antibióticos macrolídeos nas doenças respiratórias.*** Neste artigo, foram revisados os dados da literatura médica internacional sobre os efeitos antiinflamatórios dos antibióticos macrolídeos nas doenças respiratórias crônicas. Muitos estudos comprovaram o efeito antiinflamatório dos macrolídeos nas doenças respiratórias. Destes, alguns ensaios clínicos demonstraram benefícios na administração de macrolídeos em pacientes com fibrose cística. Em outras doenças respiratórias os benefícios são controversos e o uso rotineiro não está indicado. Logo, concluímos que são necessários mais estudos clínicos randomizados e controlados,

para que se possam definir os benefícios dos ATB macrolídeos no tratamento das doenças respiratórias.

No **Capítulo III**, será apresentado um artigo original que versará sobre o tema da pesquisa, intitulado: ***Ensaio clínico controlado e randomizado para avaliação da eficácia da azitromicina no tratamento da bronquiolite aguda***. Neste estudo testamos a hipótese de que o tratamento com azitromicina reduz o tempo de internação hospitalar e o tempo de uso de oxigenoterapia nas crianças internadas com bronquiolite viral aguda. Foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Participaram deste estudo, lactentes com até 12 meses de idade que foram internados com diagnóstico clínico de BVA (primeiro episódio de sibilância). Foram incluídos no estudo 105 lactentes com média de idade de 3,4 meses ($dp \pm 2,6$) (50 no grupo intervenção [azitromicina] e 55 no grupo placebo) entre os anos de 2009 a 2011. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos com relação ao tempo de internação hospitalar (TIH) nem ao tempo de uso de oxigenoterapia (TO_2). Das amostras coletadas, a maioria dos pacientes apresentou positividade para vírus respiratórios, sendo o VSR o mais prevalente. Concluímos que o tratamento com azitromicina não melhora o tempo de internação de lactentes com primeiro episódio de sibilância e que os nossos achados contribuem para que haja uma redução do uso abusivo de antibióticos, a fim de se evitar o aumento da resistência a estes medicamentos.

No **Capítulo IV**, serão apresentadas as conclusões deste estudo.

1.2 JUSTIFICATIVA

Vários estudos demonstraram existir benefício antiinflamatório do uso de macrolídeos em doenças pulmonares crônicas, principalmente na fibrose cística. Tahan *et al*,¹⁵ avaliaram o uso de claritromicina em bronquiolite viral aguda causada por vírus respiratório sincicial, em um ensaio clínico, randomizado, duplo cego, controlado por placebo, no qual os efeitos clínicos e laboratoriais desse macrolídeo em pacientes com bronquiolite causada por vírus respiratório sincicial, foram significativos. O trabalho foi bem elaborado e bem conduzido; entretanto, devido ao pequeno número da amostra de pacientes estudados, não há certeza se os resultados obtidos poderiam ser extrapolados para a nossa população. Com um número tão pequeno de pacientes no estudo, alguns fatores poderiam ter influenciado os resultados, como uma variação sazonal de *Mycoplasma*, por exemplo, que atuaria no braço do estudo pró-macrolídeo. Além disso, tal amostra está muito aquém do número de casos desta doença que internam no HSL-PUCRS durante os meses de inverno.

Dessa forma, este estudo pode ser justificado pelas escassas evidências que comprovem o benefício ao paciente hospitalizado e, por não haver até o momento um tratamento que altere a história natural da BVA. Além disso, como já é conhecido que os macrolídeos apresentam efeitos antiinflamatórios e antivirais, e estes já se mostraram eficazes em outras doenças que cursam com inflamação de vias aéreas, surgiu então o interesse e a necessidade de verificar a resposta desta classe de medicamentos em lactentes com diagnóstico de BVA.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Avaliar a resposta ao tratamento com azitromicina em lactentes internados com bronquiolite aguda.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar a eficácia da azitromicina (antibiótico macrolídeo) na evolução clínica de pacientes internados com BVA com relação ao tempo de internação hospitalar.
 2. Avaliar a eficácia da azitromicina (antibiótico macrolídeo) na evolução clínica de pacientes internados com BVA com relação ao tempo de uso de oxigenoterapia suplementar.
-
-

1.4 REFERÊNCIAS

1. Conway E, Schoettker PJ, Moore A, Britto MT, Kotagal UR, Rich K. Empowering respiratory therapists to take a more active role in delivering quality care for infants with bronchiolitis. *Respir Care*. 2004 Jun;49(6):589-99.
 2. Bronchiolitis SoDaMo. Diagnosis and Management of Bronchiolitis. *Pediatrics*. 2006;118:1774-93.
 3. Everard ML, Milner AD. The respiratory syncytial virus and its role in acute bronchiolitis. *Eur J Pediatr*. 1992 Sep;151(9):638-51.
 4. Fischer GB. In: Rosov T, editor. *Doenças pulmonares em pediatria: diagnóstico e tratamento*. São Paulo. Atheneu; 1999.
 5. Dennis MM. Bronchiolitis. *Arch Dis Child Educ Pract*. 2005;90:ep81-ep6.
 6. Rubin FM. Características clínicas e da saturação transcutânea de oxigênio em lactentes hospitalizados com bronquiolite viral aguda. *J Pediatria (Rio J)*. 2003;79((5)):435-42.
 7. Fischer GB. *Fatores prognósticos para bronquiolite viral aguda*. UFRGS. Porto Alegre: Tese de doutorado; 1994.
 8. Lakos AK, Gasparic M, Kovacic D, Pangercic A, Kukuruzovic MM, Barsic B. Safety and effectiveness of azithromycin in the treatment of respiratory infections in children. *Curr Med Res Opin*. 2011 Dec 1.
 9. Zarogoulidis P PN, Kioumis I, Chatzaki E, Maltezos E, Zarogoulidis K. Macrolides: from in vitro anti-inflammatory and immunomodulatory properties to clinical practice in respiratory diseases. *Eur J Clin Pharmacol*. 2011.
 10. Cazzola M BF, Tarsia P, Zanardelli M, Allegra L. Role of macrolides as immunomodular agents. *Clinical Pulmonary Medicine*. 2006;13(5):274-81.
 11. Culic O, Erakovic V, Parnham MJ. Anti-inflammatory effects of macrolide antibiotics. *Eur J Pharmacol*. 2001 Oct 19;429(1-3):209-29.
 12. Jaffe A, Bush A. Anti-inflammatory effects of macrolides in lung disease. *Pediatr Pulmonol*. 2001 Jun;31(6):464-73.
 13. Gielen V, Johnston SL, Edwards MR. Azithromycin induces anti-viral responses in bronchial epithelial cells. *Eur Respir J*. 2010 Sep;36(3):646-54.
-

-
14. Shinkai M, Rubin BK. Macrolides and airway inflammation in children. *Paediatr Respir Rev.* 2005 Sep;6(3):227-35.
 15. Tahan F, Ozcan A, Koc N. Clarithromycin in the treatment of RSV bronchiolitis: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Eur Respir J.* 2007 Jan;29(1):91-7.
 16. Hodge S, Hodge G, Brozyna S, Jersmann H, Holmes M, Reynolds PN. Azithromycin increases phagocytosis of apoptotic bronchial epithelial cells by alveolar macrophages. *Eur Respir J.* 2006 Sep;28(3):486-95.
 17. Beigelman A, Mikols CL, Gunsten SP, Cannon CL, Brody SL, Walter MJ. Azithromycin attenuates airway inflammation in a mouse model of viral bronchiolitis. *Respir Res.* 2010;11:90.
 18. Kneyber MCJ vWJ, Uijtendaal E, Uiterwaal CSPM, Kimpen JLL. Azithromycin does not improve disease course in hospitalized infants with respiratory syncytial virus (RSV) lower respiratory tract disease: A randomised Equivalence Trial. *Pediatric Pulmonology.* 2008;43:142-9.
 19. Mazumder M HM, Kabir A. Management of bronchiolitis with or without antibiotics - a randomised control trial. *Journal of Bangladesh College of Physicians and Surgeons.* 2009;27:63-9.
-

CAPÍTULO II

Artigo de Revisão

2 ARTIGO DE REVISÃO

PÁGINA DE ROSTO

Efeito antiinflamatório dos antibióticos macrolídeos nas doenças respiratórias

Antiinflammatory effect of macrolides in the respiratory diseases

Fernanda Luisi¹, Thays D. Gandolfi², Arthur D. Daudt², João Pedro Z. Sanvitto²,
Leonardo Araújo Pinto³

¹ Fisioterapeuta. Doutoranda em Saúde da Criança pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

² Acadêmicos do curso de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

³ Professor do Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

Currículo dos autores está disponível na Plataforma Lattes do CNPq.

Fonte financiadora: PUCRS.

Total de palavras: 3.033, número de palavras do resumo: 194.

Autor para correspondência: Leonardo A. Pinto, Avenida Ipiranga, 6690, 2º andar, Instituto de Pesquisas Biomédicas. Cep 90.610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: leonardo.pinto@pucrs.br

RESUMO

Introdução: Os macrolídeos são fármacos com efeitos antibióticos consagrados especialmente para patógenos intracelulares (*Mycoplasma* e *Chlamydia pneumoniae*). Estudos recentes têm demonstrado possíveis efeitos antiinflamatórios dos macrolídeos. Estas drogas atuam inibindo a produção das interleucinas e podem reduzir a inflamação neutrofílica. Alguns ensaios clínicos têm relatado efeitos benéficos dos macrolídeos nas doenças pulmonares como a asma, fibrose cística, bronquiolite obliterante e na bronquiolite viral aguda.

Fonte de dados: Revisão da literatura, a partir da base de dados PubMed, de artigos publicados em revistas científicas internacionais nos últimos 10 anos.

Objetivos: Revisar os dados da literatura médica sobre o efeito antiinflamatório dos antibióticos macrolídeos nas doenças respiratórias.

Resultados e conclusões: Muitos estudos comprovam o efeito antiinflamatório dos macrolídeos nas doenças respiratórias. Alguns ensaios clínicos demonstram benefícios na administração de macrolídeos em pacientes com fibrose cística. Em outras doenças respiratórias os benefícios são controversos e o uso rotineiro não está indicado. São necessários mais estudos clínicos randomizados e controlados, que avaliem os efeitos destes medicamentos em cada situação clínica, para que se possam definir os benefícios dos antibióticos (ATB) macrolídeos no tratamento das doenças respiratórias.

Palavras-chaves: Macrolídeos, doenças respiratórias, asma, fibrose cística, bronquiolite obliterante, bronquiolite viral aguda.

ABSTRACT

Introduction: Macrolides are already established drugs with antibiotic effects especially for intracellular pathogens (*Mycoplasma* and *Chlamydia pneumoniae*). Recent studies have shown potential anti-inflammatory effects of macrolides. These drugs act by inhibiting the production of interleukins and may reduce neutrophilic inflammation. Some clinical trials have reported beneficial effects of macrolídeos in lung diseases such as asthma, cystic fibrosis, bronchiolitis obliterans and acute viral bronchiolitis.

Data Source: Review of literature, from the PubMed database of published articles in international journals in the last 10 years.

Objectives: To review the medical literature data on the anti-inflammatory effect of macrolide antibiotics in respiratory diseases.

Results and conclusions: Many studies confirm the anti-inflammatory effect of macrolídeos in respiratory diseases. Some clinical trials have shown benefits in the administration of macrolídeos in patients with cystic fibrosis. In other respiratory diseases the benefits are controversial and routine use is not indicated. Further randomized controlled studies are needed to assess the benefits of these drugs, so one can define the anti-inflammatory effects of macrolídeos in treatment of respiratory diseases.

Keywords: Macrolides, respiratory diseases, asthma, cystic fibrosis, bronchiolitis obliterans, acute viral bronchiolitis.

INTRODUÇÃO

Os antibióticos macrolídeos reúnem um grupo de fármacos muito utilizados na prática médica. Há cerca de 40 anos, estes medicamentos têm sido usados no tratamento de diversas doenças infecciosas.¹ A palavra macrolídeo provém da união do prefixo 'macro' (grande) e 'olídeo' (lactona), pois este grupo de fármacos possui um grande anel de lactona na sua conformação bioquímica. Os mais importantes contêm anéis de lactona com 14, 15 e 16 átomos. Os macrolídeos podem ser divididos em 2 grupos: os macrolídeos de origem natural e os de origem semi-sintética, que subdividem-se em 3 sub-grupos, conforme modificações químicas. A azitromicina é uma lactona de origem semi-sintética com 15 átomos em seu núcleo.¹

Os macrolídeos agem inibindo a síntese protéica e inibindo o crescimento bacteriano do ribossomo celular, fazendo com que proteínas vitais deixem de ser sintetizadas, causando a morte do patógeno. Este grupo de antimicrobianos atinge alta concentração no interior das células inflamatórias, o que permite a liberação da droga no local da inflamação induzida por macrófagos. Dentre os macrolídeos, a azitromicina é a que possui maior tempo de permanência no meio intracelular.¹⁻²

Alguns estudos apontaram que independente de sua atividade antimicrobiana potente, os antibióticos (ATB) macrolídeos apresentam propriedades antiinflamatórias e antivirais.³⁻⁷ Estudos tem utilizado essa classe de medicamento como droga de ação imunomoduladora, com finalidades antiinflamatórias em várias doenças respiratórias, porém seu uso nestas situações ainda é relativamente recente.⁸⁻¹⁰

Dentre seus efeitos mais relevantes estão a inibição da síntese e/ou secreção de citocinas pró-inflamatórias; efeitos nos neutrófilos através da inibição da migração (quimiotaxia) para os sítios de inflamação, inibindo a apoptose, fagocitose e adesão. Os macrolídeos parecem inibir a degranulação dos leucócitos, reduzir a inflamação eosinofílica; e ainda aumentam o transporte mucociliar, diminuindo a produção de muco *in vivo* e *in vitro*. Além disso, também podem provocar a redução da secreção das células caliciformes; redução da broncoconstrição através da diminuição da liberação da endotelina-1 e inibição de respostas colinérgicas do músculo liso das vias aéreas.^{2-5, 7,11-12} Neste artigo, descreveremos o efeito antiinflamatório dos macrolídeos em diversas doenças do trato respiratório.

FIBROSE CÍSTICA

A fibrose cística (FC) é uma doença sistêmica hereditária autossômica recessiva com um grande comprometimento pulmonar, além de má absorção de gorduras e deficiência de micronutrientes. O defeito no regulador de condutância transmembranar da fibrose cística resulta em um transporte epitelial de íons anormal, o que causa um aumento da viscosidade do muco e consequente estase da secreção nos pulmões, contribuindo para um aumento na propensão de infecções respiratórias recorrentes, principalmente por *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenza* e *Pseudomonas aeruginosa*. A infecção e inflamação levam ao dano do tecido pulmonar, bronquiectasia e progressiva insuficiência respiratória. A FC apresenta diversas similaridades com a

panbronquiolite difusa (PBD). Ambas são caracterizadas por tosse, sinusite crônica, inflamação neutrofílica das vias aéreas, suscetibilidade a infecções crônicas intrabrônquicas com patógenos específicos e deterioração progressiva da função pulmonar. A melhora do desfecho na PBD com o uso dos macrolídeos e o reconhecimento de vários efeitos antiinflamatórios e imunomoduladores destes fármacos levantaram uma possibilidade de benefício dessa classe de antibióticos no tratamento da FC.^{1, 13-15}

O efeito antiinflamatório dos macrolídeos na FC foi investigado pela primeira vez em 1998. Sete crianças com FC foram tratadas com uma dose diária de azitromicina por no mínimo 3 meses e duração média de 7 meses. Os pacientes tinham idade entre 6-17 anos, estavam infectados por *Pseudomonas aeruginosa* e tinham doença pulmonar avançada ou obstrução crônica de via aérea não responsiva ao tratamento convencional. A capacidade vital forçada (CVF) aumentou de 62,8% para 70,3%, com uma média de aumento significativo de 11,3%, e o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) aumentou 11% quando comparado aos valores pré-tratamento ($p < 0,03$).¹⁶

Desde então, outros estudos tem demonstrado esse efeito benéfico na FC. Equi *et al.* estudaram o impacto da azitromicina em 41 crianças entre 8-18 anos com FC em um estudo cruzado de 15 meses, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. Os pacientes receberam azitromicina ou placebo por 6 meses, seguido por um período de 2 meses de intervalo e depois foram cruzados para o tratamento do outro grupo. O desfecho primário foi mudança na variável VEF₁. A dose da droga foi ajustada para o peso corporal (250mg/dia, se ≤ 40 kg ou 500mg/dia, se > 40 kg). A melhora da função

pulmonar foi consistente em ambos os grupos com o uso da azitromicina. O VEF₁ aumentou em 5,4% (95% intervalo de confiança [IC]; 0,8 - 10,5) em comparação ao grupo placebo. A CVF teve um aumento de 3,9% (95% IC; 2,5 - 9,2) e o Fluxo Expiratório Forçado 25%-75% (FEF_{25-75%}) de 11,4% (95% IC; 1,19 - 23,7) com a azitromicina em relação ao placebo, sendo esses achados questionáveis devido ao amplo intervalo de confiança. O uso de antibióticos foi menor enquanto os pacientes estavam recebendo o tratamento com azitromicina. Nenhuma diferença significativa foi notada quanto à densidade de bactérias no escarro, marcadores inflamatórios, tolerância ao exercício e qualidade de vida. A terapêutica foi bem tolerada sem evidência de ototoxicidade em testes de audiometria.¹⁷

Um estudo em adultos com FC, realizado em 60 pacientes clinicamente estáveis, administrou 250mg de azitromicina ou placebo por dia, durante 3 meses. Pacientes randomizados para azitromicina mantiveram os níveis de função pulmonar nos 3 meses, enquanto os pacientes do grupo placebo tiveram um declínio de VEF₁ e CVF de 3,62% e 5,73%, respectivamente, em relação ao grupo azitromicina. O grupo azitromicina também teve menos tempo de terapia endovenosa (EV) de antibióticos ($p=0,009$), menos dias em casa recebendo antibiótico EV ($p=0,037$), menos cursos de antibióticos EV ($p=0,016$) e revelou melhora na qualidade de vida. A média dos níveis de proteína C reativa decresceu durante o tempo no grupo azitromicina, enquanto se manteve estável no grupo placebo. O grupo placebo foi composto por mais homens que o grupo azitromicina (67% versus 30%), com melhor função pulmonar e estado nutricional. Análises estatísticas foram ajustadas para diferenças entre os dois grupos quanto ao gênero, peso e função pulmonar basal, mas não foram estratificados quanto

à severidade da doença. Não houve diferenças significativas entre o índice de massa corporal, taxa de sedimentação eritrocitária, densidade ou tipos de bactéria entre os dois grupos.¹⁸

Em uma revisão sistemática, foram analisados o estado clínico e os efeitos adversos de pacientes com FC que receberam tratamento com macrolídeos *versus* placebo.¹⁹ Foram incluídos 10 estudos (959 pacientes). Oito desses estudos compararam azitromicina ao placebo e 2 estudos compararam a diferença de doses de azitromicina. Quatro ensaios (549 pacientes) demonstraram melhora significativa da função pulmonar depois do tratamento com azitromicina comparada ao placebo em 6 meses (diferença média nos 6 meses de 3,97% [95% IC 1,74 - 6,19]). Dados com um prazo maior do que 6 meses foram menos claros, mas a redução no número de exacerbações respiratórias manteve-se. Pacientes em uso de azitromicina tiveram duas vezes menos chance de ter exacerbações pulmonares (*odds ratio* [OR] 1,96 [95% IC 1,15 a 3,33]), precisaram de menos antibióticos orais, tiveram um maior ganho de peso e menor identificação de *Staphylococcus aureus* nas culturas de via aérea. Efeitos adversos não foram comuns e não foram associados à azitromicina, embora um aumento da resistência aos macrolídeos tenha sido observado. Seis estudos foram analisados como tendo um baixo potencial para viés e os outros quatro, com possíveis riscos significativos para vieses, não tiveram impacto importante na conclusão dos resultados e dos desfechos. Os autores concluíram que a azitromicina tem um pequeno, mas consistente efeito benéfico no tratamento da FC com boa segurança de uso em até 6 meses com esquema de doses 3 vezes/semana. Porém, considerando os poucos dados a longo-prazo e a preocupação de desenvolvimento de resistência

bacteriana aos macrolídeos, as atuais evidências não são fortes o suficiente para indicar a azitromicina para todos os pacientes com FC.¹⁹

Uma importante preocupação em relação ao uso crônico de macrolídeos é em relação ao desenvolvimento de resistência bacteriana a essa classe de antibióticos. Um estudo examinou a frequência de resistência aos macrolídeos em *Staphylococcus aureus* e *Haemophilus influenzae* isolados de pacientes com FC entre 1999 e 2004, um período em que houve grande aumento do uso de azitromicina em pacientes com FC. A resistência à eritromicina entre *Staphylococcus aureus* isolados aumentou de 6,9% para 53,8% neste período e a resistência à claritromicina entre *Haemophilus influenzae* aumentou de 3,7% para 37,5%. Culturas de pacientes recebendo azitromicina tiveram um número menor de positividade para ambos os agentes em relação a pacientes que não receberam azitromicina.²⁰

Muitas questões em relação ao modo de uso da azitromicina permanecem em aberto, como a dose, intervalo, o tempo de duração do efeito e o impacto do tratamento em longo-prazo na progressão da doença e na microbiologia do pulmão. Um ensaio clínico randomizou crianças com o intuito de testar diferentes doses de azitromicina (5 mg/kg/dia *versus* 15 mg/kg/dia) por 6 meses. Não foram identificadas diferenças entre os grupos quanto ao VEF₁, escores clínicos, taxa de colonização de *Pseudomonas*, exacerbações pulmonares e necessidade de antibióticos. O aumento significativo do número de exacerbações e declínio de VEF₁ depois de cessado o uso de azitromicina em ambos os grupos, sugere a limitação do efeito antiinflamatório quanto ao tempo de uso.¹³ Outro estudo analisou a administração diária (250mg/dia) *versus* semanal (1200mg/semana) de azitromicina. A melhora da função pulmonar foi equivalente nos

dois grupos. O uso de doses mais altas uma vez por semana foi associado a um aumento moderado de efeitos adversos gastrointestinais.²¹

A claritromicina tem sido estudada em menor grau como terapia a longo-prazo em pacientes com FC. Um pequeno estudo piloto com 10 adultos (19-26 anos) realizado nos Estados Unidos em pacientes com FC e infectados por *Pseudomonas aeruginosa* tratados com placebo por 3 semanas e seguido de tratamento com claritromicina (500mg/2 vezes ao dia), não mostrou diferença significativa na contagem de neutrófilos, IL-8, elastase ou mieloperoxidase no escarro. Esses achados, segundo os autores, podem ser devido ao número pequeno de pacientes ou ao curto tempo de duração do tratamento.²² Entretanto, outro estudo com 27 crianças mostrou uma redução significativa de TNF-alfa, IL-8, IL-4, interferon- γ no escarro e plasma e aumento da relação interferon- γ /IL-4 e resposta dos linfócitos periféricos a fitohemaglutinina, depois do tratamento com 250 mg/dia de claritromicina por 12 meses.²³

Os macrolídeos têm mostrado retardar o declínio da função pulmonar na FC. Os possíveis mecanismos de ação incluem ações diretas no microorganismo infeccioso e no hospedeiro. A diminuição da virulência de bactérias, em especial da *P. aeruginosa*, um efeito bactericida tardio, diminuição da aderência na via aérea, motilidade e produção de biofilme das *Pseudomonas*, são os possíveis efeitos no agente. As ações imunomoduladoras no hospedeiro incluem a supressão da hiperimunidade e inflamação, inibição da produção de citocinas inflamatórias pelos macrófagos alveolares e diminuição da hipersecreção de muco.^{1, 7, 14}

Diversos estudos têm demonstrado resultados positivos quanto à redução no número de exacerbações e estabilização ou aumento da capacidade respiratória,

enquanto que alguns poucos estudos falharam em demonstrar esses efeitos. A azitromicina pode ser usada com resultados positivos na FC, entretanto a dosagem ótima e o tempo de administração ainda permanecem sem dados concretos.^{13,17-19,21}

BRONQUIOLITE OBLITERANTE

A bronquiolite obliterante (BO) é uma doença inflamatória que acomete a porção final da árvore brônquica, levando ao processo de obliteração da luz do bronquíolo. A BO incide principalmente em pacientes transplantados de pulmão, sendo a principal causa de morte no pós-operatório; e também em pacientes pediátricos, sucedendo um processo infeccioso.¹

A BO tem como manifestações clínicas características a taquipnéia, aumento do diâmetro ântero-posterior do tórax, crepitação, sibilos e hipoxemia por no mínimo trinta dias após a ação do fator desencadeante. O agente infeccioso responsável pelo insulto inicial mais comum é o adenovírus.²⁴⁻²⁷

A BO pós-transplante é a variante mais prevalente em países desenvolvidos, devido ao maior número de procedimentos. A BO pós-infecciosa, em contrapartida, é a variante mais prevalente em países subdesenvolvidos. Ela possui um grande impacto clínico, como demonstra um estudo realizado no Gutierrez *et al*, em um hospital de Buenos Aires (Argentina), que verificou que a BO pós-infecciosa foi responsável por 14% do tempo total de internação de pacientes no período de 10 anos.²⁴

A eficácia do tratamento da BO com antibióticos macrolídeos foi testada por alguns autores, porém com medições de fatores distintos. Dois estudos que foram realizados com medidas semelhantes, ainda que não idênticas, apresentaram resultados diversos.²⁸⁻²⁹ Um destes estudos demonstrou, ao realizar acompanhamento de 146 pacientes transplantados de pulmão com sobrevida maior que 180 dias (sendo 102 pacientes tratados com claritromicina e 44 com a rotina normal de pós-operatório), que a claritromicina não reduz a incidência de BO (76 pacientes em uso de claritromicina desenvolveram BO, enquanto 7 com a rotina normal desenvolveram a doença), nem a incidência de complicações respiratórias (35 pacientes em uso de claritromicina *versus* 18 em uso da rotina normal).²⁸ Outro estudo²⁹ demonstrou não haver melhora da capacidade respiratória, ao comparar o volume expiratório máximo de 11 pacientes ao longo de um tratamento não-cego de azitromicina (250mg 3x/semana) ao longo de 10 meses. Os autores, no entanto, referem que houve uma mudança na história natural da BO, uma vez que a doença não progrediu no período acompanhado.²⁹ Este resultado contraria os achados de Dhillon *et al*, cujos pacientes desenvolveram a doença independente do uso de macrolídeo (claritromicina) sem alteração na história natural da doença.²⁸

Não existem estudos testando a eficácia do tratamento com macrolídeos em BO pós-infecciosa, algo fundamental a ser determinado devido ao grande impacto dessa doença principalmente em países subdesenvolvidos.

ASMA

A asma é uma doença inflamatória crônica que tem como característica principal a hiper-responsividade das vias aéreas inferiores. Essa responsividade aumentada é responsável pela limitação variável do fluxo de ar nas vias aéreas, causando episódios com sibilância, dispnéia, aperto no peito e tosse. Os sintomas são mais comuns à noite e ao despertar. No Brasil, a asma é a quarta causa de hospitalização pelo sistema único de saúde (SUS) e a terceira entre crianças e adultos jovens.³⁰ A inflamação brônquica é a principal característica fisiopatológica da asma, e está presente mesmo em pacientes assintomáticos. Essa inflamação é consequência da hiper-reatividade brônquica a estímulos como, por exemplo, infecções virais ou bacterianas, contato com alérgenos, mudanças climáticas e estresse emocional, levando a um quadro chamado de crise asmática aguda. Além do processo inflamatório, causando edema da mucosa e formação de *plugs* de muco, há também broncoespasmo, contribuindo ainda mais para a diminuição do calibre das vias aéreas.³⁰

Os macrolídeos são conhecidos não só por seu efeito bacteriostático, como também pelo efeito antiinflamatório.⁴ Isso explica seu uso por alguns profissionais no manejo de crises de asma mesmo quando não há relação com infecção bacteriana. Os macrolídeos são capazes de suprimir a ação de citocinas devido a propriedades de imunomodulação e também uma melhora da função pulmonar.¹

Pacientes asmáticos possuem uma tendência maior a desenvolverem infecções virais.^[31] Segundo um estudo conduzido por Holgate *et al*, o epitélio das vias aéreas dos asmáticos libera mais mediadores de inflamação que o epitélio normal quando infectado por vírus.³² Considerando que 40-80% das crises de asma são desencadeadas por

infecções virais, a comprovação da efetividade dos macrolídeos no processo inflamatório da asma é de grande importância clínica.³³

Em relação às infecções bacterianas, alguns estudos apontam que quando organismos como *Chlamydia pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae* - identificados por broncoscopia e pelo teste de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) - são responsáveis, muitas vezes, por exacerbação da asma. Em algumas situações, o uso dos macrolídeos apontou uma melhora no controle da doença. Esse resultado, porém, não foi encontrado nas pesquisas clínicas bem delineadas.³⁴⁻³⁵

Os efeitos benéficos dos macrolídeos também têm sido testados no tratamento da asma não infecciosa. A claritromicina e a azitromicina se mostraram eficientes em reduzir a inflamação das vias aéreas, e a claritromicina também foi associada diminuição do edema das vias aéreas.^{12,36} Outro estudo realizado *in vitro* indicou que os macrolídeos podem causar broncodilatação.³⁷

Porém, o efeito positivo dos macrolídeos não tem sido consistente em todos os estudos clínicos publicados. Novos estudos sobre o efeito dos macrolídeos no manejo da asma são necessários. As pesquisas devem visar não só a comprovação *in vitro* da existência de um efeito no uso desses antibióticos e antiinflamatórios, mas também a quantificação do benefício que esses medicamentos podem trazer à prática clínica.

BRONQUIOLITE VIRAL AGUDA

A bronquiolite viral aguda (BVA) é causa mais freqüente de internação em lactentes. A BVA é caracterizada por uma extensa inflamação das vias aéreas (VA)

acompanhada por aumento da produção de muco e necrose das células epiteliais das vias aéreas inferiores.^{30,38} O quadro clínico apresenta taquipnéia e sibilância, associada a infecção de vias aéreas superiores. A causa primária de infecção respiratória é viral, principalmente o vírus sincicial respiratório (VSR).³⁹ Rotineiramente, antibióticos não são recomendados no manejo da BVA, porém, alguns pesquisadores propuseram o uso dos macrolídeos para o tratamento desta doença.³⁰

No estudo de Tahan, 21 crianças hospitalizadas com BVA moderada, receberam claritromicina oral por 3 semanas e apresentaram melhoras significativas com relação ao tempo de uso de oxigenoterapia, tempo de internação hospitalar e risco de readmissão hospitalar por 6 meses, indicando diminuição na severidade da doença.⁸ Em contrapartida, no estudo de Kneyber, 71 crianças receberam azitromicina por 3 dias e nenhum resultado significativo foi encontrado.⁹ No estudo de Mazumder e no de Kabir, onde foi comparado o uso de ampicilina intravenosa, eritromicina oral e placebo, ambos os estudos não encontraram resultados significativos entre os grupos intervenção e placebo.^{10, 40}

Apesar dos estudos serem contraditórios, na revisão do *Cochrane Library*⁴¹ os revisores apontam para sérios vieses nos estudos citados, como no cegamento, randomização, poder da amostra e até mesmo na análise dos dados.

CONCLUSÕES

Muitos estudos comprovam o efeito antiinflamatório dos macrolídeos nas doenças respiratórias. Alguns ensaios clínicos demonstram benefícios na administração de macrolídeos em pacientes com fibrose cística. Em outras doenças respiratórias os benefícios ainda são controversos e o uso rotineiro não está indicado. No manejo das doenças respiratórias, os médicos devem avaliar cuidadosamente os tratamentos prescritos e analisar a capacidade de redução dos sintomas, do tempo de internação hospitalar e das seqüelas, além é claro, de monitorar o uso abusivo de ATB e desenvolver novas estratégias para mudar a prática médica atual. Logo, são necessários mais estudos clínicos randomizados e controlados, que avaliem os efeitos destes medicamentos em cada situação clínica, para que se possam definir os benefícios dos ATB macrolídeos no tratamento das doenças respiratórias.

REFERÊNCIAS

1. Zarogoulidis P PN, Kioumis I, Chatzaki E, Maltezos E, Zarogoulidis K. Macrolides: from in vitro anti-inflammatory and immunomodulatory properties to clinical practice in respiratory diseases. *Eur J Clin Pharmacol*. 2011.
 2. Cazzola M BF, Tarsia P, Zanardelli M, Allegra L. Role of macrolides as immunomodular agents. *Clinical Pulmonary Medicine*. 2006;13(5):274-81.
 3. Culic O, Erakovic V, Parnham MJ. Anti-inflammatory effects of macrolide antibiotics. *Eur J Pharmacol*. 2001 Oct 19;429(1-3):209-29.
 4. Jaffe A, Bush A. Anti-inflammatory effects of macrolides in lung disease. *Pediatr Pulmonol*. 2001 Jun;31(6):464-73.
 5. Rubin BK, Tamaoki J. Macrolide antibiotics as biological response modifiers. *Curr Opin Investig Drugs*. 2000 Oct;1(2):169-72.
 6. Gielen V, Johnston SL, Edwards MR. Azithromycin induces anti-viral responses in bronchial epithelial cells. *Eur Respir J*. 2010 Sep;36(3):646-54.
 7. Shinkai M, Rubin BK. Macrolides and airway inflammation in children. *Paediatr Respir Rev*. 2005 Sep;6(3):227-35.
 8. Tahan F, Ozcan A, Koc N. Clarithromycin in the treatment of RSV bronchiolitis: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Eur Respir J*. 2007 Jan;29(1):91-7.
 9. Kneyber MCJ vWJ, Uijtendaal E, Uiterwaal CSPM, Kimpen JLL. Azithromycin does not improve disease course in hospitalized infants with respiratory syncytial virus (RSV) lower respiratory tract disease: A randomised Equivalence Trial. *Pediatric Pulmonology*. 2008;43:142-9.
 10. Mazumder M HM, Kabir A. Management of bronchiolitis with or without antibiotics - a randomised control trial. *Journal of Bangladesh College of Physicians and Surgeons*. 2009;27:63-9.
 11. Hodge S, Hodge G, Brozyna S, Jersmann H, Holmes M, Reynolds PN. Azithromycin increases phagocytosis of apoptotic bronchial epithelial cells by alveolar macrophages. *Eur Respir J*. 2006 Sep;28(3):486-95.
 12. Beigelman A, Mikols CL, Gunsten SP, Cannon CL, Brody SL, Walter MJ. Azithromycin attenuates airway inflammation in a mouse model of viral bronchiolitis. *Respir Res*. 2010;11:90.
-

13. Kabra SK, Pawaiya R, Lodha R, Kapil A, Kabra M, Vani AS, et al. Long-term daily high and low doses of azithromycin in children with cystic fibrosis: a randomized controlled trial. *J Cyst Fibros*. 2010 Jan;9(1):17-23.
 14. McArdle JR, Talwalkar JS. Macrolides in cystic fibrosis. *Clin Chest Med*. 2007 Jun;28(2):347-60.
 15. Rubin BK, Henke MO. Immunomodulatory activity and effectiveness of macrolides in chronic airway disease. *Chest*. 2004 Feb;125(2 Suppl):70S-8S.
 16. Jaffe A, Francis J, Rosenthal M, Bush A. Long-term azithromycin may improve lung function in children with cystic fibrosis. *Lancet*. 1998 Feb 7;351(9100):420.
 17. Equi A, Balfour-Lynn IM, Bush A, Rosenthal M. Long term azithromycin in children with cystic fibrosis: a randomised, placebo-controlled crossover trial. *Lancet*. 2002 Sep 28;360(9338):978-84.
 18. Wolter J, Seeney S, Bell S, Bowler S, Masel P, McCormack J. Effect of long term treatment with azithromycin on disease parameters in cystic fibrosis: a randomised trial. *Thorax*. 2002 Mar;57(3):212-6.
 19. Southern KW, Barker PM, Solis-Moya A, Patel L. Macrolide antibiotics for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;12:CD002203.
 20. Phaff SJ, Tiddens HA, Verbrugh HA, Ott A. Macrolide resistance of *Staphylococcus aureus* and *Haemophilus* species associated with long-term azithromycin use in cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother*. 2006 Apr;57(4):741-6.
 21. McCormack J, Bell S, Senini S, Walmsley K, Patel K, Wainwright C, et al. Daily versus weekly azithromycin in cystic fibrosis patients. *Eur Respir J*. 2007 Sep;30(3):487-95.
 22. Ordonez CL, Stulbarg M, Grundland H, Liu JT, Boushey HA. Effect of clarithromycin on airway obstruction and inflammatory markers in induced sputum in cystic fibrosis: a pilot study. *Pediatr Pulmonol*. 2001 Jul;32(1):29-37.
 23. Pukhalsky AL, Shmarina GV, Kapranov NI, Kokarovtseva SN, Pukhalskaya D, Kashirskaja NJ. Anti-inflammatory and immunomodulating effects of clarithromycin in patients with cystic fibrosis lung disease. *Mediators Inflamm*. 2004 Apr;13(2):111-7.
 24. Colom AJ, Teper AM, Vollmer WM, Diette GB. Risk factors for the development of bronchiolitis obliterans in children with bronchiolitis. *Thorax*. 2006 Jun;61(6):503-6.
-

-
25. Cazzato S, Poletti V, Bernardi F, Laroni L, Bertelli L, Colonna S, et al. Airway inflammation and lung function decline in childhood post-infectious bronchiolitis obliterans. *Pediatr Pulmonol*. 2008 Apr;43(4):381-90.
 26. Chiu CY, Wong KS, Huang YC, Lin TY. Bronchiolitis obliterans in children: clinical presentation, therapy and long-term follow-up. *J Paediatr Child Health*. 2008 Mar;44(3):129-33.
 27. Fischer GB, Sarria EE, Mattiello R, Mocelin HT, Castro-Rodriguez JA. Post infectious bronchiolitis obliterans in children. *Paediatr Respir Rev*. 2010 Dec;11(4):233-9.
 28. Dhillon GS, Valentine VG, Levitt J, Patel P, Gupta MR, Duncan SR, et al. Clarithromycin for prevention of bronchiolitis obliterans syndrome in lung allograft recipients. *Clin Transplant*. 2011 Feb 24.
 29. Shitrit D, Bendayan D, Gidon S, Saute M, Bakal I, Kramer MR. Long-term azithromycin use for treatment of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Sep;24(9):1440-3.
 30. Bronchiolitis SoDaMo. Diagnosis and Management of Bronchiolitis. *Pediatrics*. 2006;118:1774-93.
 31. 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.
 32. Holgate ST. The sentinel role of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Immunol Rev*. 2011 Jul;242(1):205-19.
 33. Papadopoulos NG, Christodoulou I, Rohde G, Agache I, Almqvist C, Bruno A, et al. Viruses and bacteria in acute asthma exacerbations--a GA(2) LEN-DARE systematic review. *Allergy*. 2011 Apr;66(4):458-68.
 34. Kraft M, Cassell GH, Pak J, Martin RJ. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in asthma: effect of clarithromycin. *Chest*. 2002 Jun;121(6):1782-8.
 35. Good JT, Jr., Kolakowski CA, Groshong SD, Murphy JR, Martin RJ. Refractory Asthma: Importance of Bronchoscopy to Identify Phenotypes and Direct Therapy. *Chest*. 2011 Aug 11.
 36. Simpson JL, Powell H, Boyle MJ, Scott RJ, Gibson PG. Clarithromycin targets neutrophilic airway inflammation in refractory asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Jan 15;177(2):148-55.
-

-
37. Gao X, Ray R, Xiao Y, Ishida K, Ray P. Macrolide antibiotics improve chemotactic and phagocytic capacity as well as reduce inflammation in sulfur mustard-exposed monocytes. *Pulm Pharmacol Ther.* 2010 Apr;23(2):97-106.
 38. Smyth RL, Openshaw PJ. Bronchiolitis. *Lancet.* 2006 Jul 22;368(9532):312-22.
 39. Simoes EA. Respiratory syncytial virus infection. *Lancet.* 1999 Sep 4;354(9181):847-52.
 40. Kabir A MA, Anwar K, Rahman A, Amin R, Rahman M. Management of bronchiolitis without antibiotics: a multicentre randomized control trial in Bangladesh. *Acta paediatrica.* 2009;98:1593-9.
 41. Spurling GK, Doust J, Del Mar CB, Eriksson L. Antibiotics for bronchiolitis in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011(6):CD005189.
-

CAPÍTULO III

Artigo Original

3 ARTIGO ORIGINAL

PÁGINA DE ROSTO

**Ensaio clínico controlado e randomizado para avaliação da eficácia da
azitromicina no tratamento da bronquiolite aguda**

*Randomized clinical Trial to evaluate the efficacy of azythromycin in the treatement of
acute bronchiolitis*

PÁGINA DE ROSTO

**Ensaio clínico controlado e randomizado para avaliação da eficácia da
azitromicina no tratamento da bronquiolite aguda**

*Randomized clinical Trial to evaluate the efficacy of azythromycin in the treatement of
acute bronchiolitis*

Fernanda Luisi¹, Paulo Márcio C. Pitrez², Renato T. Stein², Leonardo A. Pinto²

¹ Fisioterapeuta. Doutoranda pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança. Hospital São Lucas, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

² Professor do Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

Currículo dos autores está disponível na Plataforma Lattes do CNPq.

Fonte financiadora: PUCRS.

Total de palavras: 2.161, número de palavras do resumo: 361.

Autor para correspondência: Leonardo A. Pinto, Avenida Ipiranga, 6690, 2º andar, Instituto de Pesquisas Biomédicas. Cep 90.610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.
E-mail:Leonardo.pinto@pucls.br.

RESUMO

Introdução: A bronquiolite viral aguda (BVA) é a principal causa de hospitalização em crianças durante o primeiro ano de vida. Diversos estudos têm demonstrado os efeitos imunomoduladores dos macrolídeos. Porém, poucos estudos, utilizando amostras pequenas, testaram a eficácia destes antibióticos em lactentes com BVA. Neste estudo testamos a hipótese de que o tratamento com azitromicina reduz o tempo de internação hospitalar e o tempo de uso de oxigenoterapia nas crianças internadas com BVA.

Métodos: Foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Participaram do estudo lactentes com até 12 meses de idade e que foram internados em um hospital universitário com diagnóstico clínico de BVA (primeiro episódio de sibilância). Estes foram randomizados para receber azitromicina oral (10 mg/kg/dia) ou placebo administrado em dose única diária por 7 dias. Foi aplicado um questionário para coleta de dados clínicos e uma amostra de secreção nasal para identificação viral. Foram registrados o tempo de necessidade de uso de oxigenoterapia (TO₂) e o tempo de internação hospitalar (TIH).

Resultados: Foram incluídos no estudo 105 lactentes com média de idade de 3,4 meses (dp±2,6) (50 no grupo intervenção e 55 no grupo placebo) entre os anos de 2009 a 2011. Os grupos foram comparados com relação às características clínicas e dados de virologia. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos com relação TIH (5,42 ± 2,96 dias [azitromicina] *versus* 6,54 ± 3,56 [placebo]; *p*=0,200) nem com relação ao TO₂. Das amostras coletadas, 62/101 (61,38%) dos pacientes apresentaram positividade para vírus respiratórios ao exame de imunofluorescência e 57 (56,4%) destes para vírus sincicial respiratório (VSR).

Conclusões: Este foi o primeiro ensaio clínico que avaliou a eficácia de um macrolídeo em uma amostra representativa (N=105) de lactentes hospitalizados com BVA. O tratamento com azitromicina não melhora o tempo de internação hospitalar de lactentes com primeiro episódio de sibilância. Nossos achados contribuem para que haja uma redução do uso abusivo de antibióticos, a fim de se evitar o aumento da resistência a estes medicamentos. Ainda sim, não é possível descartar possíveis efeitos benéficos de diferentes classes de macrolídeos, ou mesmo uma associação positiva com diferentes fenótipos/genótipos de sibilância.

Palavras-chaves: Bronquiolite Aguda, macrolídeos, vírus respiratórios, VSR.

ABSTRACT

Rationale: Acute viral bronchiolitis is a leading cause of hospitalization in the first year of life. Several studies have shown that macrolides have immune modulating properties, but only a few and underpowered trials have tested the efficacy of these antibiotics in infants with acute bronchiolitis. In this study we tested the hypothesis that azithromycin reduces the length of hospitalization and oxygen requirement in infants with acute bronchiolitis.

Methods: We performed a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Infants aged less than 12 months were admitted to one university hospital with a clinical diagnosis of acute bronchiolitis (first wheezing episode). They were randomized to receive either oral azithromycin (10 mg/kg/day) or placebo administered once daily for seven days. Clinical data were recorded and nasopharyngeal samples for viral identification were collected at enrollment. Main outcomes were length of oxygen requirement and duration of hospitalization.

Results: The study included 105 infants with a mean age of 3.4 months (sd \pm 2.6) (50 in the intervention, and 55 in the placebo groups) from 2009 to 2011. Patients were comparable with respect to baseline clinical characteristics and viral identification. There were neither differences between the two groups regarding duration of hospitalization (5.42 ± 2.96 [azithromycin] vs 6.54 ± 3.56 [placebo] days; $p=0.200$), nor for oxygen requirement. 62/101 (61.38%) patients had positive viral immunofluorescence and 57 (56.4%) were due to respiratory syncytial virus (RSV).

Conclusions: This is the first trial to test the efficacy of macrolides on acute viral bronchiolitis in a large sample of hospitalized infants. Routine treatment with azithromycin does not improve length of hospitalization in infants with the first episode of wheezing. This finding may potentially reduce antibiotic overuse that carries along the risk for increasing overall antibiotic resistance. Still, one cannot rule out possible beneficial effects of different classes of macrolides, or even a positive association to specific wheeze phenotypes/genotypes.

Keywords: Acute Bronchiolitis, macrolides, respiratory virus, RSV.

INTRODUÇÃO

A bronquiolite viral aguda (BVA) é a doença do trato respiratório inferior mais comum entre os lactentes. É caracterizada por inflamação aguda e aumento da produção de muco. O manejo da BVA é basicamente de suporte, com oxigenoterapia, hidratação e suporte ventilatório nos casos mais graves.¹ Apesar de existirem diversos estudos a respeito de novas terapias, nenhum ensaio clínico demonstrou intervenções com impacto relevante na BVA.¹

Os macrolídeos são fármacos com efeitos antibióticos consagrados especialmente para patógenos intracelulares (*Mycoplasma pneumoniae* e *Chlamydia pneumoniae*).² Estudos recentes tem demonstrado possíveis efeitos antiinflamatórios dos macrolídeos bem como efeitos antivirais.³⁻⁵ Estas drogas atuam inibindo a produção das interleucinas (IL)-6 e IL-8, assim como, também reduzem a inflamação neutrofílica.⁶ Alguns ensaios clínicos têm relatado efeitos benéficos dos macrolídeos nas doenças pulmonares inflamatórias, como na fibrose cística e nas exacerbações de asma.⁷

Alguns estudos, com pequenas amostras, testaram a eficácia destes antibióticos nos lactentes com BVA por VSR.^{8,9} Em um pequeno estudo com lactentes hospitalizadas com bronquiolite moderada, o uso de claritromicina por três semanas reduziu significativamente o tempo de internação hospitalar destes pacientes.⁸ Entretanto, em outro estudo, o uso da azitromicina não foi efetiva em lactentes mais jovens infectados por VSR.⁹

Esses achados distintos podem estar relacionados a diferenças entre as metodologias adotadas e principalmente pelo tamanho insuficiente da amostra

estudada. Neste estudo, testamos a hipótese de que o tratamento com azitromicina via oral pode reduzir o tempo de internação hospitalar e a necessidade de uso de oxigenoterapia em lactentes com BVA.

MÉTODOS

Desenho do estudo e população

Foi realizado um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Lactentes com idade de até 12 meses que foram admitidos em um hospital universitário de Porto Alegre (Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, HSL/PUCRS, Porto Alegre, Brasil) com diagnóstico clínico de bronquiolite aguda (primeiro episódio de sibilância) foram arrolados para o estudo. Esses lactentes receberam azitromicina via oral (10 mg/kg/dia) ou placebo (de mesma cor, sabor e aroma, manipulado por uma farmácia especializada) uma vez ao dia por 7 dias. No momento da inclusão foram coletados dados clínicos e demográficos (através do prontuário médico e de um questionário) e amostra de aspirado nasal para investigação dos agentes virais. Os principais desfechos foram o tempo da necessidade de oxigenoterapia (TO₂) e o tempo de internação hospitalar (TIH). Os critérios de inclusão foram os seguintes: lactentes com até 12 meses de idade admitidos pelo sistema único de saúde (SUS) com diagnóstico clínico de bronquiolite aguda (primeiro episódio de sibilância); início dos sintomas de vias aéreas inferiores com até 72 horas; assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) pelos responsáveis. Os critérios

de exclusão foram: contra-indicações para o uso de macrolídeos; crianças com condições clínicas e radiológicas indicativas de pneumonia e com prescrição de terapia com macrolídeos; pacientes com doenças cardiopulmonares crônicas; história de prematuridade (menor de 37 semanas) ou de complicações neonatais. Um questionário padronizado foi utilizado para coletar os dados clínicos e os resultados associados à bronquiolite aguda. Todos os lactentes incluídos neste estudo foram manejados conforme rotina do HSL-PUCRS (O₂ se hipoxemia, hidratação e suporte se necessário) além dos macrolídeos, que foram prescritos pelo pediatra da unidade. A história clínica foi obtida através dos dados dos prontuários médicos e pelo questionário aplicado às mães ou responsáveis. Os dados clínicos incluem necessidade de uso de oxigenoterapia e seus níveis, bem como as medidas fisiológicas para definição da gravidade da doença (frequência respiratória e uso de musculatura respiratória acessória).

Intervenção e coleta de dados

Os lactentes randomizados receberam azitromicina ou placebo por via oral (10 mg/kg/dia). A medicação foi iniciada num prazo de até, no máximo, 72 horas de internação. A prescrição foi realizada pelo pediatra de plantão e administrada pela equipe de enfermagem conforme prescrição médica no prontuário do paciente. A administração foi supervisionada pela equipe do estudo (pós-graduados e estudantes de graduação). O uso do placebo garantiu que os investigadores e a equipe médica fossem cegados para ambos os grupos de tratamento até a análise dos dados. O

placebo foi desenvolvido especialmente para nosso estudo em uma farmácia de manipulação especializada e apresentava cor, sabor e aroma semelhantes ao da azitromicina. Ambos (azitromicina e placebo) foram armazenados em frascos idênticos e lacrados, além disso, foram selados com o código de randomização.

Identificação Viral

Uma mostra de secreção nasal foi coletada de cada paciente para identificação de vírus respiratórios através do teste de imunofluorescência direta (IFD) para detecção os seguintes vírus respiratórios: adenovírus (VA), parainfluenza (1, 2 e 3) – (VP), influenza (A e B) – (VI) e vírus sincicial respiratório (VSR). Parte desta amostra foi armazenada para futura identificação de outros potenciais patógenos respiratórios (*M. pneumoniae*, *Chlamydia spp*) através do teste de *polymerase chain reaction* (PCR).

Desfechos

Desfechos principais: (1) tempo de internação hospitalar (TIH) por doença respiratória, definido como necessidade de cuidados respiratórios desde o momento da admissão até a alta hospitalar. A alta hospitalar foi realizada quando os lactentes atingissem níveis de saturação transcutânea de oxigênio (SpO₂) superior a 94% e alimentação adequada (boa aceitação sem evidência de aspiração); (2) tempo de necessidade de oxigenoterapia suplementar (TO₂). Desfechos secundários: gravidade clínica e uso adicional de antibióticos. Foram analisados também resultados clínicos de

dois subgrupos pré-determinados: (1) idade ≤ 3 meses e (2) identificação de vírus respiratórios.

Ética e análise estatística

Foi planejada a inclusão de pelo menos 100 lactentes. Com a diferença de 1 dia (24 horas) no TIH entre os grupos (poder=90%; $\alpha=5\%$), o tamanho amostral calculado por grupo foi de 23 pacientes. Em um estudo prévio⁸ a diferença entre os grupos foi de 30 horas para TIH e de 31 horas para TO₂. Assumindo efeitos semelhantes, uma amostra de 80-90 crianças em cada grupo seriam suficientes para uma análise de subgrupos baseadas na idade (poder= 90% e significância $\alpha=5\%$). É importante salientar que a obtenção de benefícios menores seria insuficiente para causar impacto na prática clínica. Os desfechos principais (TIH e TO₂) foram comparados entre os grupos através do teste estatístico de *Mann-Whitney*, considerando que estes resultados não se adequaram aos testes de normalidade. Uma sub-análise comparou crianças com idade ≤ 3 meses com as de idade maior de 3 meses. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do HSL-PUCRS sob o protocolo nº: 09/04678.

RESULTADOS

Durante o período do estudo, inicialmente, 109 lactentes foram avaliados para elegibilidade neste ensaio clínico. Destes, 4 lactentes não preencheram totalmente os critérios de inclusão (2 não foram hospitalizados, 1 paciente com > 12 meses e 1

paciente internou pelo sistema de saúde privado); e 105 foram randomizados. Dos pacientes incluídos, 50 lactentes foram randomizados para o grupo intervenção (azitromicina) e 55 para o grupo placebo. Dentre os pacientes do grupo placebo, 1 lactente necessitou ser reavaliado pela equipe médica e houve a necessidade de prescrição de azitromicina em seu tratamento (figura 1). Não foram encontradas diferenças significativas entre as características clínicas de base nos grupos intervenção e controle. As variáveis analisadas foram peso (ao nascimento e na internação), presença de retrações/tiragens, e a necessidade de uso de broncodilatadores e antibióticos. Apesar da variável frequência respiratória (FR) ter sido menor no grupo azitromicina, esta diferença não favoreceu um achado positivo no ensaio clínico. Dessa forma, esta diferença provavelmente não influenciou no resultado do trabalho. As características clínicas dos pacientes incluídos no estudo podem ser observadas na tabela 1.

Dos 105 pacientes randomizados para o estudo, apenas 101 coletaram amostra de aspirado nasal. No total das amostras coletadas 61,38% (62/101) foram positivas para vírus respiratórios. Destes, o VSR foi o mais prevalente 56,4% (57/101), seguido dos vírus influenza e parainfluenza. Foi observada uma alta incidência de coinfeção viral, que não estava relacionado com a severidade da doença.¹⁰ A proporção de crianças com positividade para vírus ou especificamente para VSR não apresentou diferença entre os grupos estudados (tabela 2).

Com relação aos desfechos principais (TIH e TO₂) não observamos diferenças significativas entre os grupos (tabela 3). Nem mesmo ao realizarmos subanálises entre os grupos, utilizando estratificação para idade e identificação viral, não foram

encontradas diferenças significativas entre os grupos estudados (tabela 4). Ao analisarmos os desfechos secundários (gravidade da doença e uso de antibiótico), também não foram encontrados resultados significativos.

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que o tratamento com azitromicina via oral (10 mg/kg/dia) por 7 dias não apresenta benefícios na evolução clínica da BVA. Isto é indicativo de que a infecção primária ou secundária causada por bactérias atípicas provavelmente seja rara em lactentes com diagnóstico clínico de BVA. Nossos resultados corroboram com a hipótese de que os antibióticos macrolídeos tem sido utilizados de forma abusiva em lactentes com BVA.¹¹ Os resultados encontrados, sustentam a hipótese de que não há benefício no uso de antibióticos em lactentes jovens hospitalizadas com BVA, conforme citam alguns estudos prévios.^{9,12} No entanto, antibióticos, especialmente os macrolídeos, ainda são amplamente prescritos mundialmente.¹³ No estudo de Behrendt *et al*, foi constatado que uma média de 24,7% dos lactentes hospitalizados com VSR são tratados com antibióticos via parenteral. Porém, sabe-se que uma infecção bacteriana secundária ou concomitante raramente ocorre em lactentes hospitalizados com BVA por VSR.¹⁴ Outro estudo encontrou evidências sorológicas de pneumonia bacteriana em 39% dos pacientes hospitalizados por VSR.¹⁵ No entanto, estas evidências não podem encontrar discriminação entre colonização e infecção bacteriana ativa. O subcomitê de diagnóstico e tratamento da

bronquiolite da Academia Americana de Pediatria desaconselha o uso rotineiro de antibióticos em pacientes hospitalizados com BVA por RSV.¹

A decisão de iniciar o uso de antibióticos, muitas vezes, depende da avaliação clínica da gravidade da doença e investigações adicionais de laboratório. Ainda não existe um padrão ouro para a detecção de uma pneumonia bacteriana. Investigações laboratoriais como hemograma, velocidade de sedimentação glomerular (VSG) e proteína-C reativa não podem ser usadas para discriminar infecções virais de infecções bacterianas.¹⁶

Em seus estudos, Kozyrskyj *et al*, descreveram que o uso de macrolídeos em lactentes com sibilância havia aumentado no período de 1995-2001. Este dado vai ao encontro dos relatos de aumento na utilização destes antibióticos nos Estados Unidos e Canadá na década de 1990, após a sua introdução no mercado, visto que estes antibióticos são bem aceitos e de fácil manejo na faixa etária pediátrica.^{13, 17}

O estudo de Akkerman *et al* também relatou a utilização de antibióticos macrolídeos com resultados significativos nas exacerbações de sibilância.¹⁸ Apesar de *Chlamydia pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae* terem sido identificadas em crianças com episódios agudos de sibilância, o papel desses organismos ainda não está claro. Estes agentes são encontrados com frequência muito menor que o rinovírus em lactentes com sibilância.¹⁹ Os macrolídeos também possuem propriedades antiinflamatórias, porém uma revisão sistemática demonstrou não haver respostas conclusivas sobre seu benefício nas crises de asma.²⁰

Rotineiramente antibióticos não são recomendados no manejo da BVA, porém, alguns pesquisadores propuseram o uso dos macrolídeos para o tratamento desta

doença. Atualmente, não há evidência suficiente que sustente o uso de macrolídeos nas exacerbações da asma, sem comorbidades, como a pneumonia. Kozyrskyj *et al* mostraram que o uso dos macrolídeos aumentou 15 vezes em crianças pré-escolares (1995-2001). Dessa forma, também foi relatado aumento na resistência aos macrolídeos.¹³

No estudo de Tahan, onde 21 crianças hospitalizadas com BVA moderada receberam claritromicina via oral por 3 semanas, melhoras significativas foram encontradas com relação tempo de internação hospitalar, tempo de uso de oxigenoterapia e risco de readmissão hospitalar (por 6 meses). Este resultado foi indicativo de diminuição na severidade da doença.⁸ Em contrapartida, no estudo de Kneyber, onde 71 crianças receberam azitromicina via oral por 3 dias, nenhum resultado significativo foi encontrado.⁹ Em outros dois estudos, onde foram comparados o uso de ampicilina intravenosa *versus* eritromicina oral *versus* placebo, ambos não encontraram resultados significativos entre os grupos intervenção e placebo.²¹⁻²²

Dessa forma, apesar dos estudos apresentarem resultados contraditórios, na revisão do *Cochrane Library* (2011), os revisores apontaram para sérios problemas (vieses) nos estudos citados, como no cegamento, randomização, poder da amostra e até mesmo na análise dos dados.²³

Estudos futuros deveriam investigar se a utilização dos macrolídeos poderia trazer benefícios para lactentes com BVA internados em unidades de terapia intensiva (UTI), pois grande parte destes pacientes são tratados com antibióticos. Parece improvável que em todos estes pacientes haja indicação de antibioticoterapia, embora

ainda seja difícil identificar quais pacientes poderiam realmente se beneficiar deste tratamento.

É sabido que o tratamento de lactentes com BVA por VSR varia globalmente. No entanto, o percentual de pacientes nos quais o uso de broncodilatadores ou antibióticos foram prescritos ficou dividido igualmente entre os grupos que receberam azitromicina e placebo, eliminando assim, possíveis confusões por diferenças no tratamento.

Concluindo, apesar do efeito antiinflamatório dos macrolídeos ter sido demonstrado em estudos *in vitro* e clinicamente em pacientes com fibrose cística, observamos que lactentes hospitalizadas por BVA não se beneficiam com um curso de sete dias de azitromicina por via oral. O uso rotineiro de azitromicina não é, portanto, recomendado nesta população de pacientes. Ainda sim, não é possível descartar possíveis efeitos benéficos de diferentes classes de macrolídeos, ou mesmo uma associação positiva com diferentes fenótipos/genótipos de sibilância.

FIGURAS

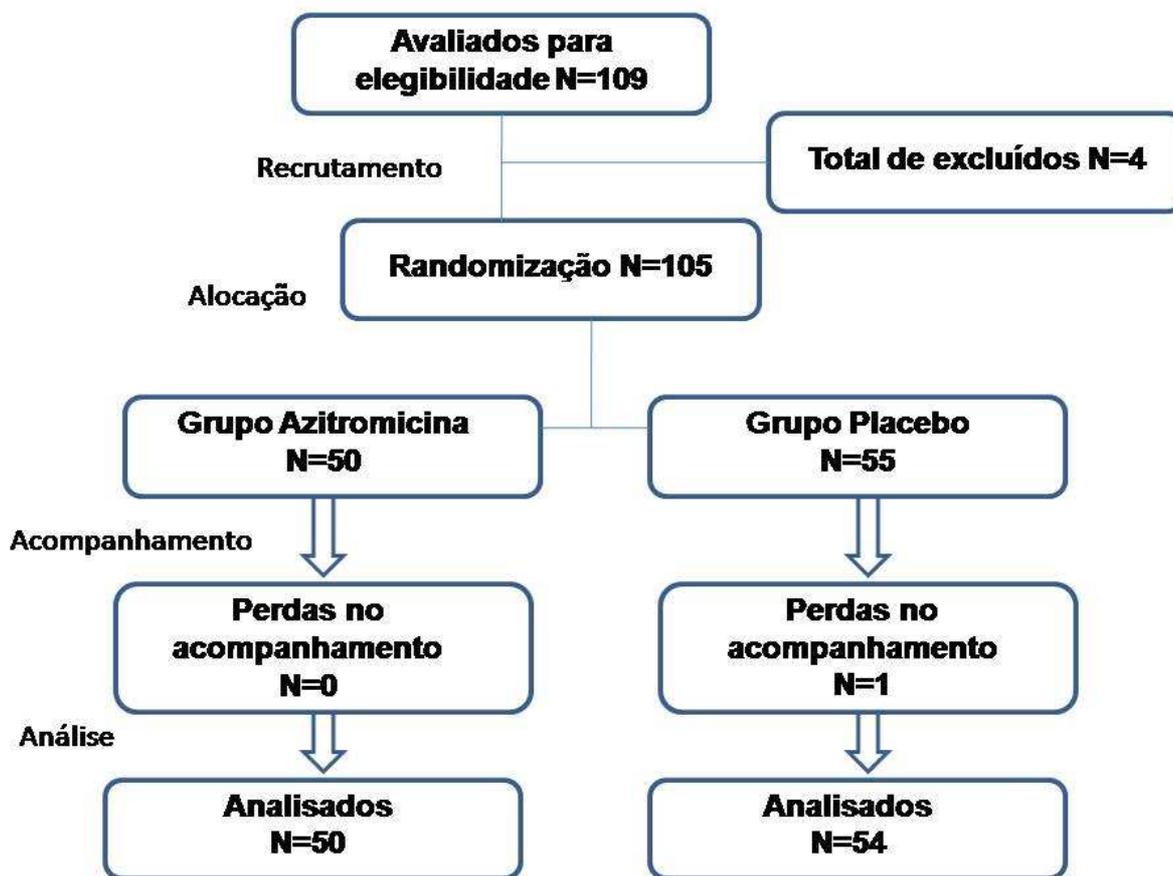


Figura 1- Fluxograma da randomização

TABELAS

Tabela 1 - Características clínicas dos pacientes randomizados para o tratamento com azitromicina ou placebo (N=105)

	Azitromicina (N=50)		Placebo (N=55)		p
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
Idade (meses)	3,44	2,57	3,41	2,74	0,958
Peso ao Nascimento (Kg)	3,15	0,41	3,28	0,49	0,163
Peso Internação (Kg)	5,68	1,80	5,88	1,92	0,588
Frequência Respiratória (/min)	46,74	8,23	52,26	13,30	0,013
Frequência Cardíaca (/min)	148,7	20,72	145,5	29,34	0,523
Tempo Amamentação (meses)	1,06	0,47	1,04	0,43	0,796
	N	%	N	%	p
Sexo Masculino	21	42,00	26	47,27	0,529
Retrações/Tiragens	49	98,00	52	94,54	0,604
História materna de asma	14	28,00	11	20,00	0,434
Uso de antibiótico na internação*	4	8,00	6	10,90	0,591
Uso de broncodilatador na internação	13	26,00	19	34,54	0,280

Obs: Para as variáveis contínuas foi realizado test T de Student e para as variáveis categóricas teste do Qui-quadrado de Pearson. p=Significância estatística. *Uso de outros antibióticos (não-macrolídeos).

Tabela 2- Detecção de vírus respiratórios nos pacientes randomizados para o tratamento com azitromicina ou placebo (N=101)*

	<i>Azitromicina (N=47)</i>		<i>Placebo (N=54)</i>		<i>p</i>
	<i>N</i>	<i>%</i>	<i>N</i>	<i>%</i>	
<i>Detecção Viral Positiva</i>	27	57,40	35	64,81	0,142
<i>VSR[#]</i>	24	51,06	33	61,11	0,289
<i>Influenza</i>	7	14,89	6	11,11	0,161
<i>Parainfluenza</i>	3	6,38	5	9,25	0,164
<i>Adenovírus</i>	2	4,26	1	1,85	0,147

Obs: Teste do Qui-quadrado de *Pearson*; * 4 Lactentes não realizaram coleta para pesquisa de vírus respiratórios (3 no grupo azitromicina e 1 no grupo placebo). [#] VSR = Vírus Sincicial Respiratório. Os números e os percentuais apresentados para os grupos devem considerar a existência de co-infecção.

Tabela 3- Desfechos principais entre os pacientes randomizados para o tratamento com azitromicina ou placebo (N=104)

	<i>Azitromicina (N=50)</i>	<i>Placebo (N=54)</i>	<i>p</i>
<i>TO₂ (média±dp)</i>	4,88 ± 2,75	5,87 ± 3,74	
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	4,50 (2,00-7,00)	5,00 (3,75-8,00)	0,213
<i>TIH(média±dp)</i>	5,42 ± 2,96	6,54 ± 3,56	
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	6,00 (3,00-7,00)	6,00 (3,00-9,00)	0,200

Obs: TO₂=Tempo de Uso de Oxigenoterapia; TIH=Tempo de Internação Hospitalar; As variáveis foram apresentadas em média ± desvio padrão (dp) e mediana - Intervalo Interquartil 25-75 (IQ); Significância estatística (p) calculada através do teste de *Mann-Withney*. O TO₂ e TIH foram medidos em dias.

Tabela 4- Desfechos principais entre os pacientes randomizados para o tratamento com azitromicina ou placebo - Análise em subgrupos (N=104)

	<i>Azitromicina (N=50)</i>	<i>Placebo (N=54)</i>	<i>p</i>
<3 meses	N=25	N=30	
<i>TO₂</i>			
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	5,00 (3,50-8,00)	5,00 (3,75-10,25)	0,586
<i>TIH</i>			
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	6,00 (4,50-7,50)	7,00 (4,00-11,25)	0,292
>3 meses	N=25	N=24	
<i>TO₂</i>			
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	3,00 (2,00-5,50)	5,00 (3,25-6,00)	0,161
<i>TIH</i>			
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	4,00 (2,00-7,00)	5,00 (3,00-6,00)	0,384
Vírus positivo	N=27	N=35	
<i>TO₂</i>			
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	5,00 (4,00-8,00)	6,00 (4,00-9,00)	0,558
<i>TIH</i>			
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	4,00 (6,00-9,00)	6,00 (5,00-11,00)	0,544
Vírus Negativo	N=20	N=19	
<i>TO₂</i>			
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	3,00 (2,00-5,00)	4,00 (2,00-5,00)	0,708
<i>TIH</i>			
<i>Mediana (25-75 IQ)</i>	5,00 (2,25-7,00)	5,00 (3,00-7,00)	0,531

Obs: TO₂=Tempo de Uso de Oxigenoterapia; TIH=Tempo de Internação Hospitalar; As variáveis foram apresentadas em mediana - Intervalo Interquartil (25-75 IQ); Significância estatística (*p*) calculada através do teste de *Mann-Whitney*. O TO₂ e TIH foram medidos em dias.

REFERÊNCIAS

1. Bronchiolitis SoDaMo. Diagnosis and Management of Bronchiolitis. *Pediatrics*. 2006;118:1774-93.
 2. Lakos AK, Gasparic M, Kovacic D, Pangercic A, Kukuruzovic MM, Barsic B. Safety and effectiveness of azithromycin in the treatment of respiratory infections in children. *Curr Med Res Opin*. 2011 Dec 1.
 3. Kanoh S, Rubin BK. Mechanisms of action and clinical application of macrolides as immunomodulatory medications. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Jul;23(3):590-615.
 4. Gielen V, Johnston SL, Edwards MR. Azithromycin induces anti-viral responses in bronchial epithelial cells. *Eur Respir J*. 2010 Sep;36(3):646-54.
 5. Friedlander AL, Albert RK. Chronic macrolide therapy in inflammatory airways diseases. *Chest*. 2010 Nov;138(5):1202-12.
 6. Desaki M, Takizawa H, Kasama T, Kobayashi K, Morita Y, Yamamoto K. Nuclear factor-kappa b activation in silica-induced interleukin 8 production by human bronchial epithelial cells. *Cytokine*. 2000 Aug;12(8):1257-60.
 7. 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.
 8. Tahan F, Ozcan A, Koc N. Clarithromycin in the treatment of RSV bronchiolitis: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Eur Respir J*. 2007 Jan;29(1):91-7.
 9. Kneyber MCJ vWJ, Uijtendaal E, Uiterwaal CSPM, Kimpen JLL. Azithromycin does not improve disease course in hospitalized infants with respiratory syncytial virus (RSV) lower respiratory tract disease: A randomised Equivalence Trial. *Pediatric Pulmonology*. 2008;43:142-9.
 10. Sparremerger DAH, Luisi F, Azevedo AV, Ribeiro AET, Wiemann AFWW, Conto BFC, Munhoz BZ, Morais EFM, Bergmann GA, Maróstica LC, Valiati LS, Spinelli LF, Sussela LAO, Nunes MR, Regert R, Lardi SL, Pinto LA, Stein RT. Características epidemiológicas e influência da coinfeção por vírus respiratórios na gravidade da bronquiolite aguda em lactentes. *Scientia Medica*. 2011;21(3):101-6.
 11. Willson DF, Jiao JH, Hendley JO, Donowitz L. Invasive monitoring in infants with respiratory syncytial virus infection. *J Pediatr*. 1996 Mar;128(3):357-62.
-

12. Friis B, Andersen P, Brenoe E, Hornsleth A, Jensen A, Knudsen FU, et al. Antibiotic treatment of pneumonia and bronchiolitis. A prospective randomised study. *Arch Dis Child*. 1984 Nov;59(11):1038-45.
 13. Kozyrskyj AL, Dahl ME, Ungar WJ, Becker AB, Law BJ. Antibiotic treatment of wheezing in children with asthma: what is the practice? *Pediatrics*. 2006 Jun;117(6):e1104-10.
 14. Behrendt CE, Decker MD, Burch DJ, Watson PH. International variation in the management of infants hospitalized with respiratory syncytial virus. International RSV Study Group. *Eur J Pediatr*. 1998 Mar;157(3):215-20.
 15. Korppi M, Leinonen M, Koskela M, Makela PH, Launiala K. Bacterial coinfection in children hospitalized with respiratory syncytial virus infections. *Pediatr Infect Dis J*. 1989 Oct;8(10):687-92.
 16. Jaye DL, Waites KB. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J*. 1997 Aug;16(8):735-46; quiz 46-7.
 17. Hyde TB, Gay K, Stephens DS, Vugia DJ, Pass M, Johnson S, et al. Macrolide resistance among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates. *JAMA*. 2001 Oct 17;286(15):1857-62.
 18. Akkerman AE, Kuyvenhoven MM, van der Wouden JC, Verheij TJ. Prescribing antibiotics for respiratory tract infections by GPs: management and prescriber characteristics. *Br J Gen Pract*. 2005 Feb;55(511):114-8.
 19. Esposito S, Blasi F, Arosio C, Fioravanti L, Fagetti L, Droghetti R, et al. Importance of acute *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* infections in children with wheezing. *Eur Respir J*. 2000 Dec;16(6):1142-6.
 20. Richeldi L, Ferrara G, Fabbri LM, Gibson PG. Macrolides for chronic asthma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002(1):CD002997.
 21. Mazumder M HM, Kabir A. Management of bronchiolitis with or without antibiotics - a randomised control trial. *Journal of Bangladesh College of Physicians and Surgeons*. 2009;27:63-9.
 22. Kabir A MA, Anwar K, Rahman A, Amin R, Rahman M. Management of bronchiolitis without antibiotics: a multicentre randomized control trial in Bangladesh. *Acta paediatrica*. 2009;98:1593-9.
 23. Spurling GK, Doust J, Del Mar CB, Eriksson L. Antibiotics for bronchiolitis in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011(6):CD005189.
-

CAPÍTULO IV

Conclusões

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse estudo permitem as seguintes conclusões:

1. O tratamento com antibiótico macrolídeo (azitromicina) não apresenta melhora na evolução clínica dos pacientes internados com BVA quando comparado ao grupo que recebeu placebo;
 2. O tratamento com antibiótico macrolídeo (azitromicina) não apresenta melhora no tempo de internação hospitalar dos pacientes internados com BVA;
 3. O tratamento com antibiótico macrolídeo (azitromicina) não apresenta melhora no tempo de necessidade de uso de oxigenoterapia dos pacientes internados com BVA.
-

ANEXOS

ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Ensaio clínico controlado e randomizado para avaliação da eficácia da azitromicina no tratamento da bronquiolite aguda

Esta carta tem como objetivo convidar seu filho(a) a participar de um trabalho sobre bronquiolite viral aguda (BVA) que está sendo conduzido pela Equipe de Pneumologia Pediátrica do Hospital São Lucas da PUCRS.

Bronquiolite viral aguda é uma doença do trato respiratório que causa obstrução inflamatória dos bronquíolos. Considerado o primeiro episódio de sibilância aguda do lactente, precedido de sintomas de trato respiratório superior, relacionados à infecção pelo Vírus Respiratório Sincicial (VRS). Seu diagnóstico é basicamente clínico, mas alguns exames podem confirmar o agente viral envolvido. Usa-se a técnica da Imunofluorescência direta e de PCR (*Polymerase Chain Reaction* - Reação em cadeia pela polimerase) para identificação do agente causador, bem como oximetria de pulso para a avaliação da gravidade e coleta de uma pequena amostra de sangue para analisar os fatores genéticos envolvidos na doença.

Nos casos que inspiram mais cuidados e que o paciente necessita de internação, o oxigênio é a principal forma de tratamento da bronquiolite. Ainda não se conhecem bem os efeitos de algumas medicações sobre esta doença. Uma destas medicações são os antiinflamatórios macrolídeos (Azitromocina), que atuam diminuindo agentes inflamatórios e diminuindo o “encatarramento”, mecanismos relacionados à BVA.

Antes de consentir com a participação de seu filho, solicitamos que vocês leiam as informações contidas nesse termo de consentimento.

OBJETIVOS DO ESTUDO

O objetivo deste trabalho é verificar como o paciente com bronquiolite responde à medicação (Azitromicina). Através de uma pequena amostra de secreção coletada no nariz das crianças e de uma análise no sangue, poderemos estudar os fatores genéticos que possam estar associados a esta doença e verificar se a medicação prescrita ao seu filho está fazendo efeito.

Este tipo de estudo pode auxiliar no estabelecimento de novas medidas terapêuticas da bronquiolite viral aguda.

DESCRIÇÃO DO ESTUDO

Gostaríamos de contar com sua colaboração no sentido de autorizar a participação de seu filho em nosso estudo. Se você concordar, será coletada uma pequena amostra de sangue e de secreção nasal do seu filho e este material será congelado para futuros estudos.

Com a sua permissão, o material biológico coletado será enviado ao Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) para ser processado e analisado. O restante será congelado para futuras pesquisas, onde serão extraídas frações de DNA que servirão

exclusivamente para estudos relacionados aos polimorfismos de alguns genes (IL-8 e Metaloproteinases). Em nenhum momento serão investigados outros fenótipos.

Através destas análises, pretendemos estudar as relações entre a gravidade da doença, risco de “chiado” e resposta imunológica (sistema de defesa do organismo) na BVA. Todos os resultados e dados pessoais coletados para esta pesquisa serão confidenciais.

Seu filho receberá tratamento com Azitromicina ou Placebo. A resposta ao tratamento será avaliada clinicamente. O benefício deste mesmo tratamento ainda não é estabelecido. Apesar de ainda não existir um tratamento específico para esta doença, todas as outras medicações de rotina para a bronquiolite serão mantidas sem nenhum prejuízo ao tratamento de seu filho.

DIREITO DE SOLICITAR A DESTRUIÇÃO DO MATERIAL

Se em algum momento você ou seu filho não concordarem mais com a utilização do material para estudos, você tem o direito de solicitar a destruição do material. A solicitação será realizada prontamente e vocês têm o direito de decidir quando ocorrerá a destruição do material, sem nenhum prejuízo ao tratamento de seu filho.

DIREITO DE CANCELAR A PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Os participantes e/ou representantes podem em qualquer momento cancelar sua participação neste estudo. Isto não influenciará o andamento do estudo e seus resultados futuramente, nem no tratamento de seu filho pela equipe.

RISCOS E DESCONFORTOS

Não há grandes riscos associados à coleta de sangue. A coleta de sangue pode causar desconforto, dor local e, ocasionalmente, mal-estar e tontura. Somente pessoas treinadas serão responsáveis pela coleta. As coletas serão programadas para que ocorram no mesmo momento de alguma coleta de exames solicitadas pelo médico assistente.

BENEFÍCIOS

Ao participar do nosso estudo você pode auxiliar os pesquisadores a melhorar os conhecimentos sobre a bronquiolite viral aguda. Isto pode trazer benefícios para a prevenção e tratamento da doença futuramente.

CONFIDENCIALIDADE

Os dados médicos e os resultados individuais dos estudos genéticos são confidenciais e não poderão ser utilizadas para outros objetivos que não estejam descritos neste termo. Os resultados deste estudo deverão ser publicados, mas a identidade dos participantes não será revelada em nenhum momento. As amostras de sangue ou DNA serão armazenadas apenas com seu registro, sem o nome ou iniciais. Somente os pesquisadores poderão identificar a origem das amostras. O Comitê de Ética e Pesquisa da PUCRS poderá ter acesso aos dados da pesquisa para poder assegurar que seus direitos estão sendo protegidos.

CUSTOS

Não haverá custos para os participantes do estudo. Você e seu filho também não receberão nenhum pagamento pela participação neste estudo.

QUESTÕES

Se você tiver qualquer dúvida sobre seus direitos como participante do estudo, você pode ligar e contatar com o Dr. Leonardo A. Pinto (51) 3320-3000, ramal 2313 ou contatar a Dra. Fernanda Luisi (51) 9157-7425, assim como entrar em contato com o Comitê de Ética e Pesquisa da PUCRS (51) 3320-3345, e contatar o coordenador Prof. José Roberto Goldim.

CONCORDÂNCIA DOS PARTICIPANTES

Nós compreendemos que, ao participar deste estudo, nós concordamos em:

A. Fornecer uma amostra de sangue e uma amostra de secreção nasal, que será armazenada, processada e utilizada para pesquisas sobre a avaliação da resposta ao tratamento com Azitromicina em lactentes internados com bronquiolite por vírus Sincicial Respiratório ou outras doenças respiratórias.

() Sim

B. Ser contatados futuramente para a possibilidade de estudos adicionais com relação a bronquiolite viral aguda ou outras doenças respiratórias.

() Sim () Não

ASSINATURAS

Sua assinatura abaixo demonstra que você recebeu leu este termo, recebeu todas as informações relacionadas ao estudo proposto, esclareceu suas dúvidas e concordou com a participação de seu filho em nosso estudo.

Nome do responsável legal () mãe () pai () outros: _____

Assinatura

Contatos: () _____
() _____

Data: ____/____/____

Assinatura do pesquisador

ANEXO 2 - PROTOCOLO DA PESQUISA:**Questionário**

Nº paciente: _____

Coletadores:

Questionário: _____

Termo Consentimento: _____

Aspirado Nasal: _____

1. Dados do paciente:

1.1 Nome completo: _____

1.2 Data de Nascimento: ____/____/20____.

1.3 Número do prontuário (Registro): _____

1.4 Nome COMPLETO da mãe: _____

1.5 Endereço: _____

1.6 Cidade: _____

1.7 Telefones: _____

1.8 Outra forma de contato: _____

1.9 Data da internação: ____/____/20____.

1.10 Peso na internação: _____ Kg.

1.11 Hospital: 1- PUCRS1.12 Unidade: 1- Emergência-SUS 2- Internação 3- UCEP 4- UTIP**2. Clínica na chegada ao serviço:**

2.1) Motivo da internação: _____

2.2) Data de início dos sintomas: ____/____/____

2.3) FR: _____ rpm 2.4) FC: _____ bpm 2.5) SpO₂ chegada AA: _____ %2.6) Uso de O₂: 1- Sim: _____ Litros 2- Não2.7) Sibilância 1- Sim 2- Não

2.8) Tiragens:

1- Sim: Costal Subcostal Intercostal Fúrcula 2- Não

Tipo: Leve Moderada Grave Outra: _____

3. Características demográficas:

2.1 Seu filho é: 1) Menino 2) Menina

2.2 Seu filho nasceu no Brasil? 1) Sim 2) Não Qual país? _____

2.3 Em que ano nasceu a **mãe** do menino (a): _____ Idade: _____

2.4 Em que ano nasceu o **pai** do menino (a): _____ Idade: _____

2.5 Escolaridade dos pais?

Mãe: 1) Colégio: Não Sim

Pai: 1) Colégio: Não Sim

Se sim, até que série: _____

Se sim, até que série: _____

2) Universidade: Não Sim

2) Universidade: Não Sim

2.6 Quem respondeu o questionário: Pai Mãe Outra pessoa Quem? _____

2.7 Em que dia o questionário foi preenchido: ____/____/20____.

4. História Médica Progressiva:

4.1 Alguma vez na vida seu filho(a) teve chiado (tipo miado de gato ou apito) no peito antes deste episódio?

Não Sim Quantas vezes? _____

4.2 Alguma vez na vida seu filho(a) teve BVA ou outra doença no pulmão?

Não Sim Qual: _____

4.3 Alguma vez na vida seu filho(a) esteve internado?

Não Sim Qual motivo: _____

Se internou por “chiado”, quantas vezes? _____

4.4 Alguma vez na vida seu filho(a) realizou Nebulização?

Não Sim Somente com Soro: _____

Se com medicação, qual (BD+CI): _____

4.5 Seu filho apresentou alguma vez na vida manchinhas avermelhadas na pele que coçavam, e que iam ou voltavam por menos de seis meses?

Não Sim Se Sim, quando? _____

4.6 Seu filho teve alguma vez na vida eczema ou dermatite atópica?

Não Sim Se Sim, quando? _____

4.7 Seu filho/a tem apresentado o peito congestionado ou encatarrado com tosse com secreção quando **tem** resfriado?

Não Sim

4.8 Seu filho/a tem apresentado o peito congestionado ou encatarrado com tosse com secreção quando **NÃO tem** resfriado?

Não Sim

5. Os primeiros dias:

5.1 Quanto pesou seu filho/a ao nascer? (ver carteirinha) _____

Menos de 1500 g

de 1500 a 1999 g Descreva o peso: _____

de 2000 a 2499 g

de 2500 a 3499 g

Mais de 3500 g

Não sei

5.2 Com quantas semanas de gestação seu filho nasceu? (ver carteirinha)_____

Obs:_____

5.3 Tipo de Parto? Normal Cesária

5.4 Seu filho tem irmãos ou irmãs? Não Sim

Se sim, quantos irmãos? Quantas irmãs? Quais as idades?

Irmãos _____ n° _____ Idades _____

Irmãs _____ n° _____ Idades _____

5.5 Seu filho/a foi amamentado no peito?

Não Sim

Em caso afirmativo, durante quanto tempo? (descreva)_____

Menos de 6 meses

6-12 meses

Mais de um ano

Em caso afirmativo, durante quanto tempo foi amamentado ao peito **sem acrescentar** outros alimentos ou sucos?(descreva)_____

Menos de dois meses

2-4 meses

5-6 meses

Mais de 6 meses

5.6 Seu filho freqüentou creche alguma vez na vida?

Não Sim Desde que idade?_____

5.7 Seu filho está freqüentando a creche atualmente?

Não Sim

6. Vacinas

6.1 A **mãe** da criança teve alguma das seguintes doenças?

(Marcar todas as opções que parecerem corretas)

Asma Sim Não

Alergia de nariz ou rinite alérgica Sim Não

Eczema atópico ou dermatite alérgica Sim Não

6.2. O **pai** da criança teve alguma das seguintes doenças?

(Marcar todas as opções que parecerem corretas)

Asma Sim Não

Alergia de nariz ou rinite alérgica Sim Não

Eczema atópico ou dermatite alérgica Sim Não

6.3. Seu filho/a foi vacinado para qualquer das seguintes doenças? (**ver carteirinha!**)

1) **DTP:** (vacina contra difteria, tétano e coqueluche- vacina tríplice bacteriana)

Não

Sim Em caso afirmativo, com que idade? _____

2) **SCR:** (vacina contra sarampo, caxumba e rubéola)

Não

Sim Em caso afirmativo, com que idade? _____

3) **Tuberculose/BCG:** (vacina contra a [tuberculose](#): Bacilo de Calmette-Guérin)

Não Sim Em caso afirmativo, com que idade? _____

4) **Outras Vacinas:** (descreva) _____

7. Doenças:

7.1 Vermes (ou lombriga):

Não Sim

7.2 Outras Doenças Associadas:

Não Sim

Se Sim, Qual (Quais)? _____

Se Sim, Quando? _____

8. Tratamento na Internação: 1- sim 2- Não

8.1) Medicações em uso na Internação: 1- Beta-2 2- Corticóide Oral

3- Corticóide EV 4- ATB: Via: 1- Oral: Qual? _____

2- EV: Qual? _____

8.2) Antibiótico iniciado nesta internação: 1- Sim Qual? _____

2- Não 2- uso anterior à chegada ao Serviço

9. Exame de IPAS para Vírus foi realizado?: 1- sim 2- não

Resultado **positivo** para:

4.1) VSR **OBS:** _____

4.2) Influenza _____

4.3) Parainfluenza _____

4.4) Adenovírus

Esta criança é classificada: 1º episódio de BVA Lactente Sibilante

9.1 Outros exames realizados: RX _____

Outro: _____

10. Hemograma: 1- sim 2- não

10.1) Hemoglobina: _____ 10.2) Hematócrito: _____ % 10.3) Leucócitos totais: _____

10.4) Neutrófilos: _____ % 10.5) Bastonados: _____ % 10.6) Linfócitos: _____ %

10.7) Monócitos: _____ % 10.8) Eosinófilos: _____ % 10.9) Mielócitos: _____ % 10.12)

Granulações tóxicas em neutrófilos: 1- Sim 2- Não

11. Saturação de O₂ em Ar Ambiente (mensuração diária feita no hospital):

1º dia: ___/___/20___ = _____% 6º dia: ___/___/20___ = _____%

2º dia: ___/___/20___ = _____% 7º dia: ___/___/20___ = _____%

3º dia: ___/___/20___ = _____% 8º dia: ___/___/20___ = _____%

4º dia: ___/___/20___ = _____% 9º dia: ___/___/20___ = _____%

5º dia: ___/___/20___ = _____% 10º dia: ___/___/20___ = _____%

OBS: _____

Medicação do Estudo (MACRO): Data Início (D1): ___/___/20___ .

Fim (D7): ___/___/20___ .

Nº frasco: _____ Hora administração: _____ (1ª dose)

ANEXO 3

**ARTIGO PUBLICADO COM DADOS PARCIAS RELACIONADOS A COLETA DE
DADOS DESTA TESE**

Características epidemiológicas e influência da coinfeção por vírus respiratórios na gravidade da bronquiolite aguda em lactentes

Epidemiological surveillance and influence of co-infection by respiratory viruses in the severity of acute bronchiolitis in infants

Dionéia A. H. Sparremberger¹, Fernanda Luisi², Adriana V. Azevedo³, Ana Eliza T. Ribeiro³, Anathácia F. W. Wiemann³, Bruna F. de Conto³, Bruna Z. Munhoz³, Elisa F. M. Morais³, Gabriela A. Bergmann³, Laura C. Maróstica³, Leticia S. Valiati³, Luis F. Spinelli³, Luis A. O. Sussela³, Marcela R. Nunes³, Rebeca Regert³, Silvia L. Lardi³, Leonardo A. Pinto⁴, Renato T. Stein⁵

¹ Enfermeira, Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

² Fisioterapeuta, Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

³ Acadêmicos da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

⁴ Médico, Doutor em Saúde da Criança pela Universidade Estadual de Campinas. Professor da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

⁵ Médico, Doutor em Pneumologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professor da Faculdade de Medicina e Coordenador do Programa de Pós-graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

RESUMO

Objetivos: estudar as características epidemiológicas da bronquiolite viral aguda em uma amostra de lactentes de Porto Alegre e comparar a gravidade da doença entre pacientes com um ou mais agentes virais.

Métodos: um estudo transversal, realizado entre setembro de 2009 e setembro de 2010, incluiu lactentes de até 12 meses de idade com diagnóstico de bronquiolite viral aguda, que estavam internados nas unidades pediátricas do Hospital São Lucas da PUCRS e haviam iniciado com sintomas de vias aéreas inferiores até 72 horas antes da inclusão. A pesquisa de vírus respiratórios foi realizada em amostras de secreção nasofaríngea, por imunofluorescência direta.

Resultados: foram coletadas 71 amostras de um total de 73 pacientes, cuja média de idade foi de 3,3 meses. Do total das amostras coletadas, 61,97% (44/71) foram positivas para vírus. Destas, 70,46% (31/44) foram positivas para apenas um vírus e 29,54% (13/44) para dois ou mais vírus. O vírus sincicial respiratório foi o mais comum (86,36%), seguido pelo influenza (27,27%). Utilizando os desfechos tempo de internação e tempo de uso de oxigênio, não foi observada associação entre presença de coinfeção e gravidade da bronquiolite.

Conclusões: o estudo demonstrou uma positividade geral elevada para vírus, com a predominância do vírus sincicial respiratório. Foi demonstrado também um alto índice de coinfeção viral. Não houve efeito adicional, pela presença de mais de um tipo de vírus, na gravidade da bronquiolite. Não se pode excluir a possibilidade de que a combinação com outros vírus, não identificados neste estudo, possa influenciar a gravidade da bronquiolite viral aguda.

DESCRITORES: BRONQUIOLITE VIRAL/epidemiologia; BRONQUIOLITE VIRAL/etiologia; VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO HUMANO; LACTENTE; HOSPITALIZAÇÃO; COINFEÇÃO; ESTUDOS TRANSVERSAIS.

ABSTRACT

Aims: To evaluate the epidemiologic characteristics and to compare the seriousness of the infection between one or more than one viral agents in infants hospitalized with acute viral bronchiolitis.

Methods: A cross-sectional study conducted between September 2009 and September 2010 included infants up to 12 months of age diagnosed with acute viral bronchiolitis, who were admitted to the pediatric units of the Hospital São Lucas da PUCRS and had started with lower airways symptoms to 72 hours before inclusion. Testing for respiratory viruses was performed on nasopharyngeal specimens by direct immunofluorescence.

Results: Seventy one samples were collected from a total of 73 patients, whose mean age was 3.3 months. Of the total samples collected, 61,97% (44/71) were positive for virus. Of these, 70,46% (31/44) were positive for one virus and 29,54% (13/44) for two or more viruses. Respiratory syncytial virus was the most common (86,36%), followed by parainfluenza (27,27%). Using the outcomes length of hospital stay and time of use of oxygen, there was no association between the presence of coinfection and severity of bronchiolitis.

Conclusions: The study demonstrated a high overall positivity for viruses, with the predominance of respiratory syncytial virus. A high rate of viral coinfection was also showed. There was no additional effect of the presence of more than one type of virus on the severity of bronchiolitis. We can not exclude the possibility that the combination with other viruses, unidentified in this study, may influence the severity of acute viral bronchiolitis.

KEY WORDS: BRONCHIOLITIS, VIRAL/epidemiology; BRONCHIOLITIS, VIRAL/etiology; RESPIRATORY SYNSYTIAL VIRUS, HUMAN; INFANT; HOSPITALIZATION; CO-INFECTION; CROSS-SECTIONAL STUDIES.

Recebido: junho de 2011; aceito: setembro de 2011.

Endereço para correspondência/Corresponding Author:
LEONARDO ARAUJO PINTO
Hospital São Lucas da PUCRS - Av. Ipiranga, 6690
CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil
Tel.: (51) 3320-3000, ramal 2313
E-mail: leonardo.pinto@pucrs.br

INTRODUÇÃO

A bronquiolite viral aguda (BVA) é uma doença inflamatória aguda do trato respiratório inferior, resultando em obstrução das vias aéreas de pequeno calibre.¹ É a principal causa de internações de lactentes e é causada por vírus sazonais, sendo o mais comum o vírus sincicial respiratório (VSR). Outros agentes associados à síndrome clínica da BVA são: adenovírus (VA), rinovírus (RiV), parainfluenza (VP) tipos 1, 2 e 3, influenza (VI) e metapneumovírus humano (MPV-h).²

O diagnóstico de BVA em geral é clínico, caracteriza-se como primeiro episódio de sibilância do lactente, acompanhado de coriza, tosse e febre, que pode evoluir com taquipnéia e sinais de dificuldade ventilatória.^{2,3} Para confirmação do agente viral, utiliza-se a técnica da imunofluorescência direta (IFD) ou a reação em cadeia da polimerase (PCR – *polymerase chain reaction*).^{1,4,5}

A maioria dos casos tem um curso leve, porém, entre 0,5 e 2% dos pacientes desenvolvem quadro grave, necessitando de hospitalização.⁶ No Brasil, foram registradas 1.816.218 internações de crianças abaixo de cinco anos de idade, decorrentes de doenças respiratórias, entre os anos de 2003 a 2007.^{7,8} No Rio Grande do Sul alguns estudos investigaram a incidência dos vírus na bronquiolite, demonstrando também que há um predomínio do VSR.^{7,8}

Considerando que as infecções respiratórias de vias aéreas inferiores no lactente apresentam elevada morbidade, a avaliação da prevalência de vírus respiratórios é importante para o melhor entendimento das características epidemiológicas destas infecções em países em desenvolvimento.^{9,10} Com a utilização rotineira das técnicas de investigação etiológica tornou-se frequente a identificação de mais de um agente viral numa mesma amostra. O impacto da infecção por dois ou mais vírus não está bem esclarecida na literatura, especialmente a relação entre a coinfeção e a gravidade clínica da doença.¹¹⁻¹³

Dependendo da amostra estudada, da época do ano e do método de identificação viral, existem variações na prevalência dos vírus e das associações por diferentes agentes. Apesar dessas variações, o VSR geralmente é o vírus predominante em frequência na maioria das amostras.^{12,14} Alguns estudos investigando a coinfeção entre VSR e outros vírus demonstram uma maior gravidade e a necessidade de internação em unidade de terapia intensiva.¹⁵⁻¹⁸ Porém, em contrapartida, outros trabalhos mais recentes demonstraram que não houve um aumento na gravidade dos pacientes com coinfeção. Considerando-se estes dados, não há evidências suficientes

para uma definição quanto à relação entre gravidade e coinfeções virais.¹⁹⁻²¹

No presente estudo, foram avaliadas a ocorrência de infecções e coinfeções por vírus respiratórios em lactentes com BVA, bem como a associação entre coinfeção e desfechos relacionados à gravidade da doença.

MÉTODOS

Este foi um estudo transversal, com lactentes de até 12 meses de idade, com diagnóstico de BVA, que estavam internados pelo Sistema Único de Saúde nas unidades pediátricas do Hospital São Lucas da PUCRS – Emergência, Unidade de Cuidados Especiais Pediátrica (UCEP), Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP) e Internação – e que haviam iniciado com sintomas de vias aéreas inferiores até 72 horas antes da inclusão. O estudo foi realizado no período entre setembro de 2009 e setembro de 2010. Este estudo está associado a um ensaio clínico randomizado e controlado por placebo para avaliar a eficácia da azitromicina no tratamento da BVA, que está em andamento e terá dois anos de duração. Foram observados os seguintes critérios de exclusão: histórico de doenças pulmonares relacionadas à prematuridade (como displasia broncopulmonar); episódio prévio de sibilância ou internação por BVA; cardiopatias; pneumopatias crônicas (em especial fibrose cística); pacientes com suspeita clínica de coqueluche ou que haviam feito uso de antibiótico macrolídeo previamente; pacientes de difícil seguimento (filhos de mães usuárias de drogas ou com histórico de doenças psiquiátricas); e pacientes cujos responsáveis recusaram-se a participar da pesquisa.

Os pacientes que se adequaram aos critérios de inclusão foram arroladas para o estudo e submetidos à coleta de dados e do lavado nasofaríngeo para pesquisa de vírus respiratórios por pesquisadores devidamente treinados. Foi realizado exame físico dirigido para avaliação do quadro clínico de cada paciente (incluindo padrão respiratório, tiragem) e discutido com a equipe médica da emergência o grau de gravidade. As coletas para pesquisa de vírus foram realizadas após a internação da criança, nas primeiras 24 horas. Após, foram realizados registros diários, até a alta, de dados clínicos e evolução dos participantes, incluindo sinais vitais, oximetria de pulso, necessidade de oxigenoterapia e duração da internação. O critério de alta hospitalar foi melhora do quadro clínico e saturação em ar ambiente acima de 94%.

A coleta de secreção foi feita por técnica rotineira e a pesquisa de vírus foi realizada por IFD, que pesquisa antígenos em células ou tecidos através de um anticorpo

específico marcado com fluorocromo (conjugado). Foi utilizado o kit *Respiratory Virus Panel* (Biotrin, Dublin, Irlanda) para a pesquisa de anticorpos monoclonais grupo-específicos e tipo-específicos, para detecção direta e confirmação de cultura. Foram pesquisados os vírus VSR, VI, VP 1, 2 e 3 e VA 1 e 2.

O estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (registro 09/04678). Um termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado pelos responsáveis pelos pacientes, manifestando pleno acordo com sua realização. A identidade dos participantes foi mantida em sigilo.

Para a análise estatística foram consideradas as seguintes variáveis: prevalência de infecções por vírus respiratórios, tempo de internação hospitalar e tempo de uso de oxigenoterapia, bem como as variáveis demográficas coletadas através do questionário. Para descrição dos dados foram utilizadas média e desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil para as variáveis quantitativas; porcentagem para as variáveis qualitativas. Para investigar associação entre as variáveis foi utilizado teste t de *Student* para amostras independentes, para comparação de média das variáveis contínuas entre dois grupos; e ANOVA para comparar as diferenças (variâncias) entre três grupos independentes. O nível de significância foi de $p \leq 0,05$. A análise dos dados foi realizada com o programa SPSS versão 17.0.

RESULTADOS

No período do estudo foram incluídos 73 pacientes, com média de idade de 3,3 meses ($dp \pm 2,5$ meses), sendo 57,5% (42/73) do sexo masculino. Com relação às variáveis clínicas, observamos que 95,89% (70/73) das crianças apresentavam tiragem (retrações costais, subcostais e intercostais); e que 98,63% (72/73) das crianças necessitaram oxigenoterapia, com duração média de 5,3 dias. O tempo médio de internação foi de seis dias e o tempo de sibilância durante a internação hospitalar foi de quatro dias. Com relação à necessidade de cuidados especiais ou de cuidados intensivos, verificamos que 8,21% (6/73) dos pacientes foram encaminhados à UCEP e 4,10% (3/73) à UTIP (Tabela 1).

Foram coletadas amostras de secreção nasal para pesquisa de vírus em 97,26% dos pacientes (71/73). O número de amostras positivas foi de 61,97% (44/71). Destas, 70,46% (31/44) foram positivas para apenas um vírus, 18,18% (8/44) para dois vírus e 11,36% (5/44) para três vírus. Com relação à prevalência dos vírus pesquisados, o VSR foi o mais prevalente,

sendo seguido do VI e do VP e, por último, do VA (Tabela 2). A Figura 1 mostra a prevalência mensal dos três principais vírus identificados.

Tabela 1. Características descritivas dos pacientes incluídos no estudo: variáveis clínicas.

	N total = 73
Sexo masculino N (%)	42 (57,5)
Idade (meses) (média \pm dp)	3,3 \pm 2,5
Peso (kg) (média \pm dp)	5,630 \pm 1,85
Frequência respiratória (média \pm dp)	50,27 \pm 12,13
Nascidos de parto normal N (%)	57 (78,08)
Sibilância N (%)	63 (86,30)
Presença de tiragem N (%)	70 (95,89)
Tipo de tiragem N (%)	
Costal	4/70 (5,71)
Subcostal	48/70 (57,14)
Intercostal	1/70 (1,42)
Associações	17/70 (24,28)
Gravidade da tiragem N (%)	
Leve	18/70 (25,71)
Moderada	49/70 (70)
Grave	3/70 (4,28)
Prematuridade (<37 semanas) N (%)	15 (20,54)
Amamentação N (%)	68/73 (93,15)
Tempo de amamentação exclusiva N (%)	
Nunca exclusivamente	4/68 (5,88)
Menos de 2 meses	36/68 (52,94)
Entre 2-4 meses	20/68 (29,41)
Entre 4-6 meses	5/68 (7,35)
Mais que 6 meses	3/68 (4,41)
Tempo de oxigenoterapia (dias) (média \pm dp)	5,3 \pm 3
Uso de broncodilatador spray N (%)	28 (38,35)
Uso de corticóide oral N (%)	6 (8,21)
Tempo de internação hospitalar (dias) (média \pm dp)	6 \pm 3,2
Saturação transcutânea de oxigênio na alta (%) (média \pm dp)	97,54 \pm 1,69

Tabela 2. Prevalência de vírus respiratórios e coinfeção nos 71 lactentes nos quais foram coletadas amostras de secreção nasal para pesquisa de vírus por imunofluorescência direta (entre 73 pacientes com primeiro episódio de sibilância, internados pelo Sistema Único de Saúde nas unidades pediátricas do Hospital São Lucas da PUCRS em 2010).

	N (%)
Negativo para Vírus	27/71 (38,03)
Positivo para Vírus	44/71 (61,97)
Presença de 1 vírus	31/44 (70,45)
Presença de 2 vírus	8/44 (18,18)
Presença de 3 vírus	5/44 (11,36)
Vírus Sincicial Respiratório (VSR)	38/44 (86,36)
Vírus Influenza (VI)	12/44 (27,27)
Vírus Parainfluenza (VP)	10/44 (22,72)
Vírus Adenovírus (VA)	2/44 (4,54)

Sparremberger DAH et al. – Características epidemiológicas e influência da coinfeção por vírus ...

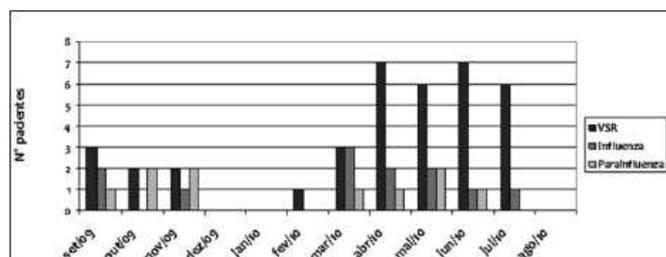


Figura 1. Prevalência mensal dos três principais vírus detectados por imunofluorescência direta no ano de 2010, em 71 lactentes com primeiro episódio de bronquiolite viral aguda, internados pelo Sistema Único de Saúde nas unidades pediátricas do Hospital São Lucas da PUCRS, que haviam iniciado com sintomas até 72 horas antes. Todos os casos de bronquiolite atendidos em agosto tinham história de sibilância anterior, não preenchendo os critérios de inclusão no estudo.

VSR: Vírus Sincicial Respiratório.

Os pacientes que apresentaram coinfeção viral foram 29,54% (13/44). Dentre os 61,53% (8/13) que apresentaram positividade para dois vírus, as combinações encontradas foram: VP+VSR em 50% (4/8); VI+VSR em 37,5% (3/8); e VI+VP em 12,5% (1/8) das amostras. Dentre os 38,46% (5/13) dos pacientes que apresentaram positividade para três vírus, verificamos as seguintes combinações: VI+VP+VSR em 60% (3/5); VI+VP+VA em 20% (1/5); e VI+VA+VSR em 20% (1/5) das amostras analisadas. Utilizando os desfechos tempo de internação e tempo de uso de oxigênio, não foram observadas associações entre a presença de coinfeção e gravidade da BVA ($p > 0,05$; Tabelas 3 e 4). Quando utilizamos o desfecho internação em UCEP e UTIP, também não foram observadas diferenças significativas. Quanto às variáveis que poderiam ser fatores de risco para coinfeção (tempo de amamentação, número de irmãos, frequência em creches), não houve diferença significativa entre coinfectados e controles.

DISCUSSÃO

Neste trabalho foram investigados quatro vírus respiratórios através da técnica IFD, que conferiu positividade de 61,97% do total das amostras coletadas, indo ao encontro da literatura, que refere uma taxa de identificação viral de 45 a 70%, com esta técnica.^{9,10} Dos vírus pesquisados, o VSR, habitualmente, é o mais prevalente em lactentes hospitalizados com BVA.¹² Calegari et al. descreveram uma taxa de positividade para VSR de 54% em suas amostras de crianças menores de um ano, com diagnóstico de BVA ou pneumonia.¹³ Esta informação pode ser comparada aos nossos achados, que identificaram infecção por VSR em 84,44% das amostras positivas.

Com relação à incidência das infecções por vírus respiratórios em diferentes períodos do ano, mostrada na Figura 1, fica evidente o fato da bronquiolite ser uma doença sazonal, com ocorrência maior nos meses de outono e inverno. Este estudo confirma que a BVA

Tabela 3. Relação entre coinfeção e gravidade da bronquiolite (avaliada pelo tempo de internação e necessidade de oxigenoterapia), comparando pacientes com resultado negativo (grupo A), com detecção de apenas um vírus (grupo B) e com coinfeção (detecção de dois ou mais vírus, grupo C).

	Grupo A N=27 (Negativo)	Grupo B N=31 (Positivo 1 vírus)	Grupo C N=13 (Coinfeção)	Significância (p) [*]
Internação (dias)	5,30 ± 3,68	6,26 ± 2,88	5,23 ± 2,94	0,605
Oxigenoterapia (dias)	4,96 ± 4,30	5,87 ± 2,54	5,31 ± 2,72	0,748

* Teste ANOVA, SPSS.

Tabela 4. Relação entre coinfeção e gravidade da bronquiolite, comparando pacientes com coinfeção versus todos os outros pacientes incluídos no estudo.

	Controles N=58 (51% placebo [*])	Coinfeção N=13 (46% placebo [*])	Significância (p) ^{**}
Internação (dias)	5,81 ± 3,2	5,23 ± 2,9	0,561
Oxigenoterapia (dias)	5,45 ± 3,47	5,31 ± 2,72	0,892

* Este estudo está associado a um ensaio clínico randomizado e controlado por placebo para avaliar a eficácia da azitromicina no tratamento da bronquiolite viral aguda, não havendo diferença no número de pacientes randomizados para receber placebo ou intervenção nos grupos comparados nesta análise.

** Teste t de Student, SPSS.

constitui-se em um problema de saúde pública, devido à alta demanda de pacientes em emergências pediátricas e hospitalizações durante o período de inverno. Note-se que o estudo recrutou apenas pacientes com o primeiro episódio de sibilância. Em agosto houve casos de bronquiolite, porém todos os pacientes apresentavam sibilância recorrente ou início dos sintomas há mais de 72 horas (critérios de exclusão). Provavelmente, a explicação para este achado está relacionada ao período final do inverno, quando a maior parte dos pacientes já teve contato com os vírus em meses anteriores. Além disso, também é importante considerar que a temporada de VSR iniciou cedo em 2010, o que se reflete no número de vírus identificados em março.

Nossos resultados mostraram que o VSR esteve presente tanto em lactentes com infecção por um único agente viral como nos casos de coinfeção. Com relação à prevalência dos demais vírus pesquisados, o VI foi o segundo vírus mais prevalente, seguido do VP e, por último, do VA. Dado este que contraria outros estudos, que identificaram o VA como o segundo vírus mais prevalente.^{15,17}

A importância da detecção de agentes virais múltiplos em secreção de nasofaringe é um assunto relevante e controverso. Geralmente, consideramos um quadro de coinfeção quando os agentes virais envolvidos são conhecidamente patogênicos.¹⁶⁻¹⁸ A literatura nos mostra que a ocorrência de coinfeções por vírus respiratórios é variável (15 a 30%).^{17-19, 24} Os resultados deste estudo mostram que quase 30% das crianças infectadas apresentaram coinfeção viral, confirmando dados dos estudos citados anteriormente.

O significado clínico da codetecção de dois ou mais agentes virais ainda é motivo de investigação na literatura científica, principalmente no que diz respeito às formas mais graves da BVA. Atualmente, os efeitos da coinfeção sobre o organismo das crianças ainda são pouco conhecidos. Muitos são os fatores estudados como possíveis determinantes da gravidade das infecções respiratórias virais, bem como a variação da resposta imunológica frente à presença de um único ou mais agentes virais.²¹⁻²²

Alguns estudos relatam uma relação positiva entre coinfeção e gravidade. Greensill²² estudou, durante um ano, crianças com BVA por VSR, em ventilação mecânica, e constatou que 70% destas apresentaram coinfeção MPV-h, sugerindo que a associação entre VSR e MPV-h possa ser um determinante na gravidade da doença. Semple et al.²³ também sugeriram que coinfeção entre MPV-h e VSR foi indicativa de gravidade da doença, aumentando a necessidade de cuidados intensivos e uso de VM. Nos estudos

de Richard¹⁹ também foram encontradas relações entre coinfeção e gravidade da doença, visto que a necessidade de internação em uma unidade de tratamento intensivo foi maior nas crianças coinfectadas do que nas que tiveram infecção por um único agente viral. No estudo de Paranhos-Baccala²⁴ a associação do VSR ao MPV-h e/ou ao RiV também determinou maior severidade na doença.

Por outro lado, Canducci²⁴ relata maior gravidade de infecções únicas por VSR quando comparadas às infecções por VSR e MPV-h em crianças hospitalizadas. As infecções únicas por VSR foram associadas à maior tempo de hospitalização e hipóxia.^{12,13} Em trabalho publicado recentemente, Nascimento²¹ encontrou um índice de 40% de coinfeções em seu estudo, porém não encontrou relação entre gravidade da doença e infecção por mais de um agente viral.

Nosso estudo não observou diferenças significativas com relação à gravidade da doença entre crianças infectadas por um único agente viral e coinfectadas. Resultados semelhantes em alguns trabalhos têm sugerido que a presença simultânea de mais de um patógeno viral em doença respiratória aguda pode não estar relacionada com uma manifestação clínica mais grave.²¹⁻²⁵ Estes dados são comparáveis aos de Marguet et al.,²⁰ que demonstraram que a gravidade da infecção concomitante RiV/VSR foi comparável à observada nas crianças com infecção única por VSR.

O avanço tecnológico tem contribuído para o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico e tratamento cada vez mais rápidas, precisas e eficientes como a PCR.¹⁰ Contudo, apesar de nosso estudo não encontrar associação entre detecção de agentes virais múltiplos e gravidade da doença, encontramos uma elevada taxa de coinfeção mesmo utilizando somente a técnica de IFD, o que pode ser consequência da presença de um grande número de lactentes em um pequeno espaço físico, tanto em casa como no ambiente hospitalar. Estes dados chamam a atenção para a importância do isolamento de contato nas infecções respiratórias agudas.

Como limitação, podemos citar que a técnica da IFD utilizada para detecção dos agentes virais neste estudo, mesmo sendo um teste rápido e eficiente para detecção de VSR (sensibilidade 87-91% e especificidade 96-100%),²⁶ não é capaz de detectar alguns agentes frequentes e relevantes das infecções respiratórias na infância, como o RiV e o MPV-h. Além disso, o fato de os pacientes participarem de um ensaio clínico randomizado poderia introduzir um viés de confusão na avaliação da gravidade. Porém, não houve diferença no número de pacientes randomizados para receber placebo ou intervenção nos grupos comparados no presente estudo.

Sparremberger DAH et al. – Características epidemiológicas e influência da coinfeção por vírus ...

A técnica de PCR permite a detecção simultânea de um amplo espectro de vírus e possibilita o diagnóstico e avaliação da codeteção viral nas infecções respiratórias agudas.²⁰ Mesmo sem dados de PCR, encontramos um alto índice de coinfeção e conseguimos demonstrar que a coinfeção pelos vírus pesquisados neste estudo não afeta a gravidade da doença. É importante considerar que a técnica de PCR também possui limitações, como as taxas de codeteção mesmo sem associação de infecção por mais de um vírus.²⁷

Em adição, as altas taxas de coinfeção em lactentes internados na emergência deste hospital sugerem que a condição socioeconômica e a aglomeração de pessoas no mesmo ambiente, bem como a pequena distância entre os leitos na emergência, podem ser fatores importantes para o achado de coinfeção por vírus respiratórios. Concluindo, os resultados apresentados sugerem que a combinação do VSR com outros vírus respiratórios (especialmente VP) na BVA não modifica a gravidade do quadro clínico dos pacientes.

REFERÊNCIAS

- Jartti T, Lehtinen P, Vuorinen T, Ruuskanen O. Bronchiolitis: age and previous wheezing episodes are linked to viral etiology and atopic characteristics. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:311-7.
- De Vincenzo JP. Factores predicting childhood respiratory syncytial virus severity: what they indicate about pathogenesis. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24(11 Suppl):S177-83.
- Everard ML, Milner AD. The respiratory syncytial virus and its role in acute bronchiolitis. *Eur J Pediatr*. 1992;151:638-51.
- Fitzgerald DA, Kilham HA. Bronchiolitis: assessment and evidence-based management. *Med J Aust*. 2004;180:399-404.
- Amantea SL. Diagnóstico etiológico das infecções do trato respiratório inferior – sempre um desafio. *J Pediatr (Rio J)*. 1999;75:310-2.
- Rubin FM, Fischer GB. Clinical and transcutaneous oxygen saturation characteristics in hospitalized infants with acute viral bronchiolitis. *J Pediatr (Rio J)*. 2003; 79:435-42.
- Sudbrack S, P.D., Massuco L, Coral C, Stein RT, Pitrez PMC. Prevalência de vírus respiratórios em lactentes com bronquiolite aguda e sibilância recorrente em uma emergência pediátrica no sul do Brasil. *Scientia Medica*. 2007;17:124-129.
- Ministério da Saúde [homepage na Internet]. DATASUS [citado 2011 junho 18] Banco de dados do Sistema Único de Saúde. Notícias, produtos e serviços, dados sobre a saúde do Brasil. Disponível em: www.datasus.gov.br/
- Miron D, Srugo I, Kra-Oz Z, et al. Sole Pathogen in Acute Bronchiolitis: Is There a Role for Other Organisms Apart From Respiratory Syncytial Virus? *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29:e7-e10.
- Van der Zalm MM, Uiterwaal CS, Wilbrink B, et al. Respiratory pathogens in respiratory tract illnesses during the first year of life: a birth cohort study. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:472-6.
- Stempel HE, Martin ET, Kuypers J, et al. Multiple viral respiratory pathogens in children with bronchiolitis. *Acta Paediatr*. 2009; 98:123-6.
- Bosis S, Esposito S, Niesters HG, et al. Role of respiratory pathogens in infants hospitalized for a first episode of wheezing and their impact on recurrences. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14:677-84.
- Calegari T, Queiroz DA, Yokosawa J, et al. Clinical epidemiological evaluation of respiratory syncytial virus infection in children attend in a public hospital in Midwestern Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2005;9:156-61.
- Calvo C, Garcia-Garcia ML, Blanco C, et al. Multiple simultaneous viral infections in infants with acute respiratory tract infections in Spain. *J Clin Virol*. 2008;42:268-72.
- Jennings LC, Anderson TP, Werno AM, et al. 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;23:1003-7.
- Peng D, Zhao D, Liu J, et al. Multipathogen infections in hospitalized children with acute respiratory infections. *Virol J*. 2009;6:155.
- Bonzel L, Tenenbaum T, Schrotten H, et al. Frequent detection of viral coinfection in children hospitalized with acute respiratory tract infection using a real-time polymerase chain reaction. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27:589-94.
- Calvo C, Garcia ML, Pozo F, et al. Role of rhinovirus C in apparently life-threatening events in infants, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:1506-8.
- Richard N, Komurian-Pradel F, Javouhey E, et al. The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27:213-7.
- Marguet C, Lubrano M, Gueudin M, et al. In Very Young Infants Severity of Acute Bronchiolitis Depends On Carried Viruses. *PLoS One*. 2009;4:e4596
- Nascimento MS, Souza AV, Ferreira AV, et al. High rate of viral identification and coinfections in infants with acute bronchiolitis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010;65:1133-7.
- Greensill J, McNamara PS, Dove W, et al. Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Emerg Infect Dis*. 2003; 9:372-5.
- Semple MG, Cowell A, Dove W, et al. Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis. *J Infect Dis*, 2005;191:382-6.25.
- Paranhos-Baccalà G, Komurian-Pradel F, Richard N, et al. Mixed respiratory virus infections. *J Clin Virol*. 2008; 43:407-10.
- Canducci F, Debiaggi M, Sampaolo M, et al. Two-year prospective study of single infections and co-infections by respiratory syncytial virus and viruses identified recently in infants with acute respiratory disease. *J Med Virol*. 2008;80:716-23.
- Cilla G, Oñate E, Perez-Yarza EG, et al. Viruses in community-acquired pneumonia in children aged less than 3 years old: High rate of viral coinfection. *J Med Virol*. 2008;80:1843-9.
- Sato M, Li H, Ikizler MR, et al. Detection of viruses in human adenoid tissues by use of multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2009;47:771-3.