UNIVERSIDADE CEUMA
REITORIA E PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E EXTENSÃO
MESTRADO EM MEIO AMBIENTE

GISELMO PINHEIRO LOPES

VARIAÇÃO SAZONAL DE RINOVÍRUS E VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO ASSOCIADOS À ASMA EM CRIANÇAS

Orientadora: Profª Drª Angela Falcai

São Luís - MA
2019

GISELMO PINHEIRO LOPES

VARIAÇÃO SAZONAL DE RINOVÍRUS E VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO ASSOCIADOS A ASMA EM CRIANÇAS

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente da Universidade CEUMA como requisito para obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente.

Orientadora: Profª Drª Angela Falcai.

São Luís - MA

2019

L864v Lopes, Gieslmo Pinheiro.

Variação sazonal de rinovírus sincicial respiratório associados à asma em crianças./ Gieslmo Pinheiro Lopes. – São Luís: UNICEUMA, 2019.

68f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Meio Ambiente. Universidade CEUMA, 2019.

1. Infecções. 2. Rinovírus. 3. Vírus Sincicial Respiratório. I. FALCAI, Fabrício. (Orientadora) III. SILVA, Fabrício Brito. (Coordenador) III. Título.

CDU:616.89

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marina Carvalho CRB13/823

Proibida a reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio eletrônico ou mecânico, inclusive através de processos xerográficos, sem permissão expressa do Autor. (Artigo 184 do Código Penal Brasileiro, com a nova redação dada pela Lei n.8.635, de 16-03-1993).

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, esposa, filhos e toda a família, pelo amor, carinho e incentivo que se revelaram cruciais para a elaboração deste trabalho.

À Profa. Dra. Angela Falcai, por sua disposição, compreensão e conselhos dados em todas as fases desta pesquisa e pela confiança que depositada em mim.

Aos colegas de trabalho e amigos pelo apoio incondicional e compreensão das minhas falhas e ocupações permanentes.

À Universidade CEUMA, CNPQ e FAPEMA, que tornaram possível a realização deste mestrado.

RESUMO

Introdução: A exposição a alérgenos na infância e a presença de infecções respiratórias virais possuem papel importante no desencadeamento da asma. A detecção dessas infecções na população infanto-juvenil e a determinação da sua sazonalidade são necessárias para a elaboração de políticas de saúde que possibilitem uma melhor qualidade de vida para esses indivíduos. **Objetivo:** avaliar a sazonalidade viral de infecções por Vírus Sincicial Respiratório (RSV) e Rinovírus Humano (RV) associados à asma em crianças e adolescentes, e os fatores socioeconômicos e ambientais relacionados a ambos os grupos. **Metodologia:** Trata-se de um estudo observacional realizado no Hospital da Criança localizado em São Luís - MA durante o período de abril de 2018 a março de 2019. Foram recrutadas 151 crianças com infecção respiratória aguda e idade variável entre 2 e 12 anos, cujos dados sociodemográficos foram obtidos por meio do questionário ISAAC e um outro complementar elaborado pelos autores. Aplicou-se o *prick test* na análise da sensibilização aos alérgenos e um *swab* nasal para a extração do RNA viral com o auxílio de qPCR para determinação dos vírus. Os dados estatísticos foram catalogados com o auxílio do programa IBM SPSS®. **Resultados:** Evidenciou-se que crianças com infecção respiratória e portadoras de asma foram associadas a fatores como histórico familiar da doença e sintomas como sibilos, sono perturbado a noite por sibilos, tosse seca e rinite. Os resultados mostraram que 78,9 % das crianças asmáticas com infecção foram sensibilizadas por pelo menos um alérgeno, entre os quais pode-se destacar *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana*, gato e cachorro. Outrossim, percebeu-se uma tendência na associação entre as crianças asmáticas e a presença do RV. As infecções virais estiveram associadas com a sazonalidade na medida que 80,6% dos indivíduos com infecções por RV estiveram associados ao clima seco da região, enquanto 74,5% foram relacionados com o RSV e ao clima chuvoso. **Conclusão:** Fatores socioambientais, infecções por RV e RSV e sazonalidade climática estiveram associados à incidência de asma em crianças e adolescentes. As informações apresentadas neste trabalho podem ser utilizadas na prevenção de possíveis surtos pela doença e na melhoria de protocolos terapêuticos utilizados no tratamento dessa população.

Palavras-chave: Asma. Infecção Viral. Sazonalidade.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Seleção de artigos após análise dos critérios de inclusão.....11

Figura 2 - Análise temporal entre as variáveis climáticas e a presença do vírus.....36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos estudos incluídos na revisão sistemática.....15

Tabela 2 - Caracterização do perfil de sensibilização alérgena de crianças asmáticas e não asmáticas com infecção respiratória viral.....30

Tabela 3 - Sensibilização aos alérgenos de crianças asmáticas e não asmáticas com infecção respiratória.....31

Tabela 4 - Associação da asma com presença dos RSV e RV e sazonalidade viral.....33

Tabela 5 - Regressão logística entre variáveis socioambientais, sensibilização alérgica, sazonalidade climática associados à asma e infecções virais.....33

Tabela 6 - Correlação entre a presença dos RSV e RV e as variáveis climáticas de velocidade, precipitação, T. Max e T. Min.....34

SUMÁRIO

Capítulo I - Artigo de Revisão: Associação de vírus respiratórios com asma e sibilância em crianças e adolescentes: uma revisão sistemática| 9
ASSOCIAÇÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS COM ASMA E SIBILÂNCIA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA 10
INTRODUÇÃO 11
METODOLOGIA 12
RESULTADOS 13
DISCUSSÃO 18
CONCLUSÃO 20
REFERÊNCIAS 21
Capítulo II - Artigo original: Variação sazonal de rinovírus e vírus sincicial respiratório associados a asma em crianças 25
VARIAÇÃO SAZONAL DE RINOVÍRUS E VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO ASSOCIADOS A ASMA EM CRIANÇAS 26
INTRODUÇÃO 27
METODOLOGIA 28
RESULTADOS 31
DISCUSSÃO 38
CONCLUSÃO 40
REFERÊNCIAS 41
ANEXO A – TERMO DE ASENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE) 45

Capítulo I - Artigo de Revisão: Associação de vírus respiratórios com asma e sibilância em crianças e adolescentes: uma revisão sistemática

ASSOCIAÇÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS COM ASMA E SIBILÂNCIA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Giselmo Pinheiro Lopes[1]; João Victor Ferreira Araújo[1]; Lídio Gonçalves Lima Neto[2]; Paulo Vítor Soeiro Pereira[3]; Angela Falcai[1]

Filiação
[1] Universidade CEUMA, Laboratório de Microbiologia Ambiental, São Luís, Maranhão, Brasil.
[2] Universidade CEUMA, Laboratório de Imunologia e Microbiologia das Infecções Respiratórias, São Luís, Maranhão, Brasil.
[3]Universidade Federal do Maranhão, Laboratório de Imunofisiologia, São Luís, Maranhão, Brasil

RESUMO

Introdução: Com uma alta relevância para os sistemas de saúde em todo o mundo, a asma caracteriza-se por ser uma hiperresponsividade brônquica relacionada à hipersensibilidade imediata e resposta imune Th2. É um distúrbio multifatorial desencadeado por vários alérgenos como pólen, ácaros, baratas, pelo de cachorro, gato e alguns vírus. A literatura indica que os vírus respiratórios estão associados à asma e sibilância e podem levar à exacerbação da doença.
Métodos: Realizou-se uma revisão sistemática sobre artigos relacionados a prevalência de vírus respiratórios associados à asma e sibilância no período de 2014 a 2018.
Resultados: Foram detectados 2.717 artigos, dos quais apenas 20 foram selecionados a partir dos critérios de inclusão. Entre os vírus respiratórios mais frequentes, destacou-se que o rinovírus (RV) e vírus sincicial respiratório (RSV) foram responsáveis pela maioria dos casos de infecção. Além disso, houve também casos de coinfecção viral relacionada a outros vírus respiratórios como adenovírus (AdV), coronavírus (CV), enterovírus (EV), bocavírus (HBoV); influenza (IF); metapneumovírus (MpV) e parainfluenza (PiV).
Conclusão: Os achados desta revisão podem auxiliar na elaboração de estratégias de saúde para prevenção de exarcebações de doenças respiratórias induzidas por vírus, bem como serem utilizados para a elucidação entre a associação do sistema respiratório e seus agentes virais causadores de doença mais comuns.

Palavras chaves: Infecções, Rinovírus, Vírus Sincicial Respiratório.

INTRODUÇÃO

A asma é classificada como uma doença crônica e multifatorial que desencadeia uma hiperresponsividade brônquica, causando sintomas como falta de ar e sibilos. É caracterizada principalmente por reações de hipersensibilidade imediata no pulmão. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), a prevalência de asma é em torno de 300 milhões no mundo todo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). No Brasil, estudos mostram uma prevalência de asma ativa de 18,5% em adolescentes (SOLE et al., 2015).

Além da alta prevalência, é importante destacar o uso de recursos públicos para manejo da asma, que vão desde a compra de medicamentos até medidas de controle ambiental e gastos com licenças de saúde. Dados do Sistema Único de Saúde (SUS) estimam que o custo médio anual para o tratamento da asma por paciente é de R$ 2.207,99, aproximadamente $ 1.291,22 em valores atualizados (COSTA et al., 2018).

Ainda não há um tratamento capaz de curar a asma e, apesar dos relatos envolvendo fatores de risco para o início da doença, a evidência de causalidade em estudos observacionais é difícil de ser realizada (BEASLEY; SEMPRINI; MITCHELL, 2015). No entanto, é notório que a exposição a alérgenos é um fator de risco para a sensibilização alérgica e a sensibilização alérgica é considerado uma característica associada ao aparecimento da asma. Além disso, a exposição pré e pós-natal à poluição do ar, tabagismo materno e episódios de sibilância na infância também foram considerados fatores de risco prováveis (LEYNAERT et al., 2019; RUBNER et al., 2016). Artigos que datam da década de 1970 já associavam o rinovírus como um dos possíveis agentes responsáveis por causar asma tardia em crianças (MINOR et al., 1974), o que posteriormente foi documentado por outros autores (LIU et al., 2017). Por outro lado, o desenvolvimento da asma tem sido associado nos últimos anos a outros vírus. Considerando a relação, esta revisão teve como objetivo analisar artigos publicados entre os anos de 2014 e 2018 sobre a prevalência de vírus respiratórios associados a asma e sibilância em crianças e adolescentes.

METODOLOGIA

Foram realizadas buscas nas bases de dados Pubmed e Science Direct por pesquisas originais publicadas nos últimos cinco anos (2014-2018). Utilizou-se como estratégia de procura pelos artigos as seguintes palavras-chave: respiratory virus *AND* (children *OR* adolescence) *AND* (wheezing *OR* asthma).

Os critérios de inclusão adotados foram: (1) o artigo ter sido publicado no idioma inglês; (2) a população-alvo ser constituída de indivíduos menores de 18 anos (crianças e adolescentes); (3) diagnósticos de asma e sibilância foram confirmados por uma equipe médica ou exames laboratoriais. Artigos que não se enquadravam nesses critérios foram desconsiderados.

Os artigos identificados foram avaliados para elegibilidade em duas fases por dois revisores independentes (GPL e JVFA): primeiro, realizou-se a remoção de duplicadas por meio de avaliação de título e resumo; na segunda fase, a seleção ocorreu pela leitura completa do texto. Um terceiro revisor (AF) foi considerado resolver as inconsistências durante a seleção.

Para a remoção de duplicados e catalogação dos artigos, utilizou-se o programa StArt®, desenvolvido pelo Laboratório de Pesquisa em Engenharia de Software da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Após a catalogação ter sido concluída, os artigos incluídos na revisão foram exportados para uma planilha do programa LibreOffice Calc® e depois categorizados em variáveis disponíveis em tabelas no tópico de resultados.

RESULTADOS

Dos 2.717 artigos encontrados, 852 eram duplicados, o que resultou num total de 1.865 incluídos na primeira seleção. Após a primeira triagem, 1.699 artigos foram descartados e 166 foram avaliados em relação ao texto completo. Nessa última, 146 artigos foram rejeitados, tendo como resultado 20 artigos incluídos na revisão sistemática (Figura 1).

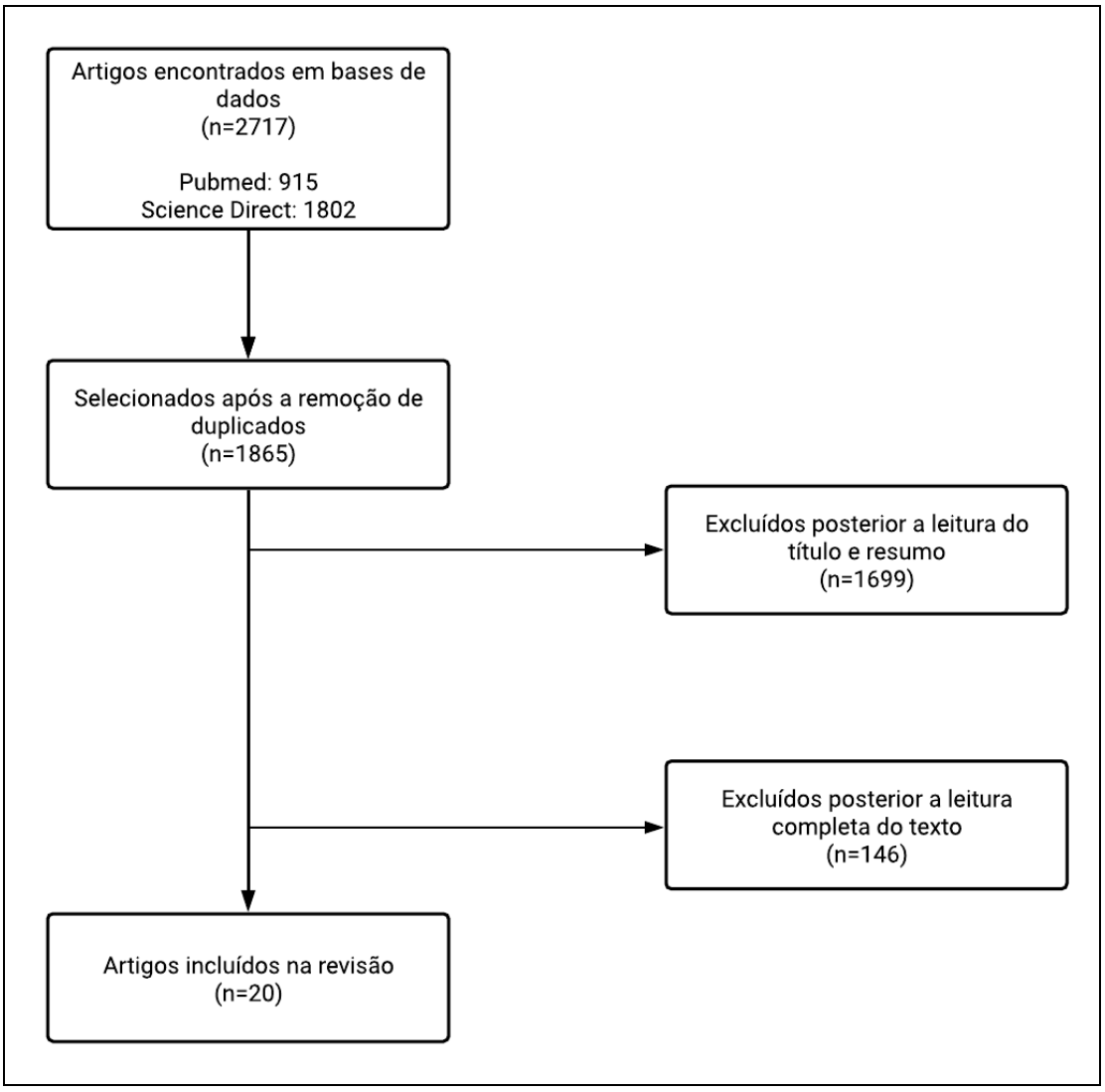


Figura 1 - Seleção de artigos após análise dos critérios de inclusão

Entre os artigos incluídos na revisão sistemática, 10.357 indivíduos participaram das pesquisas, dos quais 4.133 (39,9%) foram detectados como portadores de asma ou sibilância, possuindo idade variável entre <1 e 17 anos. Os vírus respiratórios mais prevalentes nos participantes foram o rinovírus e vírus sincicial respiratório. Outrossim, detectou-se também outros vírus relacionados a casos de coinfecção, a saber: adenovírus (AdV), coronavírus (CV),

enterovírus (EV), bocavírus (HBoV); influenza (IF); metapneumovírus (MpV) e parainfluenza (PiV).

Cerca de 16 (80%) estudos mostraram a presença de coinfecção viral, três (15%) destacaram haver coinfecção bacteriana (ALSUWAIDI et al., 2018; KWON et al., 2014; MERCKX et al., 2018) e um autor relatou a associação entre sibilância e bronquiolite (BARLOTTA et al., 2018) (Tabela 1). Em relação aos autores que declararam a presença de subtipos virais, realizou-se a soma dos valores de n relacionado a essa característica e colocou-se na tabela 1 o valor total dos subtipos virais declarando somente o grupo principal. Fez-se necessária realizar essa adaptação porque nem todos os estudos especificaram os subtipos virais obtidos nas análises do material biológico coletado dos participantes dos estudos.

Os estudos de Annamalay (2016), Barlotta (2019), Lambert (2017) e Nenna (2015) tiveram uma incidência de 100% de infecção viral relacionada a presença asma ou sibilância por se tratar de uma população de interesse. Apesar desse fator, optou-se por inclui-los na revisão devido ao objetivo de demonstrar a prevalência entre vírus respiratórios associadas asma/sibilância, independente das características da população (com exceção da idade).

Para os autores que relaram a presença coinfecção viral, subtende-se que a população destacada nas variáveis "*Vírus mais frequente*" e "*Outros vírus encontrados*" seja maior que a de pacientes com asma ou sibilância, pois um ou mais participantes foram incluídos na contagem de mais de um vírus. Nesse sentido, Hürdum (2015) e Kato (2015) relataram existir coinfecção viral além daqueles destacados nas variáveis da tabela abaixo, porém não citaram os demais vírus; em virtude desse fator, foram incluídos na Tabela 1 somente aqueles destacados explicitamente pelos autores em seus respectivos resultados.

Tabela 1 - Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Artigo – País do estudo	Número de participantes	Idade (anos)	Participantes com asma ou sibilância	Doença de interesse	Método de detecção	Vírus mais frequente (%)*	Outros vírus encontrados (5 mais prevalentes) *	Observações
Alsuwaidi AR. et al. (2018) - Emirados Árabes	27	03-06	18 (66,7%)	Asma	PCR Multiplex em tempo real	RV - 7 (38,9%)	CV - 3 (16,7%), EV - 2 (11,1%), AdV - 1 (5,5%), PiV – 1 (5,5%)	Presença de coinfecções bacterianas e virais
Annamalay AA. et al. (2016) – Marrocos	183	< 5	106 (71,1%)	Sibilância	PCR	RV – 106 (100%)	–	–
Barlotta A. et al. (2018) – Itália	52	< 1	13 (24,5%)	Sibilância	PCR	RV - 13 (100%)	–	Associação com bronquiolite
Bedolla-Barajas M. et al. (2016) – México	55	≤ 2	47 (85,5%)	Sibilância	PCR quantitativa em tempo real (RT-PCR)	MpV - 13 (27,6%)	HBoV - 8 (17%), RV- 7 (14,9%), RSV - 7 (14,9%), AdV – 6 (12,8%), IF - 3 (6,3%)	Presença de coinfecções virais
Caylan E. et al. (2018) – EUA	173	< 16	111 (64,2%)	Asma e sibilância	PCR Multiplex e rRT-PCR	EV – 49 (44,1%)	RV - 35 (31,5%)	Presença de coinfecções virais para subtipos do rinovírus
Choi E. et al. (2018) - Coréia do Sul	2424	≤ 15	33 (1%)	Asma	PCR real-time	RV - 26 (78,8%)	PiV - 3 (9%), RSV - 2 (6%), AdV - 1 (3%), IF - 1 (3%)	–
García-García ML, et al. (2017) – Espanha	3906	< 14	1.078 (27,6%)	Asma e sibilância	Multiplex RT-nested-PCR	RV - 530 (49,2%)	RSV - 228 (21,2%), AdV - 162 (15%), MpV - 65 (6%), HBoV - 48 (4,4%)	Presença de coinfecções virais

Tabela 1 - Características dos estudos incluídos na revisão sistemática *(Continuação)*

Artigo – País do estudo	**Número de participantes**	**Idade (anos)**	**Participantes com asma ou sibilância**	**Doença de interesse**	**Método de detecção**	**Vírus mais frequente (%)***	**Outros vírus encontrados (5 mais prevalentes) ***	**Observações**
Hürdum SH. et al. (2015) – Austrália	373	< 16	373 (100%)	Asma e sibilância	Imunofluorescência, PCR e RT-PCR	RV - 258 (69,2%)	RSV - 29 (7%)	Presença de coinfecções virais**
Kato M. et al. (2015) – Japão	88	< 11	71 (80,7%)	Asma	RT-PCR e PCR Multiplex	RV - 30 (42,2%)	RSV - 18 (25,3%), EV - 9 (12,7%), CV - 2 (2,8%), HboV - 1 (1,4%), Influenza vírus - 1 (1,4%)	Presença de coinfecções virais**
Kwon J. et al. (2014) - Coréia do Sul	309	< 4	28 (9%)	Asma	RT-PCR	RV – 10 (35,7%)	IF - 7 (25%), RSV - 5 (17,9%), MpV - 4 (14,3%), PiV - 2 (7,1%)	Presença de coinfecções bacterianas e virais
Lambet KA. et al. (2017) – Austrália	113	2-17	113 (100%)	Asma	Nested-PCR Multiplex	RV – 113 (100%)	–	Foram detectadas diferentes espécies de rinovírus
Merckx J. et al. (2018) – Canadá	958	1-12	958 (100%)	Asma e sibilância	RT-PCR	RV – 282 (29,4%)	RSV – 171 (17,8%), MpV - 96 (10%), EV - 31 (3,2%), IF - 24 (2,5%), PiV - 14 (1,5%)	Presença de coinfecções bacterianas e virais
Mummidi PS et al. (2017) – Índia	70	< 5	20 (28,6%)	Sibilância	PCR Multiplex	RSV - 7 (35%)	PiV - 4 (20%), HBoV - 2 (10%), RV - 1 (5%).	Presença de coinfecções virais

Tabela 1 - Características dos estudos incluídos na revisão sistemática *(Continuação)*

Artigo – País do estudo	**Número de participantes**	**Idade (anos)**	**Participantes com asma ou sibilância**	**Doença de interesse**	**Método de detecção**	**Vírus mais frequente (%)***	**Outros vírus encontrados (5 mais prevalentes) ***	**Observações**
Nenna et al. (2015) – Itália	68	< 1	29 (42,6%)	Sibilância	RT-PCR e Nested PCR	RSV - 29 (100%)	–	–
Nicolai, A. et al. (2017) – Itália	273	< 4	56 (20,5%)	Sibilância	RT-PCR	RSV - 23 (41,1%)	RV - 22 (39,3%), HBoV - 5 (9%), MpV - 1 (2%)	Presença de coinfecções virais
Rady & Kholy (2018) – Egito	200	0,2 ≤ 5	200 (100%)	Sibilância	RT-PCR	RSV - 99 (49,5%)	RV - 87 (43,5%), AdV - 81 (40,5%), MpV - 43 (21,5%), CV - 42 (21%)	Presença de coinfecções virais
Rosal T. et al. (2015) – Espanha	80	4 < 8	59 (73,7%)	Asma	Multiplex RT-PCR	RSV - 49 (83,1%)	HboV - 10 (16,9%)	–
Sun H. et al. (2015) – China	709	< 5	709 (100%)	Sibilância	RT-PCR e ensaio de imunofluorescência direta	RSV - 149 (21,3%)	RV - 104 (14,8%), HBoV - 57 (8,1%), PiV - 49 (7%), IF - 5 (0,7%), AdV - 4 (0,5%)	Presença de coinfecção viral
Tórtora RP. et al. (2015) – Brasil	155	< 2	41 (26,4%)	Sibilância	Real-time PCR	AdV – 24 (58,5%)	RSV - 13 (31,7%), MpV - 4 (9,7%)	Presença de coinfecção viral

Notas: * Refere-se aos participantes que possuem asma ou sibilância; os valores de % fazem menção à população que possui alguma dessas doenças. ****O artigo destaca que houve coinfecções além daquelas destacadas nas variáveis, porém não cita os demais vírus. **Abreviações:** AdV, adenovírus; CV, coronavírus; EV, enterovírus; HBoV, bocavírus; IF, influenza; MpV, metapneumovírus; PiV, parainfluenza; RSV, vírus sincicial respiratório; RV, rinovírus.

DISCUSSÃO

Por meio de uma revisão sistemática, foi investigado a prevalência dos principais vírus respiratórios associados a asma e sibilância em crianças e adolescentes em artigos publicados durante o período de 2014 a 2018. Os resultados mostraram que o rinovírus (RV) e o vírus sincicial respiratório (RSV) foram detectados em maior quantidade. Outros vírus encontrados nos artigos foram o adenovírus (AdV), coronavírus (CV), enterovírus (EV), bocavírus (HBoV), influenza (IF), metapneumovírus (MpV) e parainfluenza (PiV).

Com exceção do adenovírus (AdV) e bocavírus (HBoV), todos os outros vírus respiratórios são compostos de RNA (retrovírus) como material genético, com tamanhos variáveis entre 100 a 600 nanômetros (COSTA L. D. C; COSTA P. S.; CAMARGO, 2014). A maior incidência de infecções por retrovírus, em comparação com os vírus de DNA, tem sido relacionada com a fisiopatologia da asma, mesmo que essas correlações não sejam totalmente claras. Contudo, isso já demonstra uma forte associação, uma vez que apresentaram o maior número de infecções registradas em relação aos artigos selecionados na revisão.

O rinovírus foi o vírus mais frequentemente encontrado. Descrito desde os anos de 1956 em pacientes com infecção no trato respiratório, é relatado como a causa mais comum de resfriado já tendo sido classificado com mais de 3 espécies e 100 sorotipos diferentes e comumente associado nos casos de exacerbação aguda da asma (BAILLIE; OLWAGEN; MADHI, 2018). O vírus penetra no organismo através das vias respiratórias superiores, já sendo detectado entre 2 a 4 dias após o início da infecção nas secreções nasais, mostrando sintomas como tosse, espirros, obstrução e corrimento nasais e faringite (BROOKS; CARROLL; BUTEL, 2014).

Em relação a fisiopatologia da doença, a inflamação brônquica constitui o mecanismo mais frequente na asma, resultando em interações entre células inflamatórias, mediadores e células estruturais das vias aéreas. Na asma alérgica, a resposta mediada por IgE leva a liberação de mediadores inflamatórios pré-formados, como a histamina e o fator ativador de plaquetas (PAF); e mediadores produzidos a partir do ácido araquidônico liberado na membrana celular (prostaglandinas e leucotrienos), o que causa vasodilatação e extravasamento vascular, com consequente edema na parede brônquica, hipersecreção de muco e broncoconstrição (SILVA, 2008).

Em crianças, é comum o aparecimento de sibilância na infância. Contudo, aquelas que possuem menos de dois anos de idade, ao apresentarem mais de três episódios de sibilância

num espaço de 6 meses, são classificadas como *early wheezers*, possuindo chances mais elevadas de desenvolver asma tardia (SOLÉ, 2008).

Nesse sentido, a presença de vírus respiratórios que causam sibilância na infância constitui um fator de risco para o desenvolvimento da asma. Consoante aos achados encontrados nessa revisão, algumas meta-análises sugerem que a associação entre rinovírus e vírus sincicial respiratório na infância provocaram hospitalizações relacionadas a episódios de sibilância em crianças e adolescentes (LIU et al., 2017; RÉGNIER; HUELS, 2013)

A variação sazonal constitui um fator interessante na exacerbação de infecções respiratórias, visto que a incidência viral varia de acordo com as condições climáticas de cada país. Estudo recentes demonstram que ocorreram um aumento no número de exarcebações da asma nos Estados Unidos entre o período de outubro a novembro, referente aos meses de outono, período em que ocorre um aumento no número de doenças que acometem as vias respiratórias superiores (WISNIEWSKI et al., 2016; VERDIER et al., 2017)

Medidas preventivas para impedir o aparecimento de infecções virais permitem uma diminuição e, consequente, melhoria na qualidade de vida de portadores de asma e sibilância. A associação entre essas duas doenças na época da infância e adolescência necessita de mais esclarecimentos que permitam identificar o papel de vírus no desencadeamento e/ou exacerbação de doenças no sistema respiratório.

CONCLUSÃO

Os achados nesta revisão podem auxiliar na elaboração de estratégias de saúde para se prevenir exarcebações de doenças respiratórias induzidas por vírus, permitindo, dessa maneira, a diminuição no número de hospitalizações relacionadas a essas patologias, tendo em vista que muitas dessas infecções têm caráter sazonal.

As informações apresentadas também podem ser utilizadas para elucidação da associação entre o sistema respiratório e seus agentes patogênicos virais mais comuns, dando destaque ao tratamento da asma e sibilância e possibilitando a elaboração de novos protocolos terapêuticos ou a melhoria daqueles já existentes.

REFERÊNCIAS

ALSUWAIDI, A. R. et al. Nasopharyngeal isolates and their clinical impact on young children with asthma: a pilot study. **Journal of Asthma and Allergy**, v. 11, p. 233–243, 2018.

ANNAMALAY, A. A. et al. Rhinovirus C Is Associated With Wheezing and Rhinovirus A Is Associated With Pneumonia in Hospitalized Children in Morocco. **Journal of Medical Virology**, v. 89, p. 582-588, 2016.

BAILLIE, V. L; OLWAGEN, C. P.; MADHI, S. A. Review on Clinical and Molecular Epidemiology of Human Rhinovirus-Associated Lower Respiratory Tract Infections in African and Southeast Asian Children. **Pediatr Infect Dis J**., v. 37, p. 185-194, 2018.

BARLOTTA, A. et al. Metabolomic Profiling of Infants With Recurrent Wheezing After Bronchiolitis. **J Infect Dis**, v. 219, p. 1216-1223, 2018.

BEDOLLA-BARAJAS, M. et al. Prevalence of respiratory viruses in wheezing children not older than 24 months of age. **Gac Med Mex.**, v. 153, p. 329-334, 2017.

BEASLEY, R.; SEMPRINI, A.; MITCHELL, E. A. Risk factors for asthma: is prevention possible?. **The Lancet**, v. 386, p. 1075-1085, 2015.

BROOKS, G. F. Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg. 26th ed. Porto Alegre: **AMGH**, 2014.

CAYLAN, E. et al. Comparison of the Severity of Respiratory Disease in Children Testing Positive for Enterovirus D68 and Human Rhinovirus. **The Journal of Pediatrics**, v. 197, p. 147-53, 2018.

CHOI, E. et al. Clinical and laboratory profiles of hospitalized children with acute respiratory virus infection. **Korean J Pediatr**., v. 61, p. 180-186, 2018.

COSTA, E. et al. Estimated cost of asthma in outpatient treatment: a real-world study. **Rev Saúde Publica**, v. 52, p. 1-11, 2018.

COSTA, L. D. C. Exacerbation of asthma and airway infection: is the virus the villain?. **Jornal de Pediatria**, v. 90, p. 542-555, 2014.

GARCÍA-GARCÍA, M. L. et al. Human metapnuemovirus infections in hospitalized children and comparison with other respiratory viruses. 2005-2014 prospective study. **PLoS ONE**, v. 12, n. 0173504, 2017.

HÜRDUM, S. H. et al. Recurrent Rhinovirus Detections in Children Following a Rhinovirus-Induced Wheezing Exacerbation: A Retrospective Study. **International Journal of Pediatrics and Child Health**, v. 3, p. 10-8, 2015.

LEYNAERT, B. et al. Environmental factors favoring the development of asthma. **Presse Med**, v. 48, p. 262-73, 2019.

KATO, M. et al. Virus detection and cytokine profile in relation to age among acute exacerbations of childhood asthma. **Allergology International**, v. 64, p. 64-70, 2015.

KIM, J. H. et al. Clinical risk factors associated with the development of wheezing in children less than 2 years of age who required hospitalization for viral lower respiratory tract infections. **Korean J Pediatr.**,v. 58, p. 245-250, 2015.

KWON, J. et al. Prevalence of respiratory viral infection in children hospitalized for acute lower respiratory tract diseases, and association of rhinovirus and influenza virus with asthma exacerbations. **Korean J Pediatr.**, v. 57, p. 29-34, 2014.

LAMBERT, K. A. et al. The role of human rhinovirus (HRV) species on asthma exacerbation severity in children and adolescents. **Journal of asthma**, v. 55, p. 596-602, 2017.

LIU, L. et al. Association between rhinovirus wheezing illness and the development of childhood asthma: a meta-analysis. **BMJ Open**, v. 7, n. 013034, 2017.

MERCKX, J. et al. Respiratory Viruses and Treatment Failure in Children With Asthma Exacerbation. **Pediatrics**, v. 142, p. 1-11, 2018.

MUMMIDI, P. S. et al. Viral aetiology of wheezing in children under five. **Indian J Med Res**., v. 145, p. 189-193, 2017.

NENNA, R. et al. Viral load in infants hospitalized for respiratory syncytial virus bronchiolitis correlates with recurrent wheezing at thirty-six-month follow-up. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 34, p. 1131-1132, 2015.

NICOLAI, A. et al. Risk Factors for Virus-induced Acute Respiratory Tract Infections in Children Younger Than 3 Years and Recurrent Wheezing at 36 Months Follow-Up After Discharge. **Pediatr Infect Dis J**., v. 36, p. 179-83, 2017.

RADY, H. I; KHOLY, A. E. Prevalence of Human rhinovirus infection in young children with acute wheezing. **Egyptian Pediatric Association Gazett**, v. 66, p. 35-8, 2018.

RÉGNIER, S. A. Huels J. Association Between Respiratory Syncytial Virus Hospitalizations in Infants and Respiratory Sequelae. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 32, p . 820-826, 2013.

ROSAL, T. et al. Recurrent wheezing and asthma after bocavirus bronchiolitis. **Allergologia et Immunopathologia**, v. 44, p. 410-414, 2016.

RUBNER, F. J. et al. Early life rhinovirus wheezing, allergic sensitization, and asthma risk at adolescence. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 139, p. 501-507, 2017

MINOR, T. E. et al. Viruses as Precipitants of Asthmatic Attacks in Children. **JAMA**, v. 227, p. 292-298, 1974.

SILVA, E. C. F. Bronchial Asthma. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 7, p. 33-57, 2008.

SOLÉ, D. Childhood wheezing. **J Bras Pneumol**., v. 3, p. 337-339, 2008.

SOLE, D. et al. Prevalence of asthma and allergic diseases in adolescents: nine-year follow-up study (2003---2012). **J Pediatr**., v. 91, p. 30-35, 2015.

SUN, H. et al. Prevalence of rhinovirus in wheezing children: a comparison with respiratory syncytial virus wheezing. **Braz j Infect Dis.**, v. 20, p. 179–183, 2016.

TÓRTORA, R. P. et al. Adenovirus species C detection in children under four years of age with acute bronchiolitis or recurrent wheezing. **Journal of Clinical Virology**, v. 73, p. 77–80, 2015.

VERDIER, M. G. et al. Seasonal and geographic variations in the incidence of asthma exacerbations in the United States. **Journal of Asthma**, v. 54, p. 818-824, 2017.

WISNIEWSKI, J. A. et al. A comparison of seasonal trends in asthma exacerbations among children from geographic regions with different climates. **Allergy Asthma Proc.**, v. 3, p. 475–481, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chronic respiratory diseases**. Disponível em: https://www.who.int/respiratory/asthma/en/. Acesso em: 22 mai. 2019.

Capítulo II - Artigo original: Variação sazonal de rinovírus e vírus sincicial respiratório associados a asma em crianças

VARIAÇÃO SAZONAL DE RINOVÍRUS E VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO ASSOCIADOS A ASMA EM CRIANÇAS

Giselmo Pinheiro Lopes[1], Ítalo Patrick Souza Amorim[1], Bruna de Oliveira de Melo[1], Carlos Eduardo Campos Maramaldo[1], Gustavo de Souza Oliveira[1], Maria Rosa Quaresma Bonfim[1], Lídio Gonçalves Lima Neto[1], Rose Daiana Cunha dos Santos[2], Matheus Silva Alves[1], Fabrício Brito Silva[1], Paulo Vítor Soeiro Pereira[2;] Angela Falcai[1]

[1]Universidade CEUMA, São Luís, Maranhão, Brasil.
[2]Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil.

RESUMO

Introdução: A exposição a alérgenos na infância e a presença de infecções respiratórias virais possuem papel importante no desencadeamento da asma. A detecção dessas infecções na população infanto-juvenil e a determinação da sua sazonalidade são necessárias para a elaboração de políticas de saúde que possibilitem uma melhor qualidade de vida para esses indivíduos. **Objetivo:** avaliar a sazonalidade viral de infecções por Vírus Sincicial Respiratório (RSV) e Rinovírus Humano (RV) associados à asma em crianças e adolescentes, e os fatores socioeconômicos e ambientais relacionados a ambos os grupos. **Metodologia:** Trata-se de um estudo observacional realizado no Hospital da Criança localizado em São Luís - MA durante o período de abril de 2018 a março de 2019. Foram recrutadas 151 crianças com infecção respiratória aguda e idade variável entre 2 e 12 anos, cujos dados sociodemográficos foram obtidos por meio do questionário ISAAC e um outro complementar elaborado pelos autores. Aplicou-se o *prick test* na análise da sensibilização aos alérgenos e um *swab* nasal para a extração do RNA viral com o auxílio de qPCR para determinação dos vírus. Os dados estatísticos foram catalogados com o auxílio do programa IBM SPSS®. **Resultados:** Evidenciou-se que crianças com infecção respiratória e portadoras de asma foram associadas a fatores como histórico familiar da doença e sintomas como sibilos, sono perturbado a noite por sibilos, tosse seca e rinite. Os resultados mostraram que 78,9 % das crianças asmáticas com infecção foram sensibilizadas por pelo menos um alérgeno, entre os quais pode-se destacar *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana*, gato e cachorro. Outrossim, percebeu-se uma tendência na associação entre as crianças asmáticas e a presença do RV. As infecções virais estiveram associadas com a sazonalidade na medida que 80,6% dos indivíduos com infecções por RV estiveram associados ao clima seco da região, enquanto 74,5% foram relacionados com o RSV e ao clima chuvoso. **Conclusão:** Fatores socioambientais, infecções por RV e RSV e sazonalidade climática estiveram associados à incidência de asma em crianças e adolescentes. As informações apresentadas neste trabalho podem ser utilizadas na prevenção de possíveis surtos pela doença e na melhoria de protocolos terapêuticos utilizados no tratamento dessa população.

Palavras-chave: Asma. Infecção Viral. Sazonalidade.

INTRODUÇÃO

A asma é uma doença inflamatória crônica caracterizada por uma reação de hipersensibilidade do tipo II mediada pela IgE. Nos últimos anos, a prevalência da doença vem aumentando em diversos países, gerando internações hospitalares em níveis elevados e o aumento de morbimortalidade da população local, especialmente entre crianças e adolescentes (SILVEIRA et al., 2017). Atualmente, cerca de 300 milhões de pessoas no mundo são acometidas pela asma, considerada a nível de Brasil a quarta maior causa de morte por doenças respiratórias (SOUZA-MACHADO; SOUZA-MACHADO; CRUZ, 2012).

A patologia é resultante da interação de fatores genéticos, imunes e ambientais. A exposição ambiental a alérgenos irritantes e fatores específicos podem levar ao desenvolvimento e manutenção dos sintomas da doença (JACKSON, 2014; KLAASSEN et al., 2015). Alguns autores já demonstraram que as infecções virais são capazes de exacerbar a asma, sendo descrita que a exposição ao Vírus Sincicial Respiratório (RSV) e Rinovírus Humano (RV) também podem atuar como iniciadores para o desenvolvimento dessa doença (TEERATAKULPISARN et al., 2014).

As incidências virais podem ser influenciadas por fatores sazonais climáticos, que atuam diretamente na prevalência de doenças respiratórias. A sazonalidade de vírus respiratórios já foi demonstrada em países de regiões temperadas, sendo as infecções das vias aéreas superiores mais frequentes nas estações do outono e primavera (PRICE; GRAHAM; RAMALINGAM, 2019). Um estudo realizado nos municípios de Monteiro e Campina Grande, Paraíba (Brasil), demostrou que a ocorrência de casos de infecção respiratória aguda (IRAS) foi associada com temperatura e umidade relativa do ar (AZEVEDO et al., 2015).

Percebe-se que na literatura há poucos estudos relatando a variação sazonal da ocorrência do vírus na Região Nordeste, em especial no estado do Maranhão. Diante desse fator e dada a prevalência da asma no país, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a variação sazonal do RSV e o RV com as variáveis climáticas da cidade de São Luís - MA e a sua associação com asma em crianças e adolescentes.

METODOLOGIA

2.1 Casuística

Pesquisa de campo de caráter observacional realizada no Hospital da Criança na Cidade da cidade de São Luís - MA mediante autorização da Secretaria Municipal de Saúde e do Núcleo de Educação Permanente (NEP). O estudo foi realizado durante o período de um ano entre os meses abril de 2018 a março de 2019 utilizando amostras nasais de 151 crianças com idade entre 2 a 12 anos com diagnóstico de asma. Para o cálculo do tamanho amostral utilizou-se o software estatístico *PASS 15*® com os seguintes parâmetros: prevalência 21,1% de crianças com infecção respiratória virais (CICEK et al., 2015), nível de significância (α) de 5%, poder de teste de 80% e erro tolerável de 8%.

O diagnostico da doença foi feito pela equipe médica do próprio hospital e estabelecido de acordo os critérios descritos por GINA (*Global Initiative for Asthma*). Esses critérios levam em consideração um ou mais sintomas como dispneia, tosse crônica, sibilância, aperto no peito ou desconforto torácico, entre outros fatores. Considerou-se sibilantes os indivíduos que apresentaram três ou mais episódios de sibilância num período de seis meses. Para a obtenção de informações referentes à incidência da asma e outras de cunho sociodemográfico referente aos participantes da pesquisa utilizou-se o questionário ISAAC juntamente com outro complementar elaborado pelos autores com o objetivo de aumentar a abrangência dos dados coletados.

Os critérios de inclusão dos participantes da pesquisa foram: idade entre 2 a 12 anos até o momento da coleta de material biológico, apresentar quadro de infecção respiratória e ser asmático (grupo caso) e não-asmático (grupo controle). Como critérios de exclusão, utilizou-se: fazer uso de nebulização e/ou apresentar outras doenças respiratórias que pudessem interferir nos resultados como pneumonia, tuberculose e coqueluche.

Os pais e responsáveis legais das crianças e adolescentes envolvidos no estudo consentiram a participação através da assinatura do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE). Outrossim, os procedimentos descritos neste trabalho não ultrapassam os limites de risco mínimo da Convenção de Helsinki, sem prejuízo das normas do Conselho Nacional de Saúde para a realização de pesquisas com seres humanos. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa em seres humanos na Plataforma Brasil sob número de protocolo 1.292.904.

2.2 Teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (*prick test*)

O teste cutâneo de puntura foi realizado usando extratos de ácaros da poeira doméstica (*Dermatophagoides pteronyssinus, Dermatophagoides farinae* e *Blomia tropicalis*), gato, cachorro, gramínea, ovo, leite, solução salina tamponada (controle negativo) e histamina (controle positivo) utilizando como base kit *prick test* desenvolvido pela empresa Immunotech-FDA Allergenic LTDA®. O teste foi realizado na face anterior do antebraço, conforme descrito no guia do fabricante. Após trinta minutos, verificou-se o tamanho da pápula formada, considerando-se como reação positiva aquela com diâmetro igual ou maior a 3mm (três milímetros).

2.3 Identificação dos vírus e quantificação da espécie viral pela qPCR

2.3.1 Amostras virais

A amostra viral foi coletada com *swab* introduzido na região da nasofaringe em tubo cônico de 15 ml com 2 ml de PBS (solução tampão fosfato-salina). Após realizar a centrifugação o material biológico a 3.500 rpm por 10 minutos, efetuou-se a coleta do sobrenadante e o do material em freezer com temperatura de -80ºC.

2.3.2 Extração do RNA total

O RNA total foi obtido através por meio da utilização de um conjunto de reagentes *QIAamp Viral RNA Mini Kit® (QIAGEN, GmbH, Alemanha*), seguindo as instruções do material da fabricante (KLEINES; SCHELLENBERG; RITTER, 2003).

2.3.3 Síntese do cDNA

A síntese de cDNA a partir do RNA viral extraído foi realizada utilizando o conjunto de reagentes *SuperScriptTM II reverse transcriptase* ® (Invitrogen, Gathersburg, EUA), conforme as instruções do material da fabricante.

2.3.4 Reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR)

A identificação dos vírus respiratórios foi realizada pela qPCR utilizando o sistema de sondas fluorescentes de detecção *Taqman*® (Life Technologies, Foater City, CA, EUA). As sondas *PROBE FAM-OS* e oligonucleotídeos *FORWARD, REVERSE* foram os iniciadores

para amplificação de cDNA do RSV, enquanto *PROBE FAM-MGBNFQ* e oligonucleotídeos *FORWARD 1, FORWARD 2 e REVERSE* os iniciadores para amplificação de cDNA de RV, sintetizados previamente descrito por (LIMA-NETO et al., 2019). O material genético viral foi amplificado pela qPCR usando 200nM de cada oligonucleotídeo iniciador e 300nM de sonda marcado com FAM (Life Technologies, Foster City, CA, EUA). Os demais reagentes da RT-PCR foram utilizados com solução Master Mix [MgCl2 25nM, dNTPs 10mM, Uracil N- glicosilase (UNG, AmpEraseR®) 30U, enzima Amplitaq Gold 150U e tampão de reação]. Foi usado ainda um volume final de 20µL por reação e os ensaios em duplicata, com o auxilio do sistema ABI Prism 7500 Fast® (Life Technologies, Foster City, CA, EUA)

2.4 Caracterização climatológica

No estado do Maranhão, o clima em relação à precipitação é definido como período chuvoso e seco de acordo com a norma climatológica definida pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), o qual foi utilizado como referência para a obtenção das variáveis relacionadas à precipitação, temperatura máxima e mínima e velocidade do vento foram durante o ano de estudo.

2.5 Análise estatística

Utilizou-se na comparação das proporções de variáveis classificatórias os testes Qui-Quadrado de independência com nível de significância para $p<0,05$; Intervalo de Confiança (IC) de 95% e o modelo de regressão logística binária para análise do efeito entre as variáveis categóricas e independentes auxiliados pelos softwares SPSS 15® e GraphPad Prism 8®. A relação entre as variáveis dependentes e independentes sobre dados ambientais foi caracterizada conforme o coeficiente de correlação de Spearman (ρ) para análise da correlação entre RSV e RV; e o valor da média de precipitação, temperatura e velocidade do vento com nível de significância de 10% ($p<0,1$).

RESULTADOS

Os resultados das características clínicas e socioambientais dos participantes do estudo estão evidenciados na tabela 2. Verificou-se que 69,9 % das crianças asmáticas com infecção respiratória apresentaram histórico familiar de doenças alérgicas, sendo o pai e/ou a mãe e/ou o irmão alérgico. A presença de sibilos foi observada em 100% das crianças asmáticas e 88,2% alegaram ter o sono perturbado pelo sibilo. Outros sintomas como tosse seca e rinite alérgica também foram associadas a asma.

Tabela 2 – Caracterização do perfil de sensibilização alérgena de crianças asmáticas e não asmáticas com infecção respiratória viral

Variáveis	Não-asmático	Asmático	p
	N (%)	N (%)	
Idade média (em anos)	5,5	4,5	
Gênero			0,170
Masculino	31 (53,4)	61 (65,6)	
Feminino	27 (46,6)	32 (34,4)	
Escolaridade da mãe			0,370
Fundamental	16 (27,6)	33 (25,5)	
Médio/Superior	42 (72,4)	60 (64,5)	
Renda familiar			0,160
Até 1 salário	46 (79,3)	82 (88,2)	
Acima de 1 salário	12 (20,7)	11 (11,8)	
Amamentação até os 6 meses			0,180
Não	6 (10,3)	4 (4,3)	
Sim	52 (89,7)	89 (95,7)	
Histórico familiar de alergia			**0,030**
Não	28 (48,3)	28 (30,1)	
Sim	30 (51,7)	65 (69,9)	
Presença de sibilos			**0,010**
Não	30 (51,7)	0 (0,00)	
Sim	28 (48,3)	93 (100)	
Sono perturbado a noite			**0,010**
Não	44 (75,9)	11 (11,8)	
Sim	14 (24,1)	82 (88,2)	

Tosse seca			**0,010**
Não	37 (63,8)	31 (33,3)	
Sim	21 (36,2)	62 (66,7)	
Rinite			**0,030**
Não	36 (62,1)	40 (43)	
Sim	22 (37,9)	53 (57)	
Eczema			0,060
Não	36 (62,1)	71 (76,3)	
Sim	22 (37,9)	22 (23,7)	
Divide o quarto			0,150
Não	3 (5,2)	1 (1,1)	
Sim	55 (94,8)	92 (98,9)	
Exposição a animais			0,600
Não	15 (25,9)	21 (22,8)	
Sim	43 (74,1)	71 (77,2)	
Exposição a cigarro			0,300
Não	33 (56,9)	61 (65,6)	
Sim	25 (43,1)	32 (34,4)	
Mofo na parede de casa			0,400
Não	28 (48,3)	52 (55,9)	
Sim	30 (51,7)	41 (44,1)	
Saneamento básico			0,730
Não	32 (55,2)	54 (58,1)	
Sim	26 (44,8)	39 (41,9)	

O teste de hipersensibilidade mostrou que 78,9% das crianças asmáticas com infecção respiratória foram associadas a pelo menos 1 alérgeno (Tabela 3), onde 61% foram sensibilizadas ao *Dermatophagoides pternoyssinus* (Derp), 51,9% ao *Dermatophagoides farinae* (Derf), 37,7% ao *Blomia tropicalis* (Blot), 11,7% a *Periplaneta americana* (Pera), 26% ao gato e 23,4% ao cachorro.

Tabela 3 - Sensibilização aos alérgenos de crianças asmáticas e não asmáticas com infecção respiratória

Variáveis	**Não-asmático**	**Asmático**	**p**

	N (%)	N (%)	
Sensibilizados a pelo menos 1 alérgeno			**0,010**
Não sensibilizados	27 (57,4)	16 (21,1)	
Sensibilizados	20 (42,6)	60 (78,9)	
Dermatophagoides pternoyssinus			**0,002**
Não sensibilizados	33 (68,8)	30 (39)	
Sensibilizados	15 (31,3)	47 (61)	
Dermatophagoides farinae			**0,001**
Não sensibilizados	37 (77,1)	37 (48,1)	
Sensibilizados	11 (22,9)	40 (51,9)	
Blomia tropicalis			**0,008**
Não sensibilizados	41 (85,4)	48 (62,3)	
Sensibilizados	7 (14,6)	29 (37,7)	
Periplaneta americana			**0,010**
Não sensibilizados	48 (100)	68 (88,3)	
Sensibilizados	0 (0,00)	9 (11,7)	
Blatella germanica			0,120
Não sensibilizados	46 (95,8)	66 (85,7)	
Sensibilizados	2 (4,2)	11 (14,3)	
Gato			**0,010**
Não sensibilizados	44 (91,7)	57 (74)	
Sensibilizados	4 (8,3)	20 (26)	
Cachorro			**0,010**
Não sensibilizados	44 (93,6)	59 (76,6)	
Sensibilizados	3 (6,4)	18 (23,4)	
Gramíneas			0,280
Não sensibilizados	47 (100)	74 (96,1)	
Sensibilizados	0 (0,00)	3 (3,9)	
Ovo			0,550
Não sensibilizados	46 (95,8)	76 (98,7)	
Sensibilizados	2 (4,2)	1 (1,3)	
Leite			0,050
Não sensibilizados	45 (93,8)	77 (100)	
Sensibilizados	3 (6,3)	0 (0,00)	

Em relação à identificação dos agentes virais, observou-se que 75% das crianças

asmáticas estavam com infecção por RV e 66,7% pelo RSV (Tabela 4). A presença do RV esteve associada ao período de clima seco da região e do RSV, ao chuvoso.

Tabela 4 - Associação da asma com presença dos RSV e RV e sazonalidade viral

Variáveis	Ausente	Presente	p
	N (%)	N (%)	
RINOVÍRUS			
Asma			0,070
Sim	66 (57,4)	27 (75)	
Não	49 (42,6)	9 (25)	
Clima			**0,001**
Seco	35 (30,4)	29 (80,6)	
Chuvoso	80 (69,6)	7 (19,4)	
VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO			
Asma			0,660
Sim	75 (60,5)	18 (66,7)	
Não	49 (39,5)	9 (33,3)	
Clima			0,080
Seco	57 (46)	7 (25,9)	
Chuvoso	67 (54)	20 (74,1)	

O teste de regressão logística demonstrou uma associação da asma com as variáveis de histórico familiar da doença, sono perturbado a noite por chiado, tosse seca, rinite alérgica, sensibilidade a pelo menos um alérgeno e aos alérgenos específicos de *Derp*, *Derf* e *Blot*. Quanto a sazonalidade climática, a presença do RV foi associada ao clima seco e o RSV, ao chuvoso, com uma tendência à presença do RV em pacientes asmáticos (Tabela 5).

Tabela 5 - Regressão logística entre variáveis socioambientais, sensibilização alérgica, sazonalidade climática associados à asma e infecções virais

Variáveis	p	OR (IC 95%)
Asma		

Histórico Familiar da doença	**0,002**	2,16 (1,09 a 4,27)
Sono pertubado pelo chiado	**0,001**	23,4 (9,8 a 55,9)
Tosse seca	**0,002**	3,13 (1,54 a 6,3)
Rinite	**0,002**	2,16 (1,10 a 4,24)
Sensibilizados a pelo menos um alérgeno	**0,001**	5,06 (2,2 a 11,2)
Dermatophagoides pteronyssinus	**0,001**	3,44 (1,60 a 0,73)
Dermatophagoides fariane	**0,002**	3,63 (1,62 a 8,15)
Blomia Tropicalis	**0,007**	3,5 (1,4 a 8,9)
Rinovírus		
Asma	0,060	2,22 (0,96 a 5,1)
Clima	**0,001**	9,46 (3,78 a 23,6)
Vírus Sincicial Respiratório		
Clima	0,060	0,41 (0,16 a 1,04)

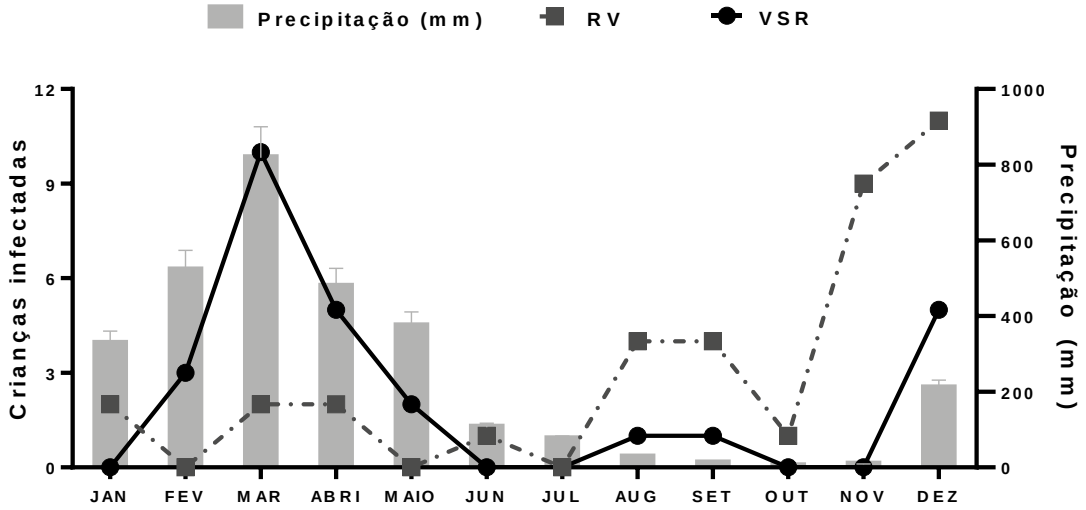
Uma vez observada a diferença da sazonalidade viral, analisou-se ainda as variáveis climáticas quanto a velocidade do vento, precipitação do vento, temperatura máxima (T. Max) e mínima (T. Min). Os dados mostraram uma correlação negativa entre a presença do RSV e as variáveis de velocidade e T. Max; e uma correlação positiva com a precipitação do vento (Tabela 6).

Tabela 6 - Correlação entre a presença dos RSV e RV e as variáveis climáticas de velocidade, precipitação, T. Max e T. Min

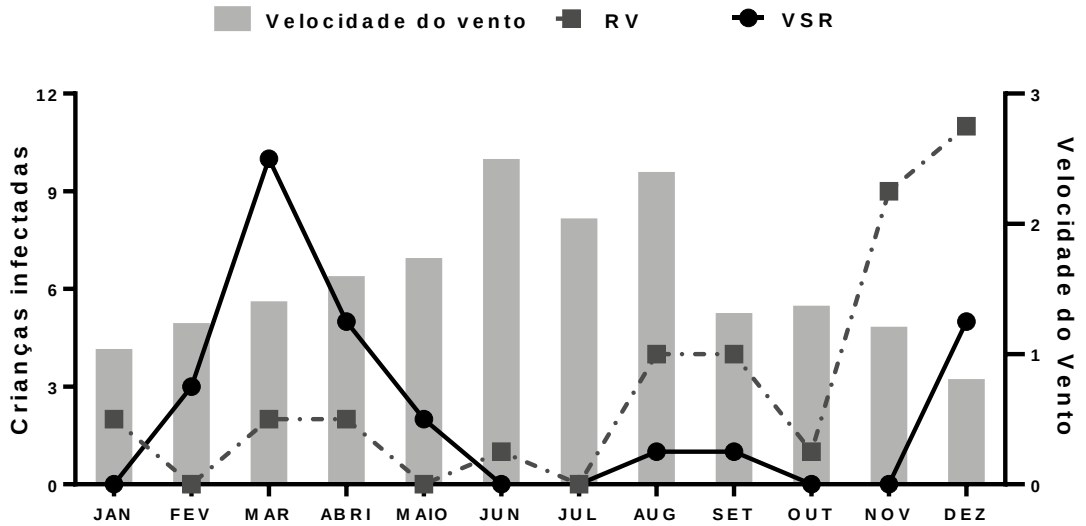
Variáveis	RSV	RV	Velocidade	Precipitação	T. Max
RV	0,150 0,620				
Velocidade	-0,720 **0,010**	0,300 0,330			
Precipitação	0,510 **0,090**	-0,230 0,450	-0,860 **0,006**		
T. Max.	-0,780 **0,003**	0,220 0,470	0,900 **0,001**	-0,830 **0,001**	
T. Min	-0,170 0,590	0,420 0,170	0,420 0,160	-0,280 0,360	0,370 0,230

A análise temporal da precipitação do vento mostrou um pico de chuva no mês de março que coincide com a incidência do RSV (Figura 2A). Ao analisar velocidade do vento, observou-se o pico da incidência do RSV no mês de março está associado a sua baixa velocidade (Figura 2 B). A série temporal entre a temperatura máxima e mínima associado ao RSV está ilustrada na Figura 2C e a do RV, na Figura 2D.

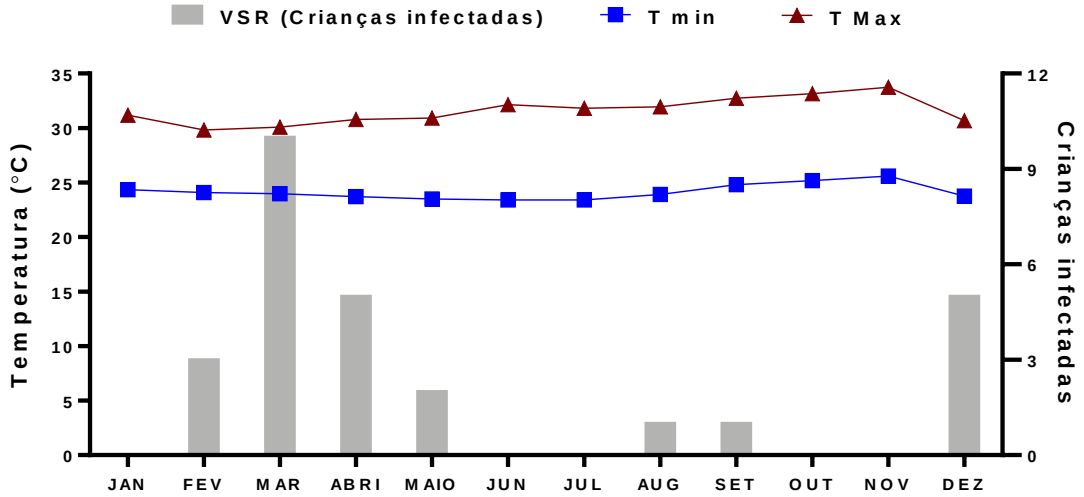
A)



B



C)



D)

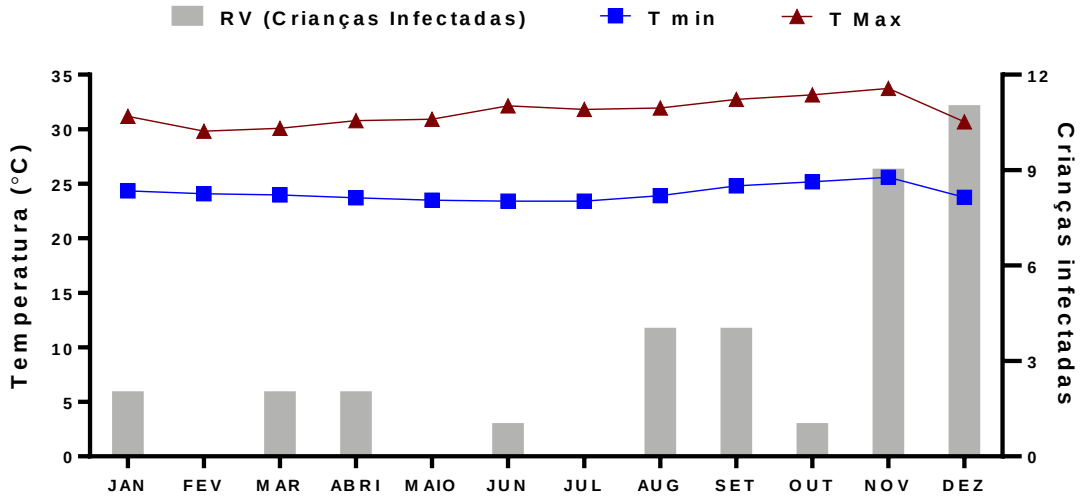


Figura 2 - Análise temporal entre as variáveis climáticas e a presença do vírus

A) Precipitação. **B)** Velocidade do vento. **C)** Temperatura Máxima e mínima associada ao RSV. **D)** Temperatura máxima e mínima associada ao RV.

DISCUSSÃO

Os resultados desta pesquisa mostraram que infecções virais respiratórias na infância estão associadas a fatores preditores da asma como histórico familiar de alergia, presença de sibilos e sensibilização a alérgenos. Observou-se ainda correlação entre sazonalidade do RV e RSV em relação ao clima (seco e chuvoso) e a associação com outras variáveis como precipitação, velocidade do vento e temperatura máxima.

A presença de histórico familiar de alergias em parentes de primeiro grau como pai, mãe ou irmão aumenta as chances do desenvolvimento de asma na infância em até 50% (SHEIKH et al., 2016). Estudos anteriores sobre a prevalência da asma no município de São Luís - MA evidenciaram que aproximadamente 15% dos das crianças que participaram do estudo apresentavam sintomas comuns de portadores de asma e associação com histórico familiar de asma, presença de rinite alérgica e sibilância nos anos iniciais de vida (LIMA et al., 2012).

A exposição aos alérgenos de ácaros e baratas nos primeiros 3 meses de vida tem sido associada com desenvolvimento de sibilos recorrentes e asma em crianças (NASPITZ et al., 2004). Os resultados deste trabalho mostraram que os pacientes com infecção respiratória aguda e asma foram associados a sensibilização por *Derp*, *Derf*, *Blot*, e *Pera*, além de alérgenos de gato e cachorro, com cada participante portador de asma sendo sensibilizado a pelo menos um dos alérgeno testados. Na cidade de São Paulo - SP, observou-se que as espécies de ácaros do tipo *D. pteronyssinus* e *B. tropicalis* representaram 50% e 26%, respectivamente, dos alérgenos presentes na poeira domiciliar em estudos de outros autores (BAQUEIRO et al. 2007). Pesquisas realizadas nas cidades de Salvador, Recife e Rio de Janeiro demonstraram que os ácaros dessas espécies também são os principais indutores da sensibilização alérgica e responsáveis pelas maiores porcentagens da frequência de testes cutâneos positivos (YU, LIN et al. 2008) Em Surakarta, Indonésia, a sensibilização dos alérgenos de poeira domiciliar mostrou-se mais elevada para *D. farinae* (62,1%), seguida por *D. pteronyssinus* (51,7%) e *Blomia tropicalis* (48,3%) (SUSANTO et al., 2017).

Tão importante quanto a sensibilização aos alérgenos, a bronquite induzida por esses vírus durante a primeira infância está fortemente ligada ao desenvolvimento posterior de alergias e asma (JARTTI; KORPPI, 2011) . Evidências sugerem que fatores genéticos e ambientais determinam o tipo de resposta imune que está envolvida nas infecções por RV e RSV, o que contribui para o desenvolvimento da asma tardia (DARVEAUX; LEMANSKE,

2014). De fato, foi observado na presente pesquisa uma tendência na associação de asma com RV. Outros autores demonstraram que 92,2% dos casos de exacerbação da asma se manifestaram pela presença de agentes virais, com ênfase nas infecções respiratórias causadas pelo rinovírus humano, e que o período de circulação viral pode estar correlacionado com a frequência de casos de exacerbação da asma (COSTA; COSTA; CAMARGOS, 2014).

Ao analisar a presença do RV e RSV e a sua sazonalidade na região de São Luís - MA, observou-se a associação entre o RV e o clima seco; e entre RSV e o clima chuvoso. No Maranhão, o clima equatorial é dominante na parte oeste do Estado, proporcionando médias pluviométricas e temperaturas elevadas, o que faz com que a região ganhe influência do clima tropical, com maiores taxas de chuvas nos primeiros meses do ano, possibilitando a manifestação das infecções virais respiratórias. Em um estudo realizado em Sergipe, foi observada a prevalência do RSV nos meses de março a julho, época em que ocorrem maiores concentrações de chuvas na região (VASCONCELOS, 2013).

Uma vez observada a diferença entre o clima chuvoso e seco, foi realizada a correlação com a presença dos vírus e variáveis climáticas de precipitação e velocidade do vento, temperatura máxima e mínima. Verificou-se uma correlação positiva entre o RSV com precipitação e uma correlação negativa com temperatura máxima e a velocidade do vento. Esses resultados corroboram com um estudo feito na região ocidental da Austrália, que demonstrou uma incidência do RSV e o clima da região caracterizado por estação chuvosa, com a possibilidade das variáveis climáticas como precipitação do vento e umidade pode favorecer a sobrevivência viral (HOGAN et al., 2016).

Um estudo mostrou que o tempo e a permanência sazonal do RSV foram consistentes em diferentes países de ano para ano, com o RSV atingindo picos em regiões de climas com alta precipitação anual (Bangladesh, Guatemala e Tailândia) durante os meses úmidos (HAYNES et al., 2013). Além disso, Paynter (2015) também evidenciou que a sazonalidade da taxa de infecção respiratória aguda por RSV em crianças em setores hospitalares nas Filipinas estava relacionada à maior precipitação do clima.

CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstraram que a incidência de infecções respiratórias por RSV e RV varia de acordo com as diferenças climáticas sazonais da região de São Luís - MA e que pode estar relacionada com sobrevida dos agentes virais e à suscetibilidade do hospedeiro. Outrossim, ocorreu uma tendência na associação da infecção por RV com a asma. Conhecer os fatores que contribuem para a transmissão de vírus respiratórios permite auxiliar na prevenção de futuros surtos e no desenvolvimento ou atualização dos protocolos terapêuticos para esses microrganismos.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, J. V. V. et al. Influência do clima na incidência de infecção respiratória aguda em crianças nos municípios de Campina Grande e Monteiro, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 30, n. 4, p. 467–477, 2015.

BAQUEIRO, T. et al. Asthma and rhinitis symptoms in individuals from different socioeconomic levels in a Brazilian city. **Allergy Asthma Proc**, v. 28, n. 3, p. 362-367, 2007.

CICEK, C. et al. Prevalence and seasonal distribution of respiratory viruses in patients with acute respiratory tract infections, 2002-2014. **Mikrobiyoloji bulteni**, v. 49, n. 2, p. 188–200, 2015.

COSTA, L. D. C.; COSTA, P. S.; CAMARGOS, P. A. M. Exacerbation of asthma and airway infection: is the virus the villain?. **Jornal de Pediatria**, v. 90, n. 6, p. 542–555, 2014.

DARVEAUX, J. I.; LEMANSKE, R. F. J. Infection-related asthma. **The journal of allergy and clinical immunology**, v. 2, n. 6, p. 658–663, 2014.

HAYNES, A. K. et al. Respiratory syncytial virus circulation in seven countries with Global Disease Detection Regional Centers. **The Journal of infectious diseases**, v. 208 Suppl, p. S246-54, dez. 2013.

HOGAN, A. B. et al. Time series analysis of RSV and bronchiolitis seasonality in temperate and tropical Western Australia. **Epidemics**, v. 16, p. 49–55, set. 2016.

JACKSON, D. J. Inhaled interferon: A novel treatment for virus-induced asthma? **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 190, n. 2, p. 123–124, 2014.

JARTTI, T.; KORPPI, M. Rhinovirus-induced bronchiolitis and asthma development. **Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology**, v. 22, n. 4, p. 350–355, 2011.

KLAASSEN, E. M. M. et al. Exhaled biomarkers and gene expression at preschool age improve asthma prediction at 6 years of age. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 191, n. 2, p. 201–207, 2015.

KLEINES, M.; SCHELLENBERG, K.; RITTER, K. Efficient extraction of viral DNA and viral RNA by the Chemagic viral DNA/RNA kit allows sensitive detection of

cytomegalovirus, hepatitis B virus, and hepatitis G virus by PCR. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 11, p. 5273–5276, 2003.

LIMA, W. L. et al. Asthma and associated factors in students 13 and 14 years of age in Sao Luis, Maranhao State, Brazil. **Cadernos de saude publica**, v. 28, n. 6, p. 1046–1056, 2012.

LIMA-NETO, L. G. et al. High incidence of rhinovirus infection in children with community acquired pneumonia from a city in the Brazilian pre-Amazon region. **J Med Virol**. 2019. No prelo.

NASPITZ, C. K. et al. Sensitization to inhalant and food allergens in Brazilian atopic children by in vitro total and specific IgE assay. Allergy Project – PROAL. **J Pediatr.**, v. 80, n. 3, p. 203-210, 2004.

PAYNTER, S. Humidity and respiratory virus transmission in tropical and temperate settings. **Epidemiology and infection**, v. 143, n. 6, p. 1110–1118, 2015.

PRICE, R. H. M.; GRAHAM, C.; RAMALINGAM, S. Association between viral seasonality and meteorological factors. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 929, 2019.

SHEIKH, S. I. et al. Environmental exposures and family history of asthma. **The Journal of asthma**, v. 53, n. 5, p. 465–470, 2016.

SILVEIRA GRAUDENZ, G. et al. Tendências da mortalidade da asma nas faixas etárias de 0 a 4 anos e 5 a 34 anos no Brasil. **Revista Brasileira de Pneumologia**, v. 43, n. 1, p. 24–31, 2017.

SOUZA-MACHADO, C.; SOUZA-MACHADO, A.; CRUZ, A. Asthma Mortality Inequalities in Brazil: Tolerating the Unbearable. The Scientific World Journal, v.2012, ID. 625829, p. 1-2, 2012.

SUSANTO, A. J. et al. The Differences in Serum Quantitative Specific IgE Levels Induced by *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* and *Blomia tropicalis* Sensitization in Intermittent and Persistent Allergic Asthma. **Acta medica Indonesiana**, v. 49, n. 4, p. 299–306, 2017.

TEERATAKULPISARN, J. et al. Rhinovirus infection in children hospitalized with acute bronchiolitis and its impact on subsequent wheezing or asthma: a comparison of etiologies.

Asian Pacific journal of allergy and immunology, v. 32, n. 3, p. 226–234, 2014.

VASCONCELOS, Gabriela Alves. **Ocorrência e variação sazonal das Infecções Respiratórias Baixas Virais Internadas em Hospital de Urgência do Nordeste Brasileiro.** 2013. Graduação (Bacharelado em Medicina). Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2013.

Sugestão de revistas científicas para publicação dos artigos, considerando o qualis de ciências ambientais no quadriênio 2013-2016:

1. Viruses, Qualis A1

2. Environmental Microbiology (Print), Qualis A1

3. Respiratory Research, Qualis A1

4. Scientific Reports, Qualis A1

5. Journal of Medical Virology -A2

6. Journal of Virology – A1

7. Virology Journal – A2

ANEXO A – TERMO DE ASENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE)

UNIVERSIDADE CEUMA
COORDENAÇÃO DE PÓS_GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE MESTRADO EM MEIO AMBIENTE
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Comitê de Ética em pesquisa da
Universidade CEUMA
Rua Josué Montello, No. 1 – Renascença II,
Cep 65075-120 – São Luís –MA, 98 -3214-4242

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Estudo:

Caracterização do perfil imunológico e ambiental das crianças e adolescentes com sibilância e asma no estado do Maranhão.

Você está sedo convidado a participar de um estudo de pesquisa que se destina a avaliar o perfil imunológico e ambiental das crianças e adolescentes com sibilância e asma no estado do Maranhão, que é um fator de risco para doenças alérgicas. Este estudo é importante por que vai determinar a quantidade de ácaros, baratas, fungos, vírus, agentes biológicos, bem como as respostas imunológicas do organismo.

O estudo será feito da seguinte maneira: Serão coletados os dados dos participantes através do questionário ISSAC com perguntas relacionadas à pesquisa, coleta de poeira acumulada nas residências dessas crianças e adolescentes envolvidos na pesquisa. Você contará com a assistência do pesquisador se necessário, em todas as etapas de sua participação no estudo.

Os benefícios que você deverá esperar com a sua participação, mesmo que indiretamente serão: melhor prognóstico da doença, se presente, encaminhamento para o especialista, para tratamento.

Sempre que você desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo. A qualquer momento, você poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, poderá retirar seu consentimento, sem que para isto sofra qualquer penalidade ou prejuízo, ou seja, sem interferi na continuidade do seu acompanhamento médico.

Será garantido o sigilo quanto a sua identificação e das informações obtidas pela sua participação, exceto aos responsáveis pelo estudo, e a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto. Você não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Você será indenizada por qualquer despesa que venha a ter com sua participação nesse estudo e, também, por todos os danos que venha a sofrer pela mesma razão, sendo que, para essas despesas estão garantidos os recursos.

São Luís, _____/_____/_____

_____

Orientadora

Profa. Dra. Angela Falcai

Contato: (98) 98102-1300

_____

Pesquisador Responsável

Giselmo Pinheiro Lopes

Contato: (98) 98809-0101

_____

Assinatura do participante ou responsável

ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização do perfil imunológico e identificação do Vírus Sincicial Respiratório e Rinovírus em crianças e adolescentes com asma no estado do Maranhão.

Pesquisador: Angela Falcai

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 47855215.3.0000.5084

Instituição Proponente: Centro Universitário do Maranhão - UniCEUMA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.292.904

Apresentação do Projeto:

Infecções com vírus sincicial respiratório e/ou rinovírus humano tem importante causa nas doenças do trato respiratório em crianças e uma maior

causa de sibilância em crianças. Bronquite induzida pelos vírus RSV e/ou HRV durante a primeira infância está fortemente ligada ao

desenvolvimento posterior de alergias e asma. Evidências sugerem que ambos os fatores genéticos e ambientais determinam o tipo de resposta

imune que está envolvida em infecção por RSV e/ou HRV, a qual, pode ser afetada para o desenvolvimento da asma. Sabemos que nas infecções

virais, a baixa produção de citocinas do tipo Th1 estão associadas ao desencadeamen da asma. Nosso objetivo é caracterizar o perfil imunológico

e investigar a incidência do Vírus Sincicial Respiratório e Rinovírus em crianças e adolescentes com asma no estado do Maranhão.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Objetivo é caracterizar o perfil imunológico e identificar os Vírus Sincicial Respiratório e Rinovírus em crianças e adolescentes asmáticas no estados do Maranhão.

Objetivo Secundário:

- Selecionar crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos que apresentam ou não infecções respiratórias virais;
- Identificação genética das principais cepas virais (Vírus Sincicial Respiratório e Rinovírus Humano);
- Dosagem de citocinas do tipo Th1 e Th2 na cultura de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de crianças e adolescentes estimuladas com ou sem agonistas de TLR3 e TLR7.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos da retirada de sangue são: hematoma local (“rouxidão"), algum desconforto e, raramente, tontura; A coleta de materiais não trás nenhum risco a saúde e não vai piorar a saúde do paciente.

Benefícios:

Este projeto poderá proporcionar um maior conhecimento na fisiopatogenia da asma, de acordo com os seguinte parâmetros: mostrar a importância das infecções virais pelos vírus sincicial respiratório e rinovírus no desencadeamento da resposta imune da asma. Há poucos estudos relatados nesse detalhamento de identificação dos tipos virais, bem como o perfil imunológico envolvido dentro do quadro asmático. Há uma déficit deste estudo principalmente na região de São Luis-MA, onde poderemos fazer um estudo mais aprofundado das crianças e adolescentes que são acometidas por asma induzida por vírus. E sermos os pioneiros e únicos nessa área. Aprofundando, uma vez o vírus identificado e o mecanismo imunológico compreendido podemos sugerir uma relação de fármacos com ação antirretroviral e imunomoduladores que poderiam contribuir para o tratamento ou profilaxia do desenvolvimento da asma induzida pe vírus. Os estudos destes mecanismos são de grande importância científica e

tecnológica, uma vez que existem poucos trabalhos relacionados com a etiopatogenia e tratamento da asma induzida por vírus.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta relevância científica e certamente contribuirá para esclarecer aspectos importantes a respeito do tema. A equipe executora apresenta a capacitação necessária para realizar a pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos obrigatórios foram apresentados e encontram-se corretamente preenchidos.

Recomendações: Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Projeto aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_512829.pdf	06/07/2015 09:14:06		Aceito
Outros	Carta de anuência.pdf	06/07/2015 09:13:42		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo-de-Consentimento-Livre-e-Esclarecido.doc	06/07/2015 09:12:48		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_512829.pdf	15/05/2015 09:21:36		Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.jpg	15/05/2015 08:40:18		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	12/05/2015 09:21:48		Aceito

Situação do Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

SAO LUIS, 22 de Outubro de 2015

Assinado por: Eduardo Durans Figuerêdo

(Coordenador)