

## Correlação entre mediadores inflamatórios na secreção nasofaríngea e no soro de crianças com infecção do trato respiratório inferior por vírus sincicial respiratório e a gravidade da doença \*

Correlation between inflammatory mediators in the nasopharyngeal secretion and in the serum of children with lower respiratory tract infection caused by respiratory syncytial virus and disease severity

Renata Amato Vieira, Edna Maria de Albuquerque Diniz,  
Maria Esther Jurfest Rivero Ceccon

### Resumo

**Objetivo:** Avaliar se as concentrações dos mediadores inflamatórios (CCL5, *soluble intercellular adhesion molecule type 1* [sICAM-1], TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10) na secreção nasofaríngea e no soro de crianças com infecção do trato respiratório inferior (ITRI) por vírus sincicial respiratório (VSR) apresentam correlação com os marcadores clínicos de gravidade da doença. **Métodos:** Entre julho de 2004 e dezembro de 2005, 30 crianças com idade inferior a três meses, diagnosticadas com ITRI por VSR e admitidas em uma UTI neonatal foram incluídas neste estudo. **Resultados:** Houve uma correlação positiva significativa entre a gravidade da doença na admissão hospitalar, determinada por um sistema de escore clínico modificado, e as concentrações de sICAM-1 e de IL-10 na secreção nasofaríngea e de IL-6 no soro dos pacientes. Houve também uma correlação positiva significativa entre a concentração de IL-6 no soro e o tempo de oxigenoterapia e a duração da internação. **Conclusões:** As concentrações de sICAM-1 e IL-10 na secreção nasofaríngea e de IL-6 no soro determinadas na admissão poderiam ser usadas como marcadores de gravidade da ITRI por VSR. Os níveis de IL-6 determinados no soro na admissão também poderiam ser usados para prever o prolongamento da oxigenoterapia e da duração da internação.

**Descritores:** Vírus sincicial respiratório humano; Quimiocina CCL5; Molécula 1 de adesão intercelular; Interleucina-6; Interleucina-10; Fator de necrose tumoral alfa.

### Abstract

**Objective:** To determine whether the concentrations of inflammatory mediators (CCL5, soluble intercellular adhesion molecule type 1 [sICAM-1], TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10) in the nasopharyngeal secretion and in the serum of children with lower respiratory tract infection (LRTI) caused by respiratory syncytial virus (RSV) correlate with the clinical markers of disease severity. **Methods:** Between July of 2004 and December of 2005, 30 children less than three months of age, diagnosed with LRTI caused by RSV and admitted to a neonatal ICU, were included in this study. **Results:** The severity of disease at hospital admission, as determined with a modified clinical scoring system, presented a significant positive correlation with sICAM-1 and IL-10 concentrations in the nasopharyngeal secretion, as well as with IL-6 concentrations in the serum, of the patients. In addition, serum IL-6 concentrations presented a significant positive correlation with the duration of oxygen therapy and with the length of hospital stay. **Conclusions:** At hospital admission, the concentrations of sICAM-1 and IL-10 in the nasopharyngeal secretion, as well as the concentration of IL-6 in the serum, could be used as markers of severity in patients with LRTI caused by RSV. The serum levels of IL-6 determined at admission could also be used to predict prolonged oxygen supplementation and hospital stay.

**Keywords:** Respiratory syncytial virus, human; Chemokine CCL5; Intercellular adhesion molecule-1; Interleukin-6; Interleukin-10; Tumor necrosis factor-alpha.

\* Trabalho realizado na Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal - UCINE - Instituto da Criança, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

Endereço para correspondência: Renata Amato Vieira. Praça Irmãos Karmann, 111, apto. 154B, Sumaré, CEP 01252-000, São Paulo, SP, Brasil.

Tel 55 11 3872-3149. Fax 55 11 3872-3149. E-mail: renata.vieira@icr.usp.br

Apoio financeiro: Nenhum.

Recebido para publicação em 16/6/2009. Aprovado, após revisão, em 22/10/2009.

## Introdução

As infecções do trato respiratório inferior (ITRI) causadas por vírus sincicial respiratório (VSR) constituem um dos tipos de doenças mais frequentes e graves nos primeiros meses de vida,<sup>(1)</sup> principalmente nas crianças com idade inferior a seis semanas e naquelas que são pré-termo.<sup>(2)</sup> O VSR é responsável por 50-90% dos casos de bronquiolite e por aproximadamente 50% de todas as pneumonias na infância, principalmente nos meses de outono e inverno.<sup>(3-5)</sup>

Estudos *in vitro* e em crianças com infecção por VSR demonstram que as células epiteliais das vias aéreas e os macrófagos alveolares produzem diversos mediadores inflamatórios, como prostaglandinas, leucotrienos, citocinas (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 e IL-10), quimiocinas (IL-8 e CCL5), *soluble intercellular adhesion molecule type 1* (sICAM-1, molécula de adesão intercelular tipo 1 solúvel) e os fatores de crescimento.<sup>(6,7)</sup> Concentrações menores de citocinas Th1, como o TNF- $\alpha$ , e mais elevadas de citocinas Th2, como a IL-6, são descritas na fase aguda da doença grave causada por VSR.<sup>(8)</sup>

O TNF- $\alpha$  e a IL-1 $\beta$ , sintetizados pelas células epiteliais respiratórias infectadas por VSR, ativam a cascata de mediadores pró-inflamatórios e promovem recrutamento, migração e adesão de tipos específicos de leucócitos (monócitos, neutrófilos e linfócitos T) aos tecidos afetados pela ação viral, com posterior degranulação e aumento do dano tecidual. A ativação das células inflamatórias dá início à produção de novos mediadores pró e anti-inflamatórios.<sup>(9)</sup> A elevação dos mediadores inflamatórios tem um efeito significativo tanto na resposta inflamatória inicial como nos eventos imunológicos tardios.

Tendo em vista a frequência, a morbidade e a mortalidade elevadas das infecções pulmonares por VSR na infância e a importância dos mediadores inflamatórios CCL5, sICAM-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 na gênese dos processos inflamatórios e imunológicos, além da ausência de estudos no Brasil correlacionando a resposta inflamatória no epitélio respiratório e no soro de crianças com idade inferior a três meses à gravidade da doença respiratória por VSR, é que decidimos realizar uma pesquisa para avaliar o papel desses mediadores inflamatórios na patogênese da ITRI por VSR nos três primeiros meses de idade.

O objetivo deste estudo foi avaliar se as concentrações dos mediadores inflamató-

rios (CCL5, sICAM-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10) na secreção nasofaríngea e no soro de crianças com idade inferior a três meses, diagnosticadas com ITRI por VSR, correlacionam-se à gravidade da doença.

## Métodos

No período compreendido entre julho de 2004 e dezembro de 2005, foram incluídas no estudo de corte transversal 30 crianças com idade inferior a três meses, diagnosticadas com ITRI por VSR, sem comorbidades, internadas na Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal (UCINE) do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), que apresentavam bronquiolite e/ou pneumonia. Durante o período do estudo, 39 crianças foram internadas na UCINE por ITRI. Não houve um grupo controle de crianças saudáveis na mesma faixa etária em nosso estudo devido a implicações éticas, tal como a coleta de exames desnecessários em lactentes jovens e sem sintomas respiratórios. Não houve recusa por parte dos pais ou responsáveis para que as crianças participassem da pesquisa.

Foram excluídos do estudo 9 pacientes que apresentavam ITRI com resultado negativo ou inconclusivo para a pesquisa de VSR nas vias aéreas e aqueles com infecção por VSR associada à cardiopatia cianogênica, displasia broncopulmonar, doença do refluxo gastroesofágico, sepsise bacteriana, história familiar de atopia ou em uso de broncodilatadores e/ou corticosteroides. Tanto as patologias citadas acima como a utilização de medicamentos broncodilatadores ou anti-inflamatórios podem alterar o padrão respiratório dos pacientes e os níveis dos mediadores inflamatórios no organismo.

Os critérios para definição de ITRI foram clínicos e radiológicos. Os critérios clínicos estabelecidos foram presença de taquipneia, cianose, retrações torácicas, roncos, sibilos ou crepitações, difusos ou localizados, ao exame físico do tórax realizado por uma das autoras. Os critérios radiológicos foram hiperinsuflação pulmonar difusa e/ou velamento intersticial/alveolar.

Utilizamos, para avaliar a gravidade da doença respiratória, os seguintes marcadores clínicos: sistema de escore clínico modificado de De Boeck et al.<sup>(10)</sup> (Tabela 1), tempos de oxigenoterapia e de ventilação mecânica, assim como duração da internação.

**Tabela 1** – Sistema de escore clínico modificado.

Escore	Frequência respiratória, ciclos/min	Sibilância	Saturação de oxigênio	Uso de musculatura acessória
0	≤ 30	Nenhuma	≥ 95%	Nenhum
1	31-45	Término da expiração com estetoscópio	90-94%	Mínimo
2	46-60	Expiração total e inspiração com estetoscópio	85-89%	Moderado
3	> 60	Expiração e inspiração sem estetoscópio	< 85%	Máximo

Valores de escore e classificação da gravidade: Inferior ou igual a 3: normal; de 4 a 6: leve; de 7 a 9: moderada; e de 10 a 12: grave. Modificado de De Boeck et al.<sup>(10)</sup>

Para todos os pacientes do estudo, foram preenchidos protocolos específicos para doenças pulmonares, que incluíam avaliação de comorbidades, pesquisa para vírus respiratórios (VSR, vírus influenza, vírus parainfluenza, adenovírus, metapneumovírus e rinovírus) e hemocultura. Realizamos sorologia para *Chlamydia trachomatis* nos pacientes com conjuntivite prévia ou concomitante ao quadro respiratório e naqueles com ITRI cujas mães apresentavam leucorreia na época do parto. O estudo foi aprovado pela Comissão de Pesquisa e Ética do Departamento de Pediatria e pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HC-FMUSP. O consentimento livre e esclarecido foi obtido junto aos pais ou responsáveis pelas crianças após a exposição dos objetivos da pesquisa e dos procedimentos aos quais essas seriam submetidas.

Os aspirados de secreção nasofaríngea, bem como o sangue periférico, para a medida das concentrações dos mediadores inflamatórios CCL5, sICAM-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 foram coletados nas primeiras 24 h de internação do paciente, durante a fisioterapia respiratória de rotina da criança. Coletamos apenas a secreção nasofaríngea das crianças envolvidas no estudo, mesmo naquelas intubadas, a fim de unificar o método de coleta da secreção respiratória, visto que o aspirado nasofaríngeo apresenta um risco baixo de problemas para o paciente durante a sua coleta, além de ser um procedimento de fácil obtenção de espécimes com relevância imunológica para todo o trato respiratório.

Com o paciente em posição supina e a cabeça na linha média, foi introduzida uma

sonda siliconizada descartável número seis ou oito até a nasofaringe posterior das crianças, sem a administração prévia de soro fisiológico para evitar qualquer diferença dilucional entre os espécimes estudados. Essa sonda foi conectada a um frasco plástico, e esse foi acoplado a uma extensão plástica ligada ao aspirador a vácuo. Todo o procedimento foi realizado de forma estéril, sendo aspirada a secreção nasofaríngea em quantidade suficiente para o processamento. Os frascos contendo os espécimes coletados foram identificados, acondicionados em gelo e transportados, de imediato, ao laboratório.

Um frasco com aproximadamente 1 mL de aspirado nasofaríngeo foi utilizado para a pesquisa de vírus respiratórios através de reação de imunofluorescência indireta com anticorpos monoclonais específicos (Respiratory Viruses Panel 1 Viral Screening & Identification Kit; Chemicon International Inc., Temecula, CA, EUA) para a detecção rápida do antígeno viral (sensibilidade de 80-90% e especificidade > 95%) e isolamento viral em culturas celulares de linhagem HEp-2 (carcinoma epidermoide humano), NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano), MDCK (rim de cão Madin-Darbin) e Vero (rim de macaco verde africano), com sensibilidade de 60-90% e especificidade de 100%, quando o resultado do teste rápido foi negativo para vírus respiratórios.<sup>(11)</sup> Desse modo, tentou-se reduzir ao máximo os resultados falso-negativos. A RT-PCR em tempo real foi utilizada para a identificação do metapneumovírus e do rinovírus, e também para a confirmação da presença do VSR.

Outro frasco com 2 mL de aspirado nasofaríngeo e um tubo com gel siliconizado contendo 2 mL de sangue periférico foram encaminhados ao laboratório para centrifugação imediata a 3.000 rpm durante 5 min. O sobrenadante da secreção nasofaríngea e o soro foram fracionados em cinco tubos plásticos do tipo Eppendorf, com 200 µL cada um, e congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$  para a determinação posterior das concentrações dos mediadores inflamatórios.

Os sobrenadantes de secreção nasofaríngea e os soros foram descongelados e as concentrações de CCL5, sICAM-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 foram determinadas através de ensaio imunoenzimático com o *kit* Quantikine (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. As análises dos níveis dos mediadores inflamatórios foram realizadas em duplicatas. A leitura foi realizada por espectrofotometria com filtro de 450 nm, e os limites inferiores de detecção foram os seguintes: CCL5, 8 pg/mL; sICAM-1, 15,6 pg/mL; TNF- $\alpha$ , 4,4 pg/mL; IL-6, 4,7 pg/mL; e IL-10, 3,9 pg/mL. Os ensaios imunoenzimáticos utilizados apresentam uma precisão intraensaio de 1-4% e uma precisão interensaio de 2-7%.

Para a comparação das concentrações dos mediadores inflamatórios entre a secreção nasofaríngea e o soro foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Foi investigada a presença de correlação entre as concentrações de mediadores inflamatórios (secreção nasofaríngea e soro) e os marcadores clínicos de gravidade da doença respiratória por VSR através do coeficiente de correlação de Spearman.<sup>(12)</sup> Este estudo foi desenhado para identificar associações clinicamente significantes. O tamanho

da amostragem ( $n = 30$ ) foi calculado com base nos valores obtidos para as concentrações de CCL5, TNF- $\alpha$  e IL-6 (média e desvio-padrão) por Chung e Kim<sup>(13)</sup> e Wang et al.<sup>(14)</sup> O nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ . O banco de dados foi criado no programa Excel 2007, e o programa estatístico utilizado foi o *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 11.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

## Resultados

Dos 30 pacientes com ITRI por VSR incluídos no estudo, 20 (67%) eram do gênero masculino, e 22 (73%) nasceram a termo. A média de peso à admissão hospitalar foi de 3.593 g. (variação: 2.000-4.820 g.). A média da idade ao início dos sinais e sintomas foi de 24,3 dias (variação: 11-49 dias), e a idade à admissão teve média de 27,7 dias (variação: 12-50 dias). Quanto ao diagnóstico, 9 crianças (30%) eram portadoras de bronquiolite, 3 (10%) de pneumonia e 18 (60%) de bronquiolite associada à pneumonia. De acordo com o sistema de escore clínico modificado à admissão hospitalar, 16 pacientes (53%) apresentavam quadro respiratório de normal a leve e 14 (47%) de moderado a grave, com escore médio de 6,4 (variação: 1-12). Necessitaram de oxigenoterapia durante a internação na UCINE 26 pacientes (87%), com média do tempo de uso de oxigênio suplementar de 8,5 dias (variação: 1-43 dias). Foram submetidas à ventilação mecânica 10 crianças (33%), com média de tempo de 9,7 dias (variação: 3-32 dias). A duração da internação foi em média de 11,9 dias (variação: 4-50 dias). Duas crianças (7%) apresentavam, à admissão hospitalar, infecção concomitante ao VSR pelos seguintes agentes etiológicos:

**Tabela 2** - Comparação entre as concentrações dos mediadores inflamatórios na secreção nasofaríngea e no soro à admissão hospitalar de crianças com idade inferior a três meses e infecção do trato respiratório inferior por vírus sincicial respiratório.<sup>a</sup>

Mediadores inflamatórios	Concentrações, pg/mL		p
	Secreção nasofaríngea <sup>a</sup>	Soro	
	(n = 30)	(n = 30)	
CCL5	240,8 (98,8-554,4)	842,7 (764,8-878,4)	< 0,001
sICAM-1	774,7 (529,0-1.062,0)	1.573,3 (1.513,0-1.631,0)	< 0,001
TNF- $\alpha$	41,1 (12,5-258,1)	4,4 (4,4-4,4)	< 0,001
IL-6	209,4 (138,9-325,0)	11,6 (7,5-41,4)	< 0,001
IL-10	11,9 (11,9-57,4)	53 (53-53)	< 0,001

sICAM-1: *soluble intercellular adhesion molecule type 1*. <sup>a</sup>Resultados expressos em mediana (intervalo interquartilico).

**Tabela 3** – Correlações entre as concentrações elevadas dos mediadores inflamatórios na secreção nasofaríngea e no soro e os marcadores clínicos de gravidade da doença por vírus sincicial respiratório.<sup>a</sup>

Mediadores inflamatórios	Tipo de amostra	Sistema de escore clínico modificado à admissão	Tempo de oxigenoterapia, dias	Tempo de ventilação mecânica, dias	Duração da hospitalização, dias
		(n = 30)	(n = 26)	(n = 10)	(n = 30)
CCL5	Secreção nasofaríngea	0,325 (0,079)	0,307 (0,128)	-0,253 (0,470)	0,096 (0,614)
	Soro	0,057 (0,765)	0,077 (0,708)	-0,025 (0,946)	0,113 (0,553)
sICAM-1	Secreção nasofaríngea	0,401 (0,028)	0,224 (0,271)	-0,018 (0,973)	0,360 (0,051)
	Soro	-0,031 (0,871)	-0,173 (0,397)	-0,605 (0,067)	-0,042 (0,827)
TNF- $\alpha$	Secreção nasofaríngea	0,120 (0,527)	0,168 (0,412)	0,108 (0,759)	0,268 (0,152)
	Soro	-0,113 (0,552)	-0,148 (0,472)	-0,118 (0,733)	0,036 (0,848)
IL-6	Secreção nasofaríngea	0,317 (0,088)	0,162 (0,430)	-0,408 (0,248)	0,143 (0,451)
	Soro	0,469 (0,009)	0,445 (0,023)	-0,222 (0,537)	0,572 (0,001)
IL-10	Secreção nasofaríngea	0,412 (0,024)	0,271 (0,181)	-0,231 (0,514)	0,181 (0,337)
	Soro	-0,099 (0,604)	-0,122 (0,551)	-0,118 (0,733)	0,064 (0,735)

sICAM-1: *soluble intercellular adhesion molecule type 1*. r: coeficiente de correlação de Spearman. <sup>a</sup>Resultados expressos em r (valor p).

*Chlamydia trachomatis* (um caso) e metapneumovírus humano (um caso). Duas crianças (7%) evoluíram com sepse por *Staphylococcus* sp. coagulase negativo oxacilina resistente durante a internação, e 3 (10%) desenvolveram infecção do trato urinário, sendo dois casos por *Escherichia coli* e um por *Enterococcus faecalis*. Não houve óbitos entre os pacientes envolvidos no estudo. Nenhuma criança recebeu ribavirina, broncodilatadores ou corticosteroides durante a internação na UCINE.

As medianas das concentrações de CCL5, sICAM-1 e IL-10, medidas no soro à admissão hospitalar das crianças com infecção por VSR, foram maiores do que aquelas na secreção nasofaríngea, de forma estatisticamente significativa, enquanto as medianas das concentrações de IL-6 e TNF- $\alpha$  na secreção nasofaríngea foram significativamente mais elevadas (Tabela 2).

Na análise das correlações entre o sistema de escore clínico modificado, avaliado no dia da internação, e as concentrações dos mediadores inflamatórios na secreção nasofaríngea e no soro (primeiros espécimes) dos pacientes com ITRI por VSR, houve correlação positiva significativa com sICAM-1 (r = 0,401; p = 0,028) e IL-10 (r = 0,412; p = 0,024) na secreção nasofaríngea e com IL-6 (r = 0,469; p = 0,009) no soro (Tabela 3).

## Discussão

A bronquiolite e a pneumonia por VSR são doenças que possuem prevalência alta na população pediátrica em todos os continentes, com espectro amplo de manifestações clínicas e comprometimento pulmonar de intensidade variável.<sup>(15-18)</sup> Estudos da resposta dos mediadores inflamatórios durante a infecção por VSR contribuem para o melhor entendimento da patogênese da doença pelo vírus e da resposta imune.

Níveis de CCL5, sICAM-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 foram detectados em todas as espécimes de secreção nasofaríngea e de soro das crianças com ITRI por VSR internadas na UCINE, confirmando o papel desses mediadores inflamatórios na patogênese da doença. Nossos resultados foram semelhantes aos encontrados por outros autores,<sup>(19,20)</sup> e sugerem que os mediadores pró-inflamatórios CCL5, sICAM-1, TNF- $\alpha$  e IL-6, bem como a citocina regulatória IL-10, exerçam um papel fundamental tanto na resposta inflamatória local como na resposta sistêmica induzida por VSR, apesar da imunidade das mucosas poder ser independente da resposta sistêmica. Optamos por estudar os mediadores inflamatórios CCL5, sICAM-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10 dada a importância dessas citocinas na gênese dos

processos inflamatórios e imunes por VSR e pela ausência de estudos correlacionando os níveis desses mediadores à gravidade da doença respiratória causada por VSR em crianças com idade inferior a três meses.

A importância das citocinas e quimiocinas na gravidade das ITRI por VSR ainda não está completamente elucidada. Pesquisas prévias demonstram que mediadores inflamatórios específicos e os polimorfismos dos seus genes, bem como o desbalanceamento na resposta imune,<sup>(21)</sup> podem contribuir para a gravidade da doença viral.<sup>(22)</sup> A produção adequada de mediadores pró e anti-inflamatórios promove uma atividade antiviral potente, reduzindo a patogênese, a morbidade e a mortalidade da doença respiratória causada por VSR. Quanto mais jovem a criança, maior a dificuldade em regular a produção de mediadores pró e anti-inflamatórios.<sup>(23,24)</sup>

Este estudo é o primeiro a avaliar, no Brasil, a presença de correlação entre as concentrações dos mediadores inflamatórios (CCL5, sICAM-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10) na secreção nasofaríngea e no soro e os marcadores clínicos de gravidade da ITRI por VSR em pacientes com idade inferior a três meses. Os pacientes do nosso estudo com concentrações mais elevadas de sICAM-1 e IL-10 na secreção nasofaríngea e de IL-6 no soro (Tabela 3) apresentaram maior gravidade do quadro respiratório à admissão hospitalar, de acordo com o sistema de escore clínico modificado de De Boeck et al.<sup>(10)</sup> Os pacientes com concentrações mais elevadas de IL-6 à admissão hospitalar evoluíram com tempo de oxigenoterapia e duração da internação mais prolongados.

Nossos resultados sugerem que a produção aumentada, local e sistêmica, de certos mediadores pró e anti-inflamatórios (sICAM-1 e IL-10 pelo epitélio respiratório e IL-6 pelas células mononucleares e neutrófilos do sangue periférico) na fase aguda da ITRI causada por VSR contribuiu para a evolução clínica mais grave e prolongada de alguns pacientes. A sICAM-1 e a IL-10 na secreção nasofaríngea e a IL-6 no soro, determinados à admissão hospitalar, se mostraram marcadores adequados da gravidade da ITRI causada por VSR. A IL-6 no soro à admissão foi capaz de prever quais pacientes evoluíram com tempo de oxigenoterapia e duração da internação mais prolongados. Alguns autores<sup>(25-27)</sup> também demonstraram que a

elevação de mediadores pró e anti-inflamatórios no início do quadro infeccioso está relacionada à maior gravidade da doença por VSR.

A associação entre níveis elevados de IL-10 na secreção nasofaríngea e a gravidade do quadro respiratório ocorreu possivelmente devido ao comportamento imunossupressor dessa citocina.<sup>(28,29)</sup> A maior morbidade das crianças com quadro respiratório de moderado a grave pode ser parcialmente explicada pela ação mais intensa da cascata inflamatória em alguns indivíduos, com aumento do dano ao epitélio respiratório já lesado pela ação do VSR, e pela presença, à admissão hospitalar, de coinfeção com outros agentes etiológicos. Apesar disso, não houve óbitos em nossa casuística, em parte devido à ausência de fatores de risco específicos para doença grave causada por VSR, como displasia broncopulmonar e cardiopatia congênita, e também pela maioria dos nossos pacientes ter nascido a termo.

Uma das limitações do presente estudo foi a ausência de avaliação da associação entre a gravidade do quadro respiratório por VSR e os polimorfismos genéticos das citocinas, o que será enfocado em novos estudos com uma casuística maior. A RT-PCR em tempo real não foi realizada para todos os vírus respiratórios mais comuns em razão da dificuldade de aquisição de amostras nasofaríngeas de lactentes jovens e também pela tentativa de se reduzir o risco de hipóxia e traumas por aspirações mais prolongadas.

Para finalizar, acreditamos que este estudo sirva para sugerir que os mediadores pró-inflamatórios sICAM-1, na secreção nasofaríngea, e IL-6, no soro, assim como a citocina regulatória IL-10, na secreção nasofaríngea, medidos à admissão hospitalar, constituem-se em bons parâmetros de avaliação da resposta inflamatória e imune na ITRI causada por VSR, podendo ser utilizados como marcadores de gravidade da doença. Essas observações poderiam contribuir para o delineamento de novas estratégias terapêuticas direcionadas à imunomodulação da doença por VSR.

## Agradecimentos

Os autores agradecem aos técnicos do Laboratório de Virologia do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo e ao Professor Edison Luiz Durigon, Chefe do Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biomédicas II da USP,

a realização dos exames específicos para vírus respiratórios. Agradecemos também à Lídia Yamamoto e à Professora Thelma Suely Okay, do Laboratório de Investigação Médica (LIM 36) do Instituto da Criança do HC-FMUSP, a análise dos mediadores inflamatórios.

## Referências

1. Macedo SE, Menezes AM, Post P, Albemaz E, Knorst M. Infecção pelo vírus respiratório sincicial em crianças menores de um ano de idade internadas por doença respiratória aguda em Pelotas, RS. *J Pneumol*. 2003;29(1):4-8.
2. Berman S. Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. *Rev Infect Dis*. 1991;13 Suppl 6:S454-62.
3. Filippell MB, Rearick T. Respiratory syncytial virus. *Nurs Clin North Am*. 1993;28(3):651-71.
4. Vieira RA, Diniz EM, Vaz FA. Clinical and laboratory study of newborns with lower respiratory tract infection due to respiratory viruses. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2003;13(5):341-50.
5. Diniz EM, Vieira RA, Ceccon ME, Ishida MA, Vaz FA. Incidence of respiratory viruses in preterm infants submitted to mechanical ventilation. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2005;47(1):37-44.
6. Abbas AK, Lichtman AH. Cytokines. In: Abbas AK, Lichtman AH, editors. *Cellular and molecular immunology*. Philadelphia: Saunders; 2005. p. 243-74.
7. Mariscalco MM. Integrins and cell adhesion molecules. In: Polin RA, Fox WW, Abman SH, editors. *Fetal and neonatal physiology*. Philadelphia: Saunders; 2004. p. 1572-91.
8. Gill MA, Long K, Kwon T, Muniz L, Mejias A, Connolly J, et al. Differential recruitment of dendritic cells and monocytes to respiratory mucosal sites in children with influenza virus or respiratory syncytial virus infection. *J Infect Dis*. 2008;198(11):1667-76.
9. McNamara PS, Smyth RL. The pathogenesis of respiratory syncytial virus disease in childhood. *Br Med Bull*. 2002;61(1):13-28.
10. De Boeck K, Van der Aa N, Van Lierde S, Corbeel L, Eeckels R. Respiratory syncytial virus bronchiolitis: a double-blind dexamethasone efficacy study. *J Pediatr*. 1997;131(6):919-21.
11. Hall CB, Walsh EE, Schnabel KC, Long CE, McConnochie KM, Hildreth SW, et al. Occurrence of groups A and B of respiratory syncytial virus over 15 years: associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized and ambulatory children. *J Infect Dis*. 1990;162(6):1283-90.
12. Armitage P, Berry G. *Statistical methods in medical research*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1994.
13. Chung HL, Kim SG. RANTES may be predictive of later recurrent wheezing after respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002;88(5):463-7.
14. Wang CM, Tang RB, Chung RL, Hwang BT. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 profiles in children with pneumonia. *J Microbiol Immunol Infect*. 1999;32(4):233-8.
15. Anderson LJ, Parker RA, Strikas RL. Association between respiratory syncytial virus outbreaks and lower respiratory tract deaths of infants and young children. *J Infect Dis*. 1990;161(4):640-6.
16. Avendaño LF, Larrañaga C, Palomino MA, Gaggero A, Montaldo G, Suárez M, et al. Community- and hospital-acquired respiratory syncytial virus infections in Chile. *Pediatr Infect Dis J*. 1991;10(8):564-8.
17. Miyao CR, Gilio AE, Vieira S, Hein N, Pahl MM, Betta SL, et al. Viral infections in hospitalized children affected by acute lower respiratory tract disease [Article in Portuguese]. *J Pediatr (Rio J)*. 1999;75(5):334-44.
18. Weber MW, Dackour R, Usen S, Schneider G, Adegbola RA, Cane P, et al. The clinical spectrum of respiratory syncytial virus disease in The Gambia. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17(3):224-30.
19. Bermejo-Martin JF, Garcia-Arevalo MC, De Lejarazu RO, Ardura J, Eiros JM, Alonso A, et al. Predominance of Th2 cytokines, CXC chemokines and innate immunity mediators at the mucosal level during severe respiratory syncytial virus infection in children. *Eur Cytokine Netw*. 2007;18(3):162-7.
20. Jafri HS, Carubelli CM, Sheeran P, Saavedra J, Sanchez PJ, Ramilo O. Systemic IL-6, IL-8, and RANTES response in children with respiratory syncytial virus disease. *Pediatr Res*. 1999;45(4):A164.
21. Legg JP, Hussain IR, Warner JA, Johnston SL, Warner JO. Type 1 and type 2 cytokine imbalance in acute respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(6):633-9.
22. Garofalo RP, Patti J, Hintz KA, Hill V, Ogra PL, Welliver RC. Macrophage inflammatory protein-1alpha (not T helper type 2 cytokines) is associated with severe forms of respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis*. 2001;184(4):393-9.
23. Bennett BL, Garofalo RP, Cron SG, Hosakote YM, Atmar RL, Macias CG, et al. Immunopathogenesis of respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis*. 2007;195(10):1532-40.
24. McNamara PS, Flanagan BF, Selby AM, Hart CA, Smyth RL. Pro- and anti-inflammatory responses in respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Eur Respir J*. 2004;23(1):106-12.
25. Hornsleth A, Klug B, Nir M, Johansen J, Hansen KS, Christensen LS, et al. Severity of respiratory syncytial virus disease related to type and genotype of virus and to cytokine values in nasopharyngeal secretions. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17(12):1114-21.
26. Hornsleth A, Loland L, Larsen LB. Cytokines and chemokines in respiratory secretion and severity of disease in infants with respiratory syncytial virus (RSV) infection. *J Clin Virol*. 2001;21(2):163-70.
27. Oda K, Yamamoto Y. Serum interferon-gamma, interleukin-4, and interleukin-6 in infants with adenovirus and respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Int*. 2008;50(1):92-4.
28. Chung HL, Park HJ, Kim SY, Kim SG. Age-related difference in immune responses to respiratory syncytial virus infection in young children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2007;18(2):94-9.
29. Helminen M, Nuolivilta K, Virta M, Halkosalo A, Korppi M, Vesikari T, et al. IL-10 gene polymorphism at -1082 A/G is associated with severe rhinovirus bronchiolitis in infants. *Pediatr Pulmonol*. 2008;43(4):391-5.

## ***Sobre os autores***

---

### ***Renata Amato Vieira***

Médica Assistente. Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal – UCINE – Instituto da Criança, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

### ***Edna Maria de Albuquerque Diniz***

Professora Associada. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

### ***Maria Esther Jurfest Rivero Ceccon***

Chefe da Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal – UCINE – Instituto da Criança, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.