

Artigo Original

Avaliação da hiperresponsividade brônquica à solução salina hipertônica em crianças e adolescentes*

Bronchial hyperresponsiveness to hypertonic saline challenge in children and adolescents

PAULO KUSSEK¹, NELSON AUGUSTO ROSARIO FILHO², MÔNICA CAT³

RESUMO

Objetivo: Avaliar a hiperresponsividade brônquica à solução salina hipertônica a 4,5% como método alternativo a outros agentes broncoconstritores e sua relação com a sensibilização alérgica do paciente. **Métodos:** Estudo transversal, experimental, com 85 indivíduos assim distribuídos: 45 no grupo de asmáticos e 17 no grupo controle não asmáticos e não alérgicos, que completaram o teste. Para nebulizar a solução salina hipertônica foi utilizado um nebulizador ultra-sônico de grande volume, sucessivamente durante 0,5, 1, 2, 4 e 8 minutos até haver queda > 15% em relação ao volume expiratório forçado no primeiro segundo basal. A dosagem de imunoglobulina E específica ao *Dermatophagoides pteronyssinus* por ImmunoCap foi considerada positiva quando > 0,35 kU/L. **Resultados:** No grupo de asmáticos, 36 apresentaram queda média do volume expiratório forçado no primeiro segundo de 27,4% após nebulização de solução salina hipertônica. Nenhum do grupo controle (imunoglobulina E < 0,35 kU/L) apresentou resposta à solução salina hipertônica e a queda média do volume expiratório forçado no primeiro segundo foi de 9%. Nove asmáticos tiveram provocação brônquica negativa. A frequência de provocação brônquica positiva foi maior nos indivíduos com imunoglobulina E específica elevada, o que indica uma relação entre hiperresponsividade brônquica e o nível sérico de imunoglobulina E específica. A sensibilidade do teste foi de 80% e a especificidade de 92%. **Conclusão:** A inalação de solução salina hipertônica é um método de provocação útil para avaliar hiperresponsividade brônquica em crianças e adolescentes, com adequadas sensibilidade e especificidade, além do baixo custo e necessidade de poucos equipamentos.

Descritores: Testes de provocação brônquica; Hiperreatividade brônquica; Solução salina hipertônica; Administração por inalação; Asma; Criança; Adolescente

ABSTRACT

Objective: To assess airway hyperresponsiveness to 4.5% hypertonic saline solution in comparison to that obtained through challenge with other bronchoconstriction agents and in relation to patient allergic sensitization. **Methods:** A cross-sectional, experimental study was conducted, initially involving 85 subjects. After exclusions, the final sample consisted of 62 patients, divided into two groups: a study group of those with asthma (n = 45) and a control group of those with no asthma or allergies (n = 17). Hypertonic saline was nebulized using an ultrasonic nebulizer and administered successively for 0.5, 1, 2, 4 and 8 minutes until a drop in forced expiratory volume in one second of = 15% was achieved in relation to the baseline value. The level of specific immunoglobulin E to *Dermatophagoides pteronyssinus* level was determined by ImmunoCAP assay and was considered positive when > 0.35 kU/L. **Results:** In the 36 asthma group subjects presenting a response, the mean drop in forced expiratory volume in one second after hypertonic saline nebulization was 27.4%. None of control group subjects (immunoglobulin E < 0.35 kU/L) presented a positive response to hypertonic saline. The mean forced expiratory volume in one second for control group subjects was 9%. The results of a bronchial provocation test were negative in 9 of the asthma group subjects. The frequency of bronchial provocation test positivity was higher in the subjects presenting elevated levels of specific immunoglobulin E, indicating that there is a relationship between bronchial hyperresponsiveness and the level of specific immunoglobulin E. The sensitivity and specificity of the test were 80% and 92%, respectively. **Conclusion:** Bronchial provocation with hypertonic saline presents satisfactory sensitivity and specificity. Therefore, in addition to being a low cost procedure that requires very little equipment, it is a useful means of assessing hyperresponsiveness in children and adolescents.

Keywords: Bronchial provocation tests; Bronchial hyperreactivity; Saline solution, hypertonic; Administration, inhalation; Asthma; Child; Adolescent

* Trabalho realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná - UFPA - Curitiba (PR) Brasil.

1. Especialista em Pneumologia Pediátrica. Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente pela Universidade Federal do Paraná - UFPA - Curitiba (PR) Brasil.

2. Professor Titular de Pediatria da Universidade Federal do Paraná - UFPA - Curitiba (PR) Brasil.

3. Professora Adjunta de Pediatria, responsável pela Unidade de Informática e Estatística Médica da Universidade Federal do Paraná - UFPA - Curitiba (PR) Brasil.

Endereço para correspondência: Paulo Kussek. Rua Pasteur, 255, Bairro Batel - CEP 80250-080, Curitiba, PR, Brasil.. Tel: 55 41 3322-4322. E-mail: paulokussek@ibest.com.br

Recebido para publicação em 30/12/04. Aprovado, após revisão, em 5/10/05.

INTRODUÇÃO

A asma é resultado do aumento da resposta de mecanismos fisiológicos de proteção das vias aéreas, conhecida como hiperresponsividade brônquica (HRB).⁽¹⁾

Atualmente existem vários métodos para quantificar a hiperresponsividade, sendo o mais aceito, mais barato e de fácil execução a prova de função pulmonar (espirometria) associada ao método de provocação brônquica (PB) para induzir broncoconstrição. Os testes de PB são marcadores objetivos de asma.⁽²⁾ O método padrão ouro é aquele que utiliza agentes farmacológicos como a metacolina e histamina,⁽³⁾ que agem diretamente em receptores do músculo liso brônquico. Pela dificuldade de acesso à metacolina⁽⁴⁾ e também pela procura de agentes que mimetizem as situações diárias às quais o aparelho respiratório é submetido, iniciou-se uma busca de agentes provocadores alternativos. O primeiro relato da utilização de solução salina hipertônica (SH) data de 1981.⁽⁵⁾ A partir daí, houve grande interesse por substâncias que alterassem a osmolaridade do trato respiratório, potentes na indução de broncoespasmo.⁽⁶⁾ PB por exercício e inalação de SH são métodos análogos, em que o estímulo mais importante é a hiperosmolaridade do fluido que reveste o trato respiratório. Durante o exercício ocorre um aumento da perda de água das vias aéreas para o meio exterior decorrente da hiperpnéia fisiológica.⁽⁷⁾ A inalação de SH reproduz este mecanismo, com as vantagens de ser realizada em volume corrente e não necessitar de colaboração do paciente para atingir a carga máxima de esforço. O estímulo osmolar estimula a liberação de mediadores das células da mucosa brônquica que direta ou indiretamente causam a contração do músculo liso.⁽⁶⁾

Embora possa ocorrer HRB em indivíduos normais assintomáticos, os indivíduos atópicos são preferencialmente acometidos.⁽⁸⁾

O objetivo principal deste estudo foi comparar a resposta espirométrica em indivíduos normais e asmáticos à inalação de SH, como alternativa mais barata e mais fisiológica a outros agentes broncoconstritores, correlacionando-a com o grau de sensibilização alérgica.

MÉTODOS

Os asmáticos foram selecionados de ambula-

tórios especializados, enquanto que os indivíduos do grupo controle foram voluntários que frequentavam escola pública. Os asmáticos apresentavam idades entre 7 e 16 anos, eram de ambos os sexos, com diagnóstico de asma havia mais de um ano, com história de crise de sibilância a menos de doze meses e com volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) no dia do exame maior ou igual a 75% do previsto, pelo risco de ocorrer grave broncoespasmo durante o teste. O diagnóstico de asma e a classificação de sua gravidade foram baseados em manifestações clínicas (incluindo avaliação da alergia) e funcionais, de acordo com o III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma,⁽⁹⁾ antes de se iniciar o tratamento. A medicação profilática foi suspensa no período do exame: antihistamínicos por 48 horas, teofilina por 24 horas, β_2 -adrenérgicos por 24 horas e corticóides inalatórios por 48 horas.⁽⁴⁾

No grupo controle foram incluídos indivíduos com idades entre 7 e 16 anos, de ambos os sexos, sem tosse crônica ou noturna, ou sibilos, sem dermatite atópica, sem sinais de rinite alérgica, sem história de uso de broncodilatadores, sem história familiar de asma e com nível sérico de imunoglobulina E (IgE) específica ao *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp) menor que 0,35 kU/L. Durante a realização do estudo excluiu-se um grupo composto por indivíduos do grupo controle, unicamente por apresentarem altos níveis de anticorpos IgE específicos ao Dp.

Os pacientes não deveriam ter história de infecções respiratórias nas quatro semanas anteriores.⁽¹⁰⁾ Todos seguiram o mesmo protocolo, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, e o consentimento informado foi obtido dos responsáveis.

Foi utilizado o nebulizador ultra-sônico *DeVilbiss Ultraneb* 099 HD com válvula expiratória e mangueira em espiral. Este nebulizador é de grande volume (240 mL) e, segundo o fabricante, quando nebuliza soro fisiológico a 0,9% apresenta débito de 6 mL/min com aerossóis de massa aerodinâmica de menos de 4 μ m. A SH a 4,5% foi preparada em câmara de fluxo laminar vertical classe 100 - II/B2 e acondicionada em frasco-ampola fechado. Foi utilizado o espirômetro *Spirosift* 3000 - *Fukuda Denshi* para a espirometria. Os valores espirométricos de referência utilizados foram os de Polgar e Promadaht.⁽¹¹⁾ Utilizou-se uma ba-

lança digital de precisão para pesar o nebulímetro, da marca *Gehaka BG 1000* (mínimo de 0,25 g, máximo de 1.010 g e divisões de 0,01g).

Foi coletada amostra sanguínea para dosagem dos níveis séricos de IgE específica para Dp, com utilização do método de fluoroenzimaensaio de *Pharmacia Cap System*. O teste pelo *UniCAP* quantifica o grau de sensibilização em classes: classe 0 - menor que 0,35 kU/L; classe 1 - 0,35 a 0,70 kU/L; classe 2 - 0,70 a 3,50 kU/L; classe 3 - 3,50 a 17,5 kU/L; classe 4 - 17,5 a 50,0 kU/L; classe 5 - 50,0 a 100 kU/L; e classe 6 - maior que 100 kU/L. O indivíduo foi considerado sensibilizado quando os níveis de IgE eram superiores a 0,35 kU/L (classe 1).⁽¹²⁾

Os testes foram realizados pela manhã, entre 8 e 10:30 h, com temperatura ambiente verificada e registrada. Após registro do VEF₁ basal, iniciou-se o procedimento de PB com a inalação de SH em débito máximo, com volume de 240 ml, e peso de 750 gramas do conjunto nebulímetro, SH e mangueira. O nebulímetro foi pesado, antes e após o término de cada nebulização, com reposição de SH, em temperatura ambiente, ao volume e peso iniciais.⁽¹³⁻¹⁴⁾ O participante sentado, com *clip* nasal, foi orientado a respirar normalmente pelo bocal e a deglutir o excesso de saliva. Elevação do tubo acima da altura da boca e inversão do bocal com válvula expiratória para baixo foram procedimentos necessários para se evitar que a saliva entrasse no tubo do nebulizador. A solução que permanecesse no tubo ao final da inalação era reincluída no volume do nebulímetro para posterior pesagem. Cada indivíduo inalou durante 0,5, 1, 2, 4 e 8 minutos, totalizando 15,5 minutos. O teste era encerrado quando havia declínio do VEF₁ igual ou superior a 15%, ou no tempo máximo acumulado de 15,5 minutos. O total da substância inalada foi verificado pela diferença de peso após cada nebulização. Foi arbitrado que 1 grama de perda corresponderia a 1 ml.⁽⁴⁾ A espirometria era realizada um minuto após o término da inalação e em intervalo máximo de dois minutos entre as nebulizações.⁽⁶⁾

Foi construída a curva dose-resposta utilizando-se o gráfico semilogarítmico, e registrando-se a queda do VEF₁ em relação ao basal após cada inalação e o volume acumulado inalado no mesmo tempo. Por interpolação, verificou-se o volume de SH que causava 15% de queda do VEF₁ em relação ao basal (dose provocadora - PD15). O índice de responsividade foi calculado pela razão entre o

porcentual de redução máxima do VEF₁ em relação ao basal e o volume total inalado de SH.⁽⁴⁾

Nas análises univariadas, para variáveis contínuas de distribuição normal, foram aplicados o teste t de Student e ANOVA (análise da variância), e para as variáveis de distribuição assimétrica foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. Para a comparação entre variáveis categóricas foram utilizados os testes de qui-quadrado e teste exato de Fisher. A análise de regressão logística foi utilizada para se avaliar a probabilidade de a PB ser positiva ou negativa, de acordo com o índice de responsividade.

RESULTADOS

Foram submetidos ao protocolo 85 crianças e adolescentes, 45 no grupo de asmáticos e 17 no grupo controle, que completaram o teste (Tabela 1). Foram excluídos 23 indivíduos, 9 por apresentarem altos níveis séricos de anticorpos IgE específicos ao Dp, 6 por intolerância ao sal, 5 por falta de reprodutibilidade das manobras expiratórias e 3 por apresentarem VEF₁ basal abaixo de 75%.

TABELA 1

Características clínicas e antropométricas dos participantes

Características	Asmáticos (n = 45)	Controles (n = 17)	p
Gênero			
Masculino	24	4	0,005*
Feminino	21	13	
Idade-anos ± DP	10,7 ± 2,2	13,2 ± 2,3	0,0001**
Altura-cm ± DP	146 ± 0,13	158,3 ± 0,11	0,0000**
VEF ₁ basal			
(% predito) ± DP	99,9 ± 15,3	105,3 ± 10,9	0,248**
IgE Dp (kU/L)	PB+(26) PB- (9)	PB - (17)	0,006***
< 0,35	1	2	17
> 0,35	1	0	
> 0,70	24	7	
Média geométrica	29,7	13,8	0,004***
Gravidade da asma	PB+(36)	PB- (9)	
Intermitente	8 (22%)	1 (11%)	1,00**
Persistente leve	13 (36%)	2 (22%)	
Persistente	15(42%)	6 (67%)	
Moderada/Grave			

A gravidade da asma foi classificada de acordo com III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma 2002, antes de se iniciar o tratamento.*Teste qui-quadrado de Pearson; ** ANOVA; *** Teste exato de Fisher. DP: desvio-padrão; VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo; PB+: provocação brônquica positiva; PB-: provocação brônquica negativa; Dp: *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Dos 45 asmáticos, 36 tiveram PB positiva com queda média de VEF_1 de 27,4% (amplitude de 15% a 60%), com variação da média de $\pm 4\%$ (intervalo de confiança de 95%) após inalação de SH. Destes 36 asmáticos, 26 ainda apresentaram PB positiva (72%) quando se considerou o valor de declínio do VEF_1 de 20%. Nove indivíduos tiveram a PB negativa, com redução máxima do VEF_1 de 14% (média de 9%, amplitude de 7% a 14%), com variação da média de $\pm 1,7\%$ (intervalo de confiança de 95%) no tempo máximo de inalação de 15,5 minutos. No grupo controle, a redução máxima do VEF_1 após a inalação da SH no tempo máximo de 15,5 minutos foi de 13% (média de 8,5%, amplitude de 3% a 13%), com variação da média de $\pm 1\%$ (intervalo de confiança de 95%). As diferentes respostas à PB com SH observadas no grupo de pacientes asmáticos e no grupo controle foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$) (Figura 1). Todos os participantes apresentaram tosse ao início da inalação e sialorréia durante o teste, mas na progressão do experimento havia adaptação por parte dos mesmos e os sintomas desapareciam.

Do total de asmáticos com PB positiva, 83% tiveram diminuição de pelo menos 15% do VEF_1 basal até o tempo de inalação de quatro minutos. O nebulizador conectado ao paciente forneceu um débito médio de 2,2 mL/min, não diferindo entre os grupos. A dose média de volume inalado de SH a 4,5% que causou queda de 15% do VEF_1 basal nos asmáticos foi de 9,5 ml (erro padrão de 1,8 ml). O índice de responsividade brônquica correlacionou-se com o PD15 ($p < 0,001$, $r = -0,98$), e estava significativamente elevado nos asmáticos. Os participantes com PB negativa tiveram um índice inferior a 0,33 e naqueles com PB positiva, o índice foi superior a 1,2, formando uma faixa de sobreposição entre 0,33 e 1,2, incluindo tanto indivíduos com PB positiva como com negativa. A análise de regressão logística demonstrou a probabilidade da PB ser positiva ou negativa pelos índices de responsividade.

Correlacionando os níveis séricos de IgE específica ao Dp em todos os indivíduos que realizaram PB (inclusive os excluídos por IgE específica elevada), verificou-se que estes foram maiores nos indivíduos com PB positiva. Além disso, 93% dos indivíduos com PB positiva apresentavam níveis acima de 0,70 kU/L, ao contrário dos indivíduos com PB negativa, em que somente 42% apresentaram os mesmos níveis (Tabela 1 e Figura 2).

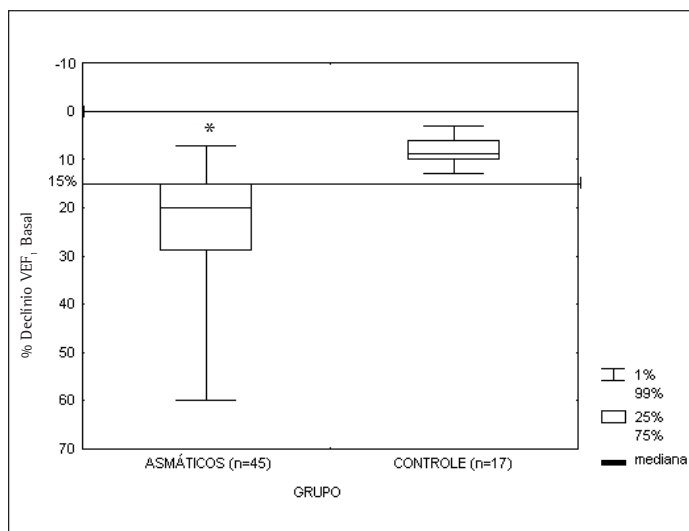


Figura 1 - Representação em *Box Plot* da porcentagem de declínio do VEF_1 em relação aos valores basais nos grupos; * $p < 0,001$ (Mann-Whitney)

Quanto maior o nível sérico de IgE específica ao Dp maior a responsividade brônquica à SH (Figura 2). Dos 9 pacientes que tiveram PB negativa, 4 já estavam assintomáticos e sem tratamento, mas todos tiveram crise de asma havia menos de doze meses.

Em todos os indivíduos ($n = 71$) que se submeteram a PB, independentemente do *status* alérgico, o teste apresentou nível de sensibilidade de 80% e especificidade de 92%.

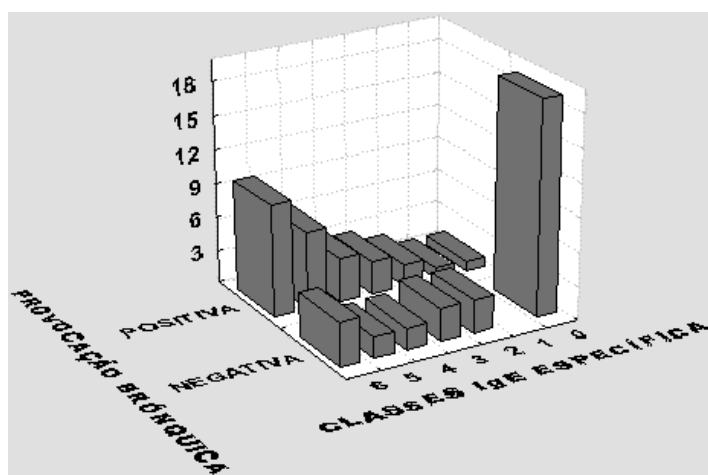


Figura 2 - Frequência de indivíduos com provocação positiva ou negativa em relação ao nível sérico de IgE específica ao *Dermatophagoides pteronyssinus* (em classes)

DISCUSSÃO

A inalação de SH serve para medir a HRB, pois reproduz algumas condições às quais o epitélio respiratório é submetido, como acontece no exercício físico.⁽¹⁵⁾ A solução salina a 4,5% é levemente superior à concentração de sal da água do mar.⁽¹⁶⁾ A maioria dos asmáticos (80%) e alguns indivíduos alérgicos não asmáticos apresentaram obstrução brônquica quando submetidos à inalação de SH a 4,5%. Os indivíduos não atópicos não apresentaram resposta significativa à SH. O valor de declínio do VEF₁ para determinar a hiperresponsividade difere entre vários pesquisadores.⁽¹⁷⁻¹⁹⁾ Neste estudo foi utilizado o valor de 15%, pois é um valor que aumenta a sensibilidade do método e reduz o risco de dispnéia e desconforto para o asmático.⁽²⁰⁾ A redução de 15% do VEF₁ diferencia os grupos com precisão, pois alguns indivíduos não asmáticos e não alérgicos, quando inalam SH a 0,9%, podem apresentar queda de até 10%.⁽²¹⁾ Neste estudo com a inalação de SH, o grupo controle alcançou a redução máxima de 10% (intervalo de confiança de 95%).

Alguns autores⁽⁴⁾ afirmam que não há casos falso-positivos na PB por SH em indivíduos saudáveis, diferentemente do procedimento com histamina e metacolina, em que até 30% dos indivíduos têm hiperresponsividade a estas substâncias e não têm qualquer sintoma de asma. Não há correlação entre doses de metacolina e SH no mesmo indivíduo, ao contrário de histamina e metacolina, que são semelhantes.⁽²²⁾ O excesso de íons é um fator adicional para a resposta, haja vista que a solução salina a 4% tem a mesma osmolaridade que a dextrose a 6,1%, mas a primeira é muito mais potente que a segunda.⁽⁶⁾

Com o aumento da idade e altura das crianças e adolescentes, há uma redução da responsividade brônquica, provavelmente devido à maturação ou à dose do fármaco broncoconstritor relativamente menor, em relação a um maior tamanho corpóreo.⁽²³⁾ Neste estudo, mesmo não se ajustando para idade e altura, os resultados não se modificariam, pois não há informações sobre o efeito destas variáveis na resposta à inalação com SH, como ocorre com a metacolina.

O estudo demonstrou que o teste também tem utilidade em asmáticos leves, pois 5 participantes com sintomas típicos de asma, mas sem diagnóstico, e 2 não asmáticos do grupo de alérgicos (sem

história pessoal ou familiar de asma), mas com IgE específica detectável, apresentaram PB positiva.

A comparação de desempenho do teste deste estudo com outros deve ser feita com cuidado, pois há diferenças nos critérios de inclusão e exclusão, na gravidade da asma, no tipo de nebulizador utilizado e débitos dos nebulímetros.⁽²⁴⁾

A história familiar de asma e atopia e uma história pessoal de alergia são fatores de risco para o desenvolvimento de HRB.⁽¹³⁾ Na atopia, mudanças imunológicas incluem resposta positiva no teste cutâneo a alérgenos e altas concentrações de IgE circulante.⁽²⁵⁾ A probabilidade de haver sintomas clínicos aumenta com o nível sérico de anticorpo IgE específico, podendo chegar a 100% quando os níveis são iguais ou superiores a 17,5 kU/L.⁽²⁶⁾ A sensibilização aos alérgenos varia para cada região, mas os antígenos mais importantes nos testes cutâneos positivos ou nas dosagens de IgE específica no soro são o Dp e o *Dermatophagoides farinae*,⁽²⁷⁾ os principais agentes sensibilizantes para doença alérgica das vias aéreas dos atópicos.⁽²⁶⁾ Neste estudo, 93% dos asmáticos estavam sensibilizados ao Dp, o que mostra que a pesquisa de anticorpos IgE específicos para este alérgeno pode ser suficiente para identificar a maioria dos atópicos.⁽²⁸⁻²⁹⁾

Houve correlação entre os níveis séricos de IgE específica e o índice de responsividade. Entretanto esta observação deve ser interpretada com cautela, pois quando são avaliados somente os indivíduos com IgE > 0,35 kU/L não há correlação desses níveis com o índice, nem com a PD15. A magnitude da sensibilização influencia a presença, mas não a intensidade da HRB. A simples presença do anticorpo específico ao Dp não determina a HRB, o que indica que outros fatores devem contribuir para a HRB no atópico.

A resposta da PB por SH é expressa em dose (PD15). Esta forma tem correlação negativa ($r = -0,98$) com o índice de responsividade. Esse índice correlaciona-se à PD15 mas é superior como indicador de hiperresponsividade das vias aéreas, por considerar a maior redução do VEF₁ em relação ao volume total inalado após a conclusão do teste.⁽³⁰⁾ O índice de responsividade tem vantagem sobre a PB pela possibilidade de ser usado mesmo que a PD15 não seja alcançada, e também pela praticidade, pois divide-se a porcentagem de queda do VEF₁ pelo volume total inalado, e para a PD15 necessita-se de um gráfico semilogarítmico. O ín-

dice de responsividade elevado indica HRB.⁽³⁰⁾ Pela análise de regressão logística, quando o índice se aproxima de 0,33 é maior a chance de PB negativa e quando se afasta de 0,33, aproximando-se de 1,2, é maior a chance de PB positiva.

Os medicamentos antiasmáticos reduzem significativamente a HRB, bem como controlam e modificam a gravidade da asma, reduzindo a sensibilidade à SH e até negativam a PB. O uso regular de corticóides interfere nos resultados, mas os inalatórios só foram suspensos 48 horas antes do teste, por limitação ética.⁽⁴⁾ Nove indivíduos do grupo de asmáticos não responderam à PB com SH. Isto provavelmente seria resultado do tratamento, pois 45% deles estavam assintomáticos e sem qualquer medicação na ocasião do teste. Não foi analisada a relação da PB com a gravidade, pois esta se referia ao diagnóstico antes do tratamento. As principais limitações deste estudo, embora não sejam importantes, merecem ser mencionadas, como o sabor desagradável de sal na boca do participante, que exigiu dos pesquisadores a utilização de alguns artifícios como ingerir água no intervalo das inalações, fator este agravado pela baixa idade dos indivíduos, e o tempo prolongado do teste, principalmente nos pacientes não reatores.

A inalação de SH mostrou-se um método de provocação útil para avaliar HRB em crianças e adolescentes, apresentando adequadas sensibilidade e especificidade. É um teste que exige poucos equipamentos, baixo custo e requer pouca cooperação do paciente.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao professor Luiz Antonio Calleffe pela análise estatística complementar.

REFERÊNCIAS

1. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes para testes de função pulmonar. *J Pneumol.* 2002;28(Supl 3):S1-S238.
2. Riedler J, Gamper A, Eder W, Oberfeld G. Prevalence of bronchial hyperresponsiveness to 4.5% saline and its relation to asthma and allergy symptoms in Austrian children. *Eur Respir J.* 1998;11(2):355-60.
3. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, Hankinson JL, Irvin CG, et al. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(1):309-29. Comment in: *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(1):292-3.
4. Anderson SD, Smith CM, Rodwell LT, du Toit JI, Riedler J, Robertson CF. The use of nonisotonic aerosols for evaluating bronchial responsiveness. In: Spector S, editor. *Provocation testing in clinical practice.* New York: Marcel Dekker; 1995. p. 249-78. (*Clinical Allergy and Immunology*, 5)
5. Riedler J, Reade T, Robertson CF. Repeatability of response to hypertonic saline aerosol in children with mild to severe asthma. *Pediatr Pulmonol.* 1994;18(5):330-6.
6. Smith CM, Anderson SD. Inhalation provocation tests using nonisotonic aerosols. *J Allergy Clin Immunol.* 1989;84(5 Pt 1):781-90.
7. Smith CM, Anderson SD. Hyperosmolarity as the stimulus to asthma induced by hyperventilation? *J Allergy Clin Immunol.* 1986;77(5):729-36.
8. Laprise C, Boulet LP. Asymptomatic airway hyperresponsiveness: a three-year follow-up. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156(2 Pt 1):403-9.
9. Sociedades Brasileiras de Alergia e Imunopatologia, Pediatria e Pneumologia e Tisiologia. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma 2002. *J Pneumol.* 2002;28(Supl 1):S1-S28.
10. Burke CM, Sreenan S, Pathmakanthan S, Patterson J, Schmekel B, Poulter LW. Relative effects of inhaled corticosteroids on immunopathology and physiology in asthma: a controlled study. *Thorax.* 1996;51(10):993-9.
11. Polgar C, Promadhat V. Standard values. In: Chermiack RM. *Pulmonary function testing in children: techniques and standards.* Philadelphia: WB Saunders; 1971. p. 87-122.
12. Kerkhof M, Dubois AE, Postma DS, Schouten JP, de Monchy JG. Role and interpretation of total serum IgE measurements in the diagnosis of allergic airway disease in adults. *Allergy.* 2003;58(9):905-11.
13. Strauch E, Neupert T, Ihorst G, van's Gravesande KS, Bohnet W, Hoeldke B, et al. Bronchial hyperresponsiveness to 4.5% hypertonic saline indicates a past history of asthma-like symptoms in children. *Pediatr Pulmonol.* 2001;31(1):44-50.
14. Popov TA, Pizzichini MM, Pizzichini E, Kolendowicz R, Punthakee Z, Dolovich J, et al. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis. *Eur Respir J.* 1995;8(4):559-65.
15. Makker HK, Walls AF, Goulding D, Montefort S, Varley JJ, Carroll M, et al. Airway effects of local challenge with hypertonic saline in exercise-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;149(4 Pt 1):1012-9.
16. Sterk PJ, Fabbri LM, Quanjer PH, Cockcroft DW, O'Byrne PM, Anderson SD, et al. Airway responsiveness. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J Suppl.* 1993;16:53-83.
17. Araki H, Sly PD. Inhalation of hypertonic saline as a bronchial challenge in children with mild asthma and normal children. *J Allergy Clin Immunol.* 1989;84(1):99-107.
18. Smith CM, Anderson SD. Inhalational challenge using hypertonic saline in asthmatic subjects: a comparison with responses to hyperpnoea, methacholine and water. *Eur Respir J.* 1990;3(2):144-51.
19. Riedler J, Reade T, Dalton M, Holst D, Robertson C. Hypertonic saline challenge in an epidemiologic survey

- of asthma in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;150(6 Pt 1):1632-9.
20. Sont JK, Booms P, Bel EH, Vandenbroucke JP, Sterk PJ. The severity of breathlessness during challenges with inhaled methacholine and hypertonic saline in atopic asthmatic subjects. The relationship with deep breath-induced bronchodilation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(1):38-44.
 21. Makker HK, Holgate ST. The contribution of neurogenic reflexes to hypertonic saline-induced bronchoconstriction in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1993;92(1 Pt 1):82-8.
 22. Boulet LP, Legris C, Thibault L, Turcotte H. Comparative bronchial responses to hyperosmolar saline and methacholine in asthma. *Thorax*. 1987;42(12):953-8.
 23. Le Souef PN, Sears MR, Sherrill D. The effect of size and age of subject on airway responsiveness in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(2):576-9.
 24. Mai XM, Nilsson L, Kjellman NI, Björkstén B. Hypertonic saline challenge tests in the diagnosis of bronchial hyperresponsiveness and asthma in children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2002;13(5):361-7.
 25. Burney PG, Anderson HR, Burrows B, Chan-yeung M, Pride NB, Speizer FE. Atopy and risk factors of asthma. In: Holgate ST. *The role of inflammatory processes in airway hyperresponsive*. London: Blackwell Scientific; 1989. p.222-6.
 26. Soderstrom L, Kober A, Ahlstedt S, de Groot H, Lange CE, Paganelli R, et al. A further evaluation of the clinical use of specific IgE antibody testing in allergic diseases. *Allergy*. 2003;58(9):921-8. Comment in: *Allergy*. 2004;59(3):359-60; author reply 360-1.
 27. Sears MR. Risk Factors: immunoglobulin E and atopy. In: Barnes PJ, Grunstein MM, Leff AR, Woolcok AJ, editors. *Asthma*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997.p.71-9.
 28. Rosario Filho NA. Sensibilização atópica a aeroalérgenos em crianças asmáticas em Curitiba. *J Paranaense Pediatr*. 2002;3(4):81-3.
 29. Ahlstedt S. Understanding the usefulness of specific IgE blood tests in allergy. *Clin Exp Allergy*. 2002;32(1):11-6.
 30. Lis G, Pietrzyk JJ. Response-dose ratio as an index of bronchial responsiveness to hypertonic saline challenge in an epidemiological survey of asthma in Polish children. *Pediatr Pulmonol*. 1998;25(6):375-82.