

**JULIANA KADLETZ DA SILVA**

**SUCESSO E SEGURANÇA DA INDUÇÃO DE ESCARRO  
EM PACIENTES COM EXACERBAÇÕES GRAVES DE  
ASMA**

**Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, para conclusão  
do Curso de Graduação em Medicina.**

**Florianópolis  
Universidade Federal de Santa Catarina  
2004**

**JULIANA KADLETZ DA SILVA**

**SUCESSO E SEGURANÇA DA INDUÇÃO DE ESCARRO  
EM PACIENTES COM EXACERBAÇÕES GRAVES DE  
ASMA**

**Trabalho apresentado à Universidade  
Federal de Santa Catarina, para conclusão  
do Curso de Graduação em Medicina.**

**Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Edson José Cardoso**  
**Orientador: Dr. Emilio Pizzichini**  
**Co-orientadores: Dra. Leila Jonh Marques Steidle**  
**Dra. Marcia Margaret Menezes Pizichini**

**Florianópolis**  
**Universidade Federal de Santa Catarina**  
**2004**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente aos pacientes que se dispuseram a participar do estudo. Agradeço também a equipe do NUPAIVA: enfermeiras Janara Voltolini Maia e Cristiane Cinara Rocha, técnica em laboratório Célia Tânia Zimmermann, Dr. Emilio Pizzichini, Dra Marcia Margaret Menezes Pizzichini, Dra. Leila John Marques Steidle, e os colegas Vivian de Souza Menegassi, Gustavo E dos Los Santos, Ricardo Malinverni e Marcelo Bini.

Sem esta equipe seria impossível a obtenção do sucesso neste trabalho.

# SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>iv</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>v</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
<b>1.1 Considerações sobre asma.....</b>	<b>01</b>
<b>1.2 Escarro induzido.....</b>	<b>03</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>06</b>
<b>2.1 Primário.....</b>	<b>06</b>
<b>2.2 Secundário.....</b>	<b>06</b>
<b>3. MÉTODO.....</b>	<b>07</b>
<b>3.1 Participantes.....</b>	<b>07</b>
<b>3.2 Delineamento do estudo.....</b>	<b>08</b>
<b>3.3 Métodos clínicos.....</b>	<b>08</b>
<b>3.4 Análise estatística.....</b>	<b>10</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>12</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>23</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>24</b>
<b>NORMAS ADOTADAS.....</b>	<b>27</b>

## RESUMO

**Introdução:** O processo inflamatório nas exacerbações graves de asma pode ser investigado através da indução de escarro.

**Objetivo:** Investigar a taxa de sucesso e segurança de um método modificado de indução de escarro e avaliar os fatores que podem afetar a segurança do procedimento.

**Método:** Foi realizada uma análise descritiva transversal dos achados de 45 pacientes com exacerbações graves de asma. O escarro induzido foi obtido após inalação de aerossol de solução salina isotônica ou hipertônica (3-5%). O aerossol foi inalado por curtos períodos repetidos de 1-2 minutos. O volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>) foi medido após o primeiro minuto e depois a cada período de inalação. Avaliou-se a magnitude queda do VEF<sub>1</sub> depois do procedimento e a associação desta com vários fatores que podem afetar a queda do VEF<sub>1</sub> após a indução.

**Resultados:** A indução de escarro teve sucesso em 93% dos pacientes e foi considerada segura. A queda máxima do VEF<sub>1</sub> após a indução foi <15% em 53,3% dos pacientes. Em 21 pacientes esta queda foi ≥15%. Destes, 66,6% tiveram broncoconstrição excessiva (queda ≥ 20%). Em todos os casos a broncoconstrição foi facilmente revertida com salbutamol. Não houve diferença significativa entre os grupos (queda < ou ≥ 15%) quanto ao VEF<sub>1</sub> pós broncodilatador, uso de broncodilatador de ação rápida, concentração máxima de salina e duração da indução.

**Conclusão:** Apesar do risco de broncoconstrição, a indução de escarro é um método de sucesso e considerado seguro em pacientes com exacerbações graves de asma, se realizado conforme descrito.

## SUMMARY

**Introduction:** Airway inflammation in severe exacerbations of asthma can be examined by using induced sputum.

**Objective:** To investigate the success rate and safety of a modified method of sputum induction and to evaluate what factors may affect safety of the procedure.

**Method:** This is a cross-sectional analysis of sputum induction in 45 patients with severe exacerbations of asthma. Induced sputum was obtained after inhalation of an aerosol of isotonic or hypertonic (3-5%) saline. The aerosol was inhaled for short repeated periods of 1-2 minutes. Forced volume expired in the first second (FEV<sub>1</sub>) was measured after 1 minute and then after each period of inhalation. The magnitude of the fall in the FEV<sub>1</sub> after the procedure and the association of this with several factors that might influence the fall in the FEV<sub>1</sub> after the sputum induction were examined.

**Results:** Sputum induction was successful in 93% of patients and was regarded safe. The maximum fall in FEV<sub>1</sub> after the induction was <15% in 53.3% of the patients. In 21 patients this fall was ≥ 15%. Of these, 66.6% had an excessive bronchoconstriction (fall ≥ 20%). In every patient the bronchoconstriction was reverted by salbutamol. There were no differences between groups (fall < or ≥ 15%) regarding the post bronchodilator FEV<sub>1</sub>, use of short acting bronchodilator, maximum saline concentration and induction duration.

**Conclusion:** Despite the risk of bronchoconstriction, sputum induction can be successful and safe in patients with a severe exacerbation of asthma if performed as described.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Considerações sobre asma

Asma é uma palavra grega, originada do verbo *aazeim*, que significa dificuldade para respirar. Hipócrates, no século IV antes de Cristo, descreveu em sua obra *Corpus hippocraticum* a palavra asma como termo médico. A primeira definição clínica encontrada para a doença na antiguidade foi feita por Areateus, um médico nascido na Capadócia no século II depois de Cristo. Durante o século dezessete e dezoito, estudiosos compreenderam que a ocorrência dos sintomas era devido a constrição dos brônquios, o que tornou a doença conhecida como “epilepsia pulmonar” em relação ao aparecimento súbito e imprevisível das crises asmáticas<sup>1</sup>.

Atualmente os consensos definem a asma como doença inflamatória crônica, que acomete indivíduos geneticamente susceptíveis, com episódios recorrentes de sibilância, dispnéia, opressão torácica e tosse, manifestando-se principalmente à noite ou pela manhã. Associada a esta inflamação brônquica, existe uma limitação variável ao fluxo de ar, reversível espontaneamente ou com tratamento e um aumento na responsividade das vias aéreas frente a estímulos inespecíficos<sup>2,3</sup>.

Há evidências que a prevalência da asma está aumentando tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento, afetando pessoas de todas as idades e raças. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) revelam aproximadamente 100 a 150 milhões de pessoas acometidas em todo o mundo, cerca de 4 a 12% da população. O custo da doença tem aumentado progressivamente, superando os gastos associados à tuberculose e AIDS<sup>3</sup>. Anualmente ocorrem pelo menos 180 mil mortes em decorrência da asma<sup>4</sup>.

No Brasil, apesar da falta de grandes estudos demográficos, estima-se que 7 a 10% da população é composta por asmáticos. Um estudo realizado mundialmente em 54 países, com crianças e adolescentes, revelou que o Brasil ocupa a oitava posição em prevalência de asma<sup>5</sup>. No Sistema Único de Saúde, a asma constitui a quarta causa de hospitalização, com um gasto médio de 78 milhões ao ano<sup>4</sup>.

As razões para o crescimento dessa prevalência não são conhecidas, todavia o aumento da poluição e pobreza, a crescente exposição a infecções virais e a alérgenos, baixo peso ao nascimento e redução no tempo de amamentação, pode contribuir para este fato<sup>6</sup>. Porém, a atual Teoria da Higiene, desmistifica conceitos antigos quanto à influência de infecções na infância. Ela sugere que exposições a microorganismos ocorridas naturalmente podem imunizar crianças contra o desenvolvimento de asma, alergia e doenças auto-imunes. Deste modo, modifica algumas medidas comportamentais adotadas no tratamento da asma, como limitar crianças com história familiar positiva em frequentar creches ou ter animal de estimação<sup>7</sup>.

Paradoxalmente, todos os conhecimentos obtidos de fisiopatologia até o momento e a crescente oferta de medicações ainda não são suficientes para diminuir a prevalência e a mortalidade por asma, o que confere realmente importância a essa doença<sup>6</sup>.

Por outro lado, grandes avanços ocorrem no entendimento da inflamação que acomete as vias aéreas de asmáticos. Considera-se causa primária e determinante da severidade e exacerbações da doença, adicionalmente, a inflamação contribui com alterações estruturais subseqüentes (remodelamento), que determinam a persistência de sinais e sintomas clínicos, limitação variável ao fluxo de ar e hiperresponsividade<sup>1</sup>. A inflamação das vias aéreas está presente em pacientes com asma de início recente, em pacientes com formas leves e mesmo em assintomáticos<sup>3</sup>.

Este processo inflamatório caracteriza-se por um infiltrado da mucosa brônquica com células inflamatórias (eosinófilos, mastócitos, linfócitos e, em algumas situações, neutrófilos), produção e liberação de citocinas (IL-2, IL-4, IL-5, GM-CSF), ativação celular com liberação de diversos mediadores (leucotrienos, proteínas eosinofílicas, histamina, etc.) e aumento da permeabilidade vascular com extravasamento microvascular<sup>8,9</sup>.

Inicialmente, os estudos descreviam a inflamação conforme observações *postmortem* em pacientes com asma fatal que estavam gravemente exacerbados. As vias aéreas revelavam a presença de um exsudato víscido no lúmen brônquico composto de muco, eosinófilos e células broncoepiteliais, espessamento da membrana basal, eosinofilia tissular, hipertrofia da camada muscular lisa dos brônquios e dilatação dos capilares sanguíneos<sup>10</sup>.

As exacerbações graves de asma variam de acordo com a intensidade e frequência dos sintomas, considerando parâmetros como: dispnéia progressiva, sibilância diminuída em alguns casos, desconforto torácico, dificuldade na fala, utilização de musculatura acessória e



diminuição da saturação de oxigênio (abaixo de 90%)<sup>3</sup>. Existe a presença de intensa inflamação nas vias aéreas destes asmáticos. Ainda não está claro se as alterações inflamatórias vistas nessas circunstâncias são qualitativamente ou quantitativamente semelhantes às observadas em estudos *postmortem*.

Hoje, a monitorização da inflamação das vias aéreas pode ser feita através de métodos invasivos ou não invasivos, cada um destes com vantagens e desvantagens. O lavado broncoalveolar e a biópsia brônquica são métodos invasivos. Dentre os métodos não invasivos, destaca-se o exame de escarro induzido, sangue, urina e a determinação das concentrações expiradas de óxido nítrico ou de outros mediadores nos condensados expirados<sup>11, 12</sup>. O lavado alveolar e a biópsia brônquica foram os primeiros métodos a serem usados para investigar a inflamação das vias aéreas na asma<sup>13</sup>. Atualmente com a broncoscopia pode-se obter informações estruturais, estudo celular por imuno-histoquímica e coleta selecionada de uma porção brônquica. Porém, além de invasivo, é um exame caro, com necessidade de pessoal treinado, limitado a pacientes com asma controlada ou em casos de asma de leve a moderada, com dificuldade de execução de medidas repetidas devido ao intervalo necessário entre os exames<sup>12</sup>.

## **1.2 Escarro induzido**

Um dos avanços mais importantes na investigação da inflamação das vias aéreas foi a introdução do escarro induzido por Pin e colaboradores, em 1992, através da inalação de solução salina hipertônica para obter de modo direto secreções das vias aéreas de asmáticos<sup>13</sup>. Os autores concluíram que o escarro induzido era capaz de detectar diferenças na contagem celular de indivíduos hígidos e indivíduos asmáticos. Até então, a broncoscopia era o método considerado padrão ouro para obtenção de material das vias aéreas de asmáticos<sup>14</sup>.

O exame de escarro é o único método relativamente não invasivo disponível, capaz de quantificar diretamente células e outros marcadores na inflamação das vias aéreas, além de poder ser usado de forma aleatória e repetitiva para determinar características da asma em diferentes situações e investigar as propriedades de drogas antiinflamatórias no alívio dos sintomas e controle da doença<sup>15</sup>. O escarro induzido ainda pode ser aplicado em asmáticos com doença grave, desde que utilizado um método de indução modificado como o descrito por Pizzichini e colaboradores<sup>16</sup>.

Além da asma, outras doenças pulmonares que também possuem substrato inflamatório, como doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), bronquite eosinofílica e asma ocupacional se beneficiam das vantagens proporcionadas pela indução de escarro<sup>17, 18</sup>.

Nos dias atuais, a técnica de indução de escarro é relativamente segura e simples. Consiste na inalação de solução salina isotônica ou hipertônica por diferentes períodos de tempo, posteriormente os pacientes são instruídos a expectorar o escarro em um recipiente estéril. O material é encaminhado ao laboratório no período máximo de duas horas, onde são preparadas lâminas que possibilitam a contagem diferencial de células<sup>19</sup>.

Entretanto, sabe-se que a inalação de solução salina hipertônica ou isotônica pode causar broncoconstrição excessiva em poucos minutos. O mecanismo pelo qual isto acontece é desconhecido. Questiona-se o envolvimento de mastócitos e terminações nervosas sensoriais. De modo geral, o uso de medicação broncodilatadora, como o salbutamol, reverte este processo e o tratamento prévio ao procedimento previne a constrição ocasionada pela indução de escarro. Contudo, é incerto se todos os asmáticos possuem resposta semelhante ao broncodilatador de ação rápida (BDAR) como pré-tratamento.

Existem outros fatores que influenciam diretamente a segurança do método, como: grau de limitação ao fluxo de ar antes do procedimento, uso excessivo de medicação broncodilatadora, débito por minuto do nebulizador, concentração de solução salina, duração da indução, técnicas de expectoração e monitorização da função pulmonar durante o exame<sup>19</sup>.

Assim sendo, o exame de escarro não está isento de riscos. Embora, segurança e facilidade da indução em pacientes com asma de grau leve a moderado está bem documentado, há poucos estudos em pacientes com exacerbações graves. Alguns preconizam o uso de métodos alternativos de indução, incluindo a concentração de salina utilizada, controle rigoroso da função pulmonar em intervalos de 1 a 2 minutos e interrupção do procedimento tão logo se obtenha o material<sup>20</sup>.

A indução de escarro em pacientes com exacerbações graves de asma possui características particulares. Os pacientes apresentam severo grau de limitação ao fluxo de ar, hiperresponsividade aumentada das vias aéreas, e fazem uso excessivo de BDAR. Embora alguns estudos considerem a associação destes fatores com a ocorrência de broncoconstrição excessiva, ainda restam dúvidas<sup>21</sup>.

Desta forma, este estudo tem como objetivo avaliar a taxa de sucesso da indução de escarro, definida como a proporção de pacientes que obtém material adequado para análise, e

a segurança do exame, mensurada pelo grau de broncoconstrição causado pela inalação de solução salina. Adicionalmente, este estudo propõe a investigação de fatores que podem afetar a segurança do procedimento.

## **2. OBJETIVOS**

### **1.1 Primário**

Avaliar a taxa de sucesso e a segurança da indução de escarro em pacientes com exacerbações graves de asma.

### **1.2 Secundário**

Analisar os fatores associados que podem afetar a segurança do procedimento.

## 3. MÉTODO

### 3.1 Participantes

Participaram do estudo quarenta e cinco pacientes com exacerbações graves de asma, atendidos no Núcleo de Pesquisa em Asma e Inflamação das Vias Aéreas (NUPAIVA), localizado no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis, Santa Catarina (HU-UFSC). Os pacientes foram encaminhados ao núcleo pelo ambulatório de pneumologia geral ou pelo serviço de emergência médica do HU-UFSC, durante o período de agosto de 2001 a agosto de 2003.

Os pacientes apresentavam asma diagnosticada previamente, baseada na presença de dispnéia, tosse, sibilância e opressão torácica, confirmada através de teste de função pulmonar com VEF<sub>1</sub> (volume expiratório forçado no primeiro segundo) inferior a 70%, relação VEF<sub>1</sub> / CVF (capacidade vital forçada) < 0,70 e/ou uma reversibilidade ao fluxo de ar após inalação de 200 mcg de BDAR, em relação ao valor previsto de 15% ou 200 ml no valor de VEF<sub>1</sub>.

Neste estudo, a exacerbação grave de asma foi clinicamente definida por sintomas noturnos que perturbavam sono, e ou necessidade crescente de inalação de BDAR e por FEV<sub>1</sub> < 60% do previsto após o uso de broncodilatador e necessidade de tratamento com corticóide oral pela avaliação médica.

Para completar os critérios de inclusão, os participantes tinham idade entre 18 e 60 anos, eram não fumantes ou ex-fumantes por mais de 1 ano, sem história de infecção respiratória no último mês, e capazes de fornecer consentimento livre esclarecido antes do início do estudo.

Foram excluídos os pacientes com outras doenças pulmonares crônicas como DPOC, bronquiectasia, assim como, aqueles com comorbidades sistêmicas clinicamente significantes e não controladas. Pacientes em uso de crônico de medicações que poderiam mascarar os resultados, tabagistas e gestantes também não puderam participar do estudo.

Os pacientes que preencheram os critérios para a inclusão foram informados quanto aos objetivos do estudo, procedimentos envolvidos e riscos. Após concordarem em participar, assinaram o termo de consentimento livre esclarecido. Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina.

### **3.2. Delineamento do estudo**

Este é um estudo descritivo transversal. O estudo incluiu pacientes com exacerbações graves de asma atendidos no NUPAIVA entre agosto de 2001 e agosto de 2003, participantes de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, não controlado de grupos paralelos para avaliar os efeitos antiinflamatórios de dois corticoesteróides sistêmicos e orais nas exacerbações moderadas e graves de asma. Os participantes foram consecutivamente incluídos após preencherem os critérios de inclusão e assinarem consentimento livre esclarecido.

As avaliações do pacientes ocorreram em uma única visita, antes de qualquer tratamento. Neste dia, foram obtidos dados gerais dos participantes, realizada história clínica e exame físico, espirometria e indução de escarro. A análise do escarro foi realizada por um profissional cego às características clínicas de cada paciente.

### **3.3. Métodos clínicos**

#### Parâmetros clínicos

Durante a visita do estudo, uma avaliação clínica detalhada foi realizada, incluindo abordagem cronológica da doença, sintomas, gravidade, atopia e tratamentos realizados. Também foi realizada uma pequena investigação para a possível causa da exacerbação, listagem dos medicamentos utilizados, avaliação dos sintomas respiratórios na última semana, segundo a escala de Likert<sup>22</sup>, aferição dos sinais vitais e um breve exame físico.

#### Espirometria

As espirometrias foram realizadas segundo as especificações da American Thoracic Society (ATS)<sup>23</sup> empregando um espirômetro computadorizado (Koko<sup>®</sup> Spirometer, PDS Instrumentation, Louisville, USA). Foi considerado como VEF<sub>1</sub> basal, o melhor valor reprodutível e com amplitude menor que 0,15 entre três expirações forçadas. A reversibilidade foi comprovada 15 minutos após a inalação de 200mcg de salbutamol liberados através de um dispositivo pressurizado/dosimetrado e com auxílio de um espaçador

para melhorar a administração do medicamento (Aerochamber<sup>®</sup>, Trudell Medical Internacional, London, On, Canada). Os valores previstos para o exame foram obtidos segundo Capro e colaboradores<sup>24</sup>.

### Escala de Likert

A escala de Likert<sup>22</sup> avalia a presença, frequência e intensidade de sintomas de asma ocorridos durante a última semana antes da admissão do paciente no estudo. O investigador administra as perguntas da escala e a pontuação é graduada pelo paciente sem interferência do investigador. De acordo com esta escala 7 pontos representam ausência de qualquer sintoma em particular e 1 ponto representa máxima sintomatologia experimentada pelo paciente na última semana. Os sintomas avaliados são: dispnéia, opressão torácica, sibilos, tosse e escarro. O questionário ainda avalia a frequência dos sintomas (duração menor ou maior que 2/3 vezes por semana ou diários) e ocorrência dos mesmos no período do dia (matutinos, noturnos).

### Indução do escarro

A indução do escarro foi realizada cautelosamente de acordo com o método descrito por Pizzichini e colaboradores, modificado para pacientes com exacerbação de asma ou limitação grave ao fluxo de ar das vias aéreas<sup>25</sup>. O procedimento consistiu da inalação de um aerossol de solução salina isotônica (0,9%) seguida por solução salina hipertônica (3 e 4%), produzido por um nebulizador ultra-sônico Fisoneb<sup>®</sup> (Canadian Medical Products, Ltd., Markham, Ontario), com débito de 0,87 ml/min e partículas com diâmetro aerodinâmico de massa mediano de 5,58 µm. A inalação do aerossol foi mantida inicialmente por um minuto e seguida gradativamente com inalações durante 2, 4 e 7 minutos, com posterior mensuração do valor de VEF<sub>1</sub>. O paciente foi instruído a enxaguar a boca, engolir a água e assoar o nariz para evitar contaminação com saliva ou secreção pós-nasal. A seguir o participante foi orientado a tossir e depositar o escarro em um recipiente estéril. Estes procedimentos foram consecutivamente repetidos aumentando-se a concentração da solução a cada 7 minutos até a obtenção de escarro suficiente para análise ou até uma queda do VEF<sub>1</sub> de 20% ou mais em relação ao valor basal. A indução foi mantida até completar 21 minutos ou até que ocorresse

queda do valor de VEF<sub>1</sub> maior que 20%. Se o material da indução fosse suficiente, a indução era considerada finalizada, caso houvesse necessidade de maior quantidade de material prosseguia-se a inalação com a mesma concentração finalizando com o tempo total de 21 minutos. A broncoconstrição excessiva apresentada por alguns pacientes foi facilmente revertida com BDAR.

#### Processamento do escarro

O escarro foi examinado e processado dentro de 2 horas, pela técnica decrita previamente por Pizzichini e colaboradores<sup>16</sup>. As citospinas obtidas foram coradas pelo corante de Giemsa para a contagem diferencial de células, sendo que 400 células não escamosas foram contadas na lâmina de melhor qualidade.

O escarro foi considerado eosinofílico na presença de contagem diferencial de eosinófilos maior ou igual a 3,0%<sup>26</sup>.

#### **3.4 Análise estatística**

A sumarização dos resultados foi realizada através de uma análise descritiva dos dados. Os dados de distribuição normal foram expressos como média e desvio padrão (DP) e aqueles com distribuição não normal, como contagem total e diferencial de células, foram expressos como mediana e amplitude do semi-quartil (ASQ). O teste t não pareado foi empregado para a análise de variáveis contínuas na diferença entre os grupos. Para as variáveis categóricas, foi utilizado o teste do qui-quadrado. Valores de p inferiores a 0.05 foram considerados significantes.

Para análise da segurança os pacientes foram selecionados em dois grupos conforme a queda máxima do VEF<sub>1</sub> ao final da indução em relação ao valor pré-indução (VEF<sub>1</sub> pós broncodilatador). Os pacientes apresentaram queda do valor de VEF<sub>1</sub> < 15% ou queda de VEF<sub>1</sub> ≥ 15%.

A queda em litros (L) do valor de VEF<sub>1</sub> foi calculada pela subtração do menor valor de VEF<sub>1</sub> após a indução de escarro do valor de VEF<sub>1</sub> pós broncodilatador (pré-indução). A queda no VEF<sub>1</sub> expressa em percentual (%) foi calculada pela seguinte fórmula:



$$\text{queda no VEF}_1\% = \frac{\text{Menor VEF}_1(\text{L}) \text{ após indução} - \text{VEF}_1(\text{L}) \text{ pós broncodilatador}}{\text{VEF}_1(\text{L}) \text{ pós broncodilatador}} \times 100$$

A análise dos fatores que poderiam afetar a segurança da indução de escarro (queda do VEF<sub>1</sub>) foi avaliada através da regressão linear multivariada usando o modelo de retirada gradativa das variáveis (backward). A variável dependente foi a queda no valor de VEF<sub>1</sub> (percentual ou em litros) e as variáveis independentes foram: valor de VEF<sub>1</sub> pós broncodilatador (litros) em relação ao predito, mudança no valor de VEF<sub>1</sub> pós broncodilatador em relação ao valor pré broncodilatador (percentual), uso de BDAR (jatos por dia), duração da indução (minutos), concentração máxima da salina utilizada (percentual) e quantidade de eosinófilos no escarro (logaritmo).

## 4. RESULTADOS

Diversas causas foram citadas pelos pacientes para justificar o aumento ou aparecimento dos sintomas de asma durante a exacerbação. A principal delas foi à presença de gripe ou resfriado. Em média, os sintomas surgiram duas semanas antes da inclusão dos pacientes no estudo, sendo que 47% destes utilizavam regularmente corticoterapia inalatória e 86% aumentaram o uso de medicação broncodilatadora na última semana. As características gerais destes pacientes estão descritas na Tabela 1.

A taxa de sucesso da indução do escarro foi de 93%. Apenas três indivíduos apresentaram quantidade de escarro insuficiente para a contagem celular. O valor de  $VEF_1$  pós broncodilatador (pré-indução) foi em média de 47,9% do predito, sendo o valor mínimo e máximo de 24% e 60% , respectivamente. O procedimento durou, em média, 10 minutos, variando de 1 a 21 minutos. A concentração máxima de salina utilizada por estes indivíduos foi de 4%. Em dezoito pacientes a concentração final de salina foi de 0,9%, em 23 pacientes esta foi de 3% e nos 4 restantes de 4%, conforme Figura 1. Durante a realização da indução nenhum paciente apresentou complicação relevante, necessidade de atendimento de urgência ou internação.

Vinte e quatro pacientes apresentaram queda do valor de  $VEF_1 < 15\%$ , sete destes pacientes não tiveram mudança no valor de  $VEF_1$  após o procedimento, como pode ser observado na Figura 2. A queda mínima do  $VEF_1$  após o procedimento foi de zero em sete pacientes e a máxima foi de 44% em um paciente. Neste último caso o paciente apresentou queda do  $VEF_1$  em 44% em 3 minutos de inalação de solução salina isotônica. Vinte e um pacientes apresentaram queda do valor de  $VEF_1 \geq 15\%$ . Broncoconstrição excessiva, definida como queda do  $VEF_1 > 20\%$  ocorreu em 14 destes pacientes. Na Tabela 2 encontram-se as características clínicas dos pacientes e da indução de escarro de acordo com a magnitude da queda do valor de  $VEF_1$  após o procedimento. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos quanto ao valor de  $VEF_1$  pré-indução, duração, concentração salina utilizada, escore de sintomas, uso de corticóide inalado, não ocorrendo também diferenças dos pacientes que não obtiveram sucesso na indução.

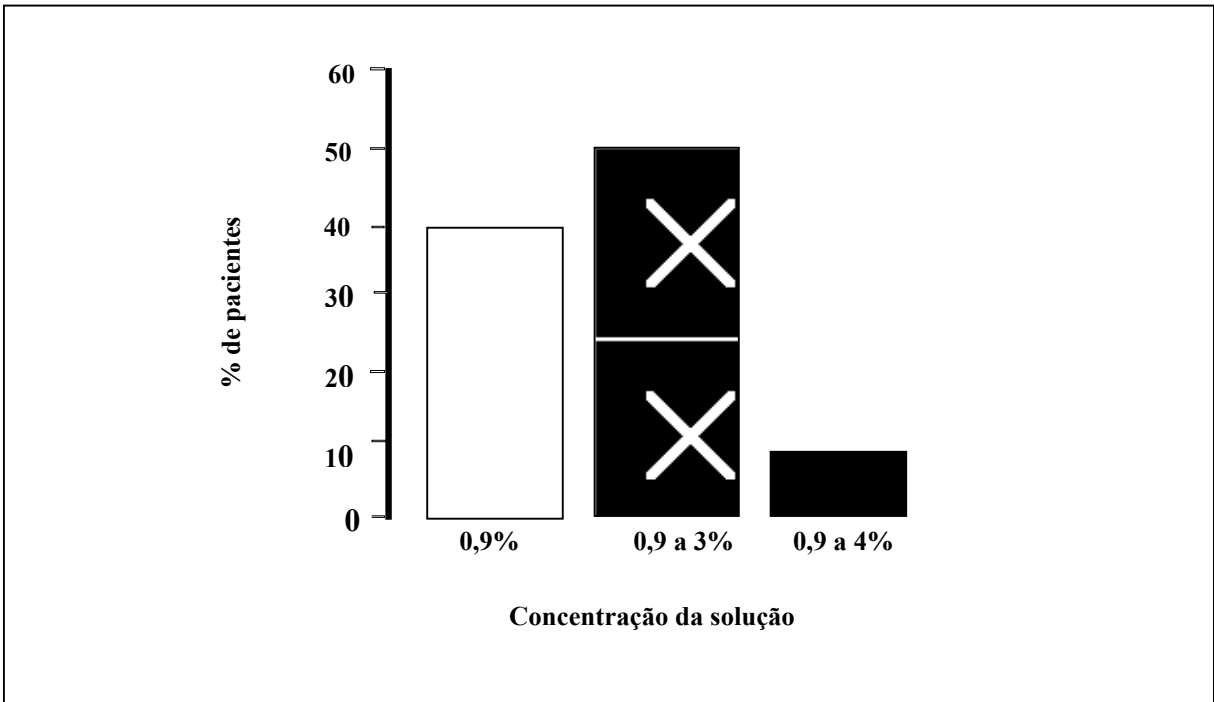
Neste estudo, os pacientes que tiveram queda do valor de  $VEF_1 \geq 15\%$  após a indução não diferiram daqueles com queda de  $VEF_1 < 15\%$  em relação ao uso BDAR, assim como, no valor de  $VEF_1$  pré indução, no grau de reversibilidade após o broncodilatador na espirometria e no escore de sintomas. Quatorze pacientes utilizavam regularmente corticóide inalado e tiveram queda inferior a 15%, sete pacientes que também utilizavam a medicação apresentaram queda superior a 15%, porém não foi encontrada diferença significativa entre o uso prévio de corticóide e a queda do  $VEF_1$ . Quanto ao procedimento de indução de escarro, os pacientes não foram diferentes em relação à concentração salina utilizada e a duração de inalação. A porcentagem de eosinófilos no escarro também não diferiu entre os dois grupos. A análise de regressão linear demonstrou que nenhum destes fatores em associação ou isoladamente foi capaz de prever a queda no  $VEF_1$ , conforme mostra a Tabela 3.

A indução de escarro nos pacientes que não obtiveram amostra suficiente de material foi semelhante aos pacientes com sucesso. Estes pacientes apresentavam  $VEF_1$  pré-indução (média  $\pm$  DP) de  $1,70 \pm 0,7$  litro, duração do exame de 5 a 15 minutos, e máxima concentração salina utilizada de 3%. O paciente que teve a duração do exame em menor tempo não apresentou queda do valor de  $VEF_1$ , entretanto, os outros dois pacientes que tiveram a indução completada em 14 e 15 minutos, apresentaram respectivamente, queda de 23% e 12% em relação ao valor pré-indução.

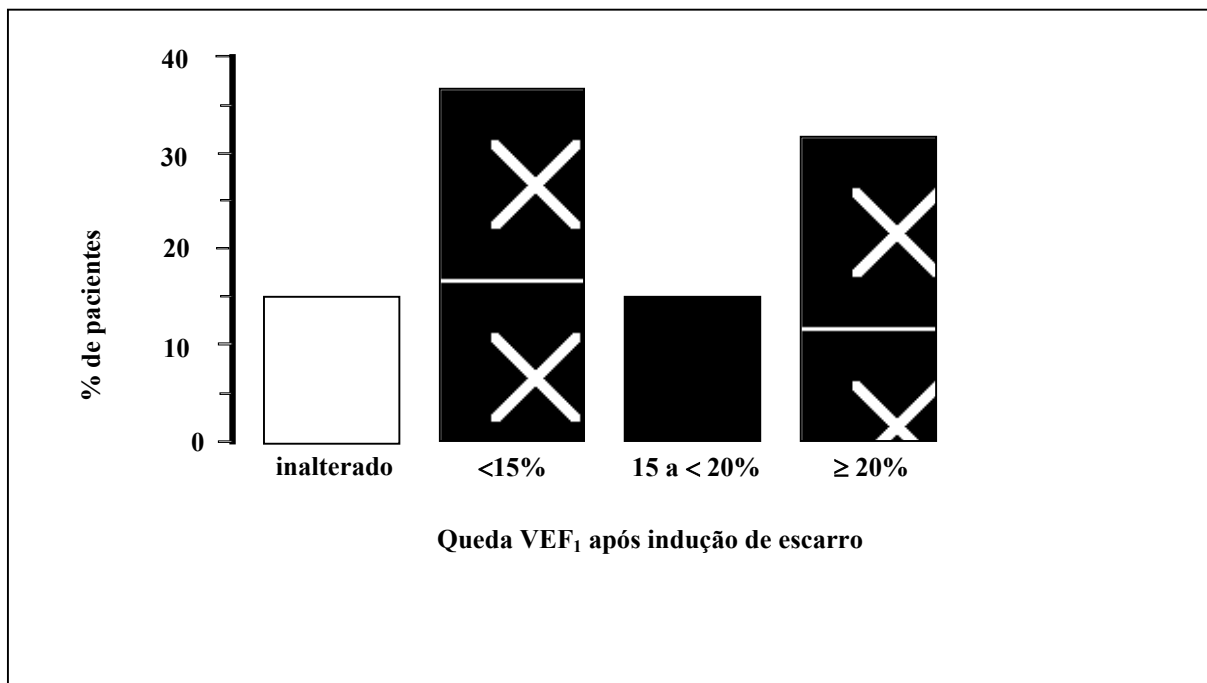
**Tabela 1 – Características demográficas e clínicas dos participantes.**

<b>Características</b>	<b>Resultados</b>
<b>Participantes, n</b>	45
<b>Características demográficas</b>	
<b>Idade, anos*</b>	36,3 (11,6)
<b>Sexo masculino, n (%)</b>	16 (35,6)
<b>Não fumantes / ex, n</b>	31/12
<b>Atopia, n (%)</b>	32 (71,1)
<b>Características clínicas</b>	
<b>Escore de sintomas*</b>	21,5 (6,3)
<b>Uso de corticóide inalado, n (%)</b>	21 (46,7)
<b>Uso de BDAR, jatos/dia*</b>	6,9 (5,2)
<b>VEF<sub>1</sub> pré-BD % predito*<sup>Δ</sup></b>	38,8 (7,2)
<b>VEF<sub>1</sub> pós-BD % predito*<sup>Δ</sup></b>	47,9 (8,9)
<b>Δ VEF<sub>1</sub> pós-BD, L*</b>	0,33 (0,2)
<b>Δ VEF<sub>1</sub> pós-BD, % do predito*<sup>Δ</sup></b>	25,0 (22,6)

\* Dados expressos pela média e desvio padrão (DP); n = número absoluto; % = percentual; BDAR = broncodilatador de ação rápida; VEF<sub>1</sub> = volume expiratório forçado no 1º segundo; BD = broncodilatador; Δ = reversibilidade; L= litros. <sup>Δ</sup> Valores preditos de VEF<sub>1</sub> segundo Crapo *et al*<sup>24</sup>.



**Figura 1** – Concentração máxima de solução salina utilizada pelos pacientes durante a indução de escarro.



**Figura 2** — Percentual de pacientes em relação à queda do valor do volume expiratório forçado no primeiro segundo após indução de escarro.

**Tabela 2 – Características clínicas dos pacientes e da indução do escarro de acordo com a queda do valor de VEF<sub>1</sub> pré-indução.**

<b>Queda do VEF<sub>1</sub> pré-indução</b>	<b>&lt; 15 %</b>	<b>≥ 15 %</b>	
<b>Participantes, n</b>	24	21	
<b>VEF<sub>1</sub> pós-BD % predito* <sup>Δ</sup></b>	48,4 (7,8)	47,4 (10,1)	NS
<b>Δ VEF<sub>1</sub> pós-BD, L*</b>	0,31 (0,22)	0,35 (0,3)	NS
<b>Δ VEF<sub>1</sub> pós-BD, % do predito* <sup>Δ</sup></b>	26,0 (19,6)	23,7 (26,0)	NS
<b>Uso de BDAR, jatos/dia*</b>	6,6 (5,4)	7,0 (5,2)	NS
<b>Duração da indução, minutos</b>	9 (4,3)	11,2 (5,0)	NS
<b>Concentração máxima de salina, n</b>			
<b>– 0,9 %</b>	11	7	NS
<b>– 3,0 %</b>	11	12	NS
<b>– 4,0 %</b>	2	2	NS
<b>Queda máxima do VEF<sub>1</sub>, %*</b>	<b>3,8 (8,6)</b>	<b>22,6 (6,1)</b>	<b>S</b>

\* Dados expressos pela média e desvio padrão (DP); n = número absoluto; VEF<sub>1</sub> = volume expiratório forçado no 1º segundo; BD = broncodilatador; % = percentual; L= litros; BDAR = broncodilatador de ação rápida; Δ = reversibilidade; <sup>Δ</sup> Valores preditos de VEF<sub>1</sub> segundo Crapo *et al*<sup>24</sup>.

**Tabela 3 – Matriz de correlação multivariada utilizando a queda do valor de VEF<sub>1</sub> pré-indução em litros ou percentual como variável dependente.**

Queda do VEF <sub>1</sub> pré-indução	Litros	%
	Coeficiente de correlação	
VEF <sub>1</sub> pós-BD, L predito <sup>Δ</sup>	- 0,323	-0,057
ΔVEF <sub>1</sub> pós-BD % predito <sup>Δ</sup>	- 0,251	-0,166
Uso de BDAR, jatos/dia	-0,116	-0,221
Duração da indução, minutos	-0,275	-0,151
Concentração máxima de salina	-0,203	-0,064
Eosinófilos no escarro	-0,183	-0,153

VEF<sub>1</sub> = volume expiratório forçado no 1º segundo; % = percentual; BD = broncodilatador; L= litros; BDAR = broncodilatador de ação rápida; Δ = reversibilidade; <sup>Δ</sup> Valores preditos de VEF<sub>1</sub> segundo Crapo *et al*<sup>24</sup>.



## 5. DISCUSSÃO

Este estudo mostrou que a indução de escarro teve sucesso em 93% dos pacientes com exacerbações graves de asma. Nenhum fator isoladamente ou em associação foi preditivo do grau de broncoconstrição após a indução do escarro. Broncoconstrição excessiva ocorreu em cerca de um terço dos pacientes, porém foi prontamente revertida pelo uso adicional de broncodilatador inalado. Nenhum paciente necessitou de outro tipo de tratamento broncodilatador, atendimento de emergência ou hospitalização. Estes resultados confirmam que este método de indução de escarro é seguro para ser utilizado em pacientes com exacerbações graves da asma apesar do risco de broncoconstrição.

A taxa de sucesso na obtenção de material suficiente para análise do presente estudo mostrou-se superior às taxas de sucesso relatadas em outras publicações incluindo pacientes com asma estável ou pacientes hígidos<sup>27, 28, 29</sup>. Este fato, contudo, não surpreendeu, uma vez que as vias aéreas de pacientes em exacerbação de asma possuem um processo inflamatório mais intenso em relação a asmáticos estáveis, com conseqüente maior produção de escarro.

Outros estudos já relataram a segurança da indução de escarro em pacientes asmáticos<sup>25, 27-32</sup>, porém este é o primeiro estudo que avaliou um número significativo de pacientes em exacerbações graves submetidos à indução de escarro utilizando um método modificado. Até o momento, vale ressaltar um único estudo semelhante a este na literatura, publicado em 1997, por Pizzichini MMM e colaboradores<sup>25</sup>, onde foram estudados apenas 10 pacientes com exacerbações graves de asma. Os autores avaliaram os pacientes através de sintomas, valor VEF<sub>1</sub> pós broncodilatador, mudanças de parâmetros inflamatórios do escarro induzido em diferentes etapas, antes e após tratamento das exacerbações. Trinta induções foram analisadas, e em 10 ocasiões houve broncoconstrição excessiva, porém todos os pacientes obtiveram amostras suficientes de escarro para análise. Os resultados do estudo foram semelhantes aos encontrados neste trabalho quanto ao sucesso e segurança do escarro induzido.

Diferentes publicações avaliaram possíveis fatores que podem afetar a segurança da indução do escarro em pacientes com graus variados de asma estável<sup>21, 27, 30, 31</sup>. La Fuente<sup>27</sup> comparou a indução do escarro com solução salina hipertônica (3, 4 e 5% em intervalos de 5 minutos durante 30 minutos) em pacientes com asma leve, moderada e severa. O escarro foi obtido em 75% dos pacientes estudados e a queda do valor de VEF<sub>1</sub> foi significativamente maior nos pacientes com asma grave estável. Wong<sup>30</sup> avaliou 351 induções (solução salina a

3% durante 20 minutos contínuos) em 78 pacientes. Onze pacientes apresentaram queda do  $VEF_1 \geq 20\%$  e a mudança no valor de  $VEF_1$  foi significativamente correlacionada com o valor de  $VEF_1$  pré broncodilatador e pós broncodilatador, com resposta a metacolina (importante indutor de hiperresponsividade) e com a eosinofilia no escarro. Um estudo multicêntrico coordenado por Fahy<sup>31</sup>, estudou 79 pacientes com asma moderada e grave submetidos à indução do escarro (solução salina a 3% durante 20 minutos contínuos) e concluiu que os pacientes com valores reduzidos de  $VEF_1$  pré broncodilatador foram aqueles que tiveram maior risco para desenvolver broncoconstrição. Estes estudos são de difícil comparação com os resultados deste trabalho por causa dos diferentes métodos de indução de escarro utilizados em cada estudo.

Os fatores que podem influenciar a segurança da indução de escarro avaliados neste estudo foram: valor de  $VEF_1$  pós broncodilatador em relação ao predito, uso recente excessivo de BDAR, duração da indução, concentração máxima da salina utilizada, queda do valor  $VEF_1$  pré-indução.

Primeiramente para análise da segurança os pacientes foram divididos em dois grupos conforme a magnitude da queda do  $VEF_1$  ao final da indução em relação ao valor pré-indução. O ponto de corte utilizado foi 15%, pois este é um valor que representa uma alteração significativa do  $VEF_1$  não relacionada a valores obtidos com a espirometria e variabilidade normal das medidas.

Um método modificado de indução de escarro foi utilizado para aumentar a segurança do procedimento em pacientes com exacerbações graves de asma. Neste sentido, a segurança da indução do escarro foi avaliada pela monitorização do valor de  $VEF_1$  a cada intervalo de tempo de 1, 2 e 4 minutos. A constante avaliação da função pulmonar durante a indução permitiu um controle mais efetivo do risco de broncoconstrição. Alguns pesquisadores preconizam a utilização de intervalos maiores de tempo de inalação antes de avaliação da queda de  $VEF_1$ <sup>27, 30, 31</sup>. Diante disto, os pacientes com pobre percepção dos sintomas podem apresentar subitamente quedas precoces e significativas de  $VEF_1$ <sup>19</sup>.

A concentração de solução salina utilizada nas diversas publicações varia entre 0,9 e 5%<sup>25, 27, 30, 31</sup>. No entanto, sabe-se que a solução salina hipertônica é mais efetiva que a salina isotônica na obtenção de escarro induzido<sup>28</sup>, porém, estando associada a um maior risco de broncoconstrição<sup>20</sup>. Há estudos que iniciam a inalação com solução salina a 3% e aumentam gradativamente para 4 e 5% a cada 7 minutos<sup>17</sup>, outros mantêm salina a 3% durante 20

minutos<sup>30</sup>. Por sua vez, este estudo iniciou o procedimento com solução salina isotônica e conforme o valor de VEF<sub>1</sub>, seguiu gradativamente com solução salina hipertônica de 3, 4 e 5%, a cada 7 minutos. A concentração máxima de solução salina utilizada foi de 4%, porém dezessete pacientes obtiveram amostra de escarro suficiente com solução salina isotônica, e três destes apresentaram queda de VEF<sub>1</sub>  $\geq$  20%. É incerto se os pacientes que obtiveram amostra suficiente de escarro com concentração salina inferior ou igual a 3% apresentariam broncoconstrição excessiva se continuassem o procedimento com concentrações de 4 e 5%. Um paciente apresentou queda de VEF<sub>1</sub> em 44% utilizando solução salina de 0,9% por 3 minutos. Este fato é relevante já que a utilização da nebulização com soro fisiológico com concentração salina a 0,9% associada com medicação broncodilatadora é uma constante nas emergências hospitalares para alívio dos sintomas de asma. Esta prática deveria ser abandonada, uma vez que a solução salina isotônica mesmo acompanhada de medicação broncodilatadora é capaz de causar broncoconstrição excessiva e adicionalmente existe o risco de contaminação do paciente através da manipulação repetida e manutenção inadequada do material. Em alguns países mais desenvolvidos este método já é considerado ultrapassado.

O tempo máximo aceitável de indução de escarro não está especificado na literatura. Entretanto, cada estudo é responsável pelo sucesso do procedimento associado a segurança e tolerabilidade da inalação para o paciente. A taxa de sucesso do exame parece ser semelhante para diferentes tempos de inalação, que variam entre 15 e 30 minutos<sup>19</sup>. Neste trabalho o intervalo máximo de inalação utilizado foi de 21 minutos, com duração média de 10 minutos. Dois pacientes tiveram a indução completada em apenas 1 minuto e oito pacientes necessitaram de tempo superior a 15 minutos para terminar o exame. Para aqueles que obtiveram material já no primeiro minuto, considera-se que o escarro foi espontâneo, pelo fato de que para haver efetiva produção de escarro há necessidade dos pacientes utilizarem soluções salinas hipertônicas, com conseqüentemente maior tempo de indução<sup>28</sup>.

Algumas publicações relatam uma forte correlação entre o uso recente excessivo de BDAR com a magnitude da queda de VEF<sub>1</sub> após a indução do escarro. Por exemplo, em um outro estudo, Pizzichini e colaboradores<sup>32</sup> examinaram a segurança do escarro induzido em 31 pacientes com asma não controlada utilizando o método modificado de indução do escarro (0,9; 3; 4; 5% em intervalos de 1-2 minutos por até 21 minutos). Os autores concluíram que a segurança do escarro, naqueles pacientes, foi influenciada de forma adversa pelo uso abusivo BDAR. Posteriormente, Brinke e colaboradores<sup>21</sup> estudaram a segurança da indução do escarro

em 93 pacientes portadores de asma grave estável e demonstraram que os pacientes em uso recente excessivo de BDAR eram aqueles com maior riscos de desenvolver broncoconstrição excessiva durante a indução de escarro. Finalmente Wark e colaboradores<sup>29</sup>, usando critérios menos restritivos para caracterizar exacerbação grave de asma, relataram que os fatores que influenciaram adversamente a segurança da indução do escarro utilizando somente solução salina isotônica foram a idade e uso recente excessivo de BDAR.

Este estudo difere das três publicações acima mencionadas, uma vez que não houve correlação entre o uso recente excessivo de BDAR e broncoconstrição excessiva após a indução de escarro. Contudo, broncoconstrição excessiva ocorreu em 31% dos participantes. Desta forma, a falta de correlação neste estudo pode ser explicada pelo fato da seleção de um grupo bastante homogêneo de asmáticos, com características clínicas muito similares, sem uma variabilidade na quantidade de BDAR utilizada por paciente. A variabilidade no uso de BDAR, neste caso, seria uma premissa necessária para se estudar a presença ou ausência da associação. Contudo, é importante ressaltar que a presença de correlação entre o uso recente excessivo de BDAR e broncoconstrição excessiva, demonstrada pelos outros estudos, é relevante porque indica perda do efeito broncoprotetor do BDAR contra estímulos variados de broncoconstrição como exercício e exposição a alérgenos. Na verdade, esta tolerância ao broncodilatador apesar de controversa é bem reconhecida e merece maiores investigações<sup>20</sup>.

A ocorrência de sintomas durante a indução não foi relatada, e todos os 14 pacientes que apresentaram queda de  $VEF_1 > 20\%$  receberam tratamento imediato com BDAR e retornaram ao valor inicial de  $VEF_1$  em até 20 minutos. Outra vantagem do BDAR é pode ser utilizado como medicação de resgate em pacientes em excessiva broncoconstrição e uma amostra insuficiente de escarro. Neste estudo 14 pacientes utilizaram BDAR após apresentarem broncoconstrição excessiva.

Concluindo, mesmo em pacientes considerados exacerbados graves, as induções de escarro obtiveram sucesso evidente na obtenção de material de boa qualidade para análise e foram seguras, embora houvesse necessidade da utilização de uma técnica modificada com monitorização cautelosa dos pacientes. Entretanto, apesar da necessidade de futuros estudos nesta área, estes resultados estimulam a utilização do escarro induzido em pacientes com uma situação de intensa atividade da doença.

## 6. CONCLUSÕES

1. A indução de escarro em pacientes com exacerbações graves de asma apresenta uma taxa de sucesso significativa.
2. O escarro induzido é um exame seguro em pacientes com exacerbações graves de asma, apesar do risco de broncoconstrição.
3. O valor de  $VEF_1$  pós broncodilatador pré indução, uso recente excessivo de BDAR, duração da indução e a concentração máxima da salina, não foram capazes de prever a queda no valor de  $VEF_1$  durante o procedimento.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Hargreave FE, Pizzichini MMM, Pizzichini E. Assessment of airway inflammation. In: Barnes P, editor. *Asthma*. Philadelphia, 1997.
2. Bousquet J. Global initiative for asthma (GINA) and its objectives. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 2s-5s.
3. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma. *J de Pneumol* 2002; 28 Supl 1: 6s-8s
4. Brasil. Ministério da Saúde. Morbidade hospitalar do SUS de janeiro/1995 a novembro/2001.
5. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 1998; 351: 1225-32.
6. Williams PV. Controle da Asma. *Clinical Symposia Novartis* 1997; 49 (3).
7. Liu AH, Murphy JR. Hygiene hypothesis: fact or fiction? *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111 (3): 471-8.
8. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131:599-606.
9. Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, Collins JV, Kay AB. Bronchial biopsies in asthma. An ultrastructural, quantitative study and correlation with hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140:1745-1753.
10. Dunill MS. The pathology of asthma, with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J Clin Pathol* 1960; 13: 27-33.
11. Pizzichini E. Escarro induzido: possíveis aplicações de um novo método na prática clínica da asma brônquica. *Arquivos Catarinenses de Medicina* 2001; 31 (3-4): 1-4.
12. Djukanovic R, Sterk PJ, Fahy JV, Hargreave FE. Standardised methodology of sputum induction and processing. *Eur Respir J* 2002; 20: Suppl. 37, 1s-2s.
13. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, e colaboradores. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 119; 47: 25-29.
14. Pizzichini MMM, Pizzichini E. Inflamação das vias aéreas na asma. In: Silva LCC, editor. *Conduas em pneumologia*. Rio de Janeiro: Revinter, 2001; 265-70.

15. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Hargreave FE. Induced sputum in the management of asthma. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* 1998; 19: 581-92.
16. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D e colaboradores. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 308-17.
17. Valchos-Mayer H, Leigh R, Sharon RF, Hussack P, Hargreave FE. Success and safety of sputum induction in the clinical setting. *Eur Respir J* 2002; 16: 997-1000.
18. Pavord ID, Sterk PJ, Hargreave FE, Kips JC, Inman MD, Louis R e colaboradores. Clinical applications of assessment of airway inflammation using induced sputum. *Eur Respir J* 2002; 20: 40s-43s.
19. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Ind PW, Djukanovic R, Maestrelli P. *Eur Respir J* 2002; 20: Suppl. 37, 3s-8s.
20. Pizzichini E, Pizzichini M, Leigh R, Djukanovic R, Sterk P. Safety of sputum induction. *Eur Respir J* 2002; 20: 1-10.
21. Brinke A, Lange C, Zwinderman A, Rabe K, Sterk P, Bel E. Sputum induction in Severe Asthma by a standardized protocol. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 749-753.
22. Marks GB, Dunn SM, Woolcock AJ. A scale for the measurement of quality of life in adults with asthma. *J Clin Epidemiol* 1992; 45: 461- 472.
23. American Thoracic Society. Standardization of spirometry: 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1107-36.
24. Crapo RO, Morris AH, Gardner RM. Reference spirometric values using techniques and equipment that meet ATS recommendations. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123:659-664.
25. Pizzichini MMM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Evans S, Dolovich J, Hargreave FE. Sputum in severe exacerbations of asthma: kinetics of inflammatory indices after prednisone treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 155:1501-8
26. Belda J, Leigh R, Parameswaran K, O'Byrne PM, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:475-478.
27. de la Fluente PT, Romagnoli M, Godard P, Bousquet J, Chanez P. Safety of induction sputum in patients with asthma of varying severity. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1127-1130.

28. Popov TA, Pizzichini MMM, Pizzichini E, Kolendowicz R, Punthakee Z, Dolovich J and Hargreave FE. 1995. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis. *Eur Respir J* 8:559-565.
29. Wark PA, Simpson JL, Hensley MJ, Gibson PG. Safety of sputum induction with isotonic saline in adults with acute severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2001; 31(11): 1745-53.
30. Wong FH, Fahy JV. Safety of one method of sputum induction in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 299-303.
31. Fahy JV, Boushey HA, Lazarus SC, Mauger EA, Reuben M, Cherniak RM, e colaboradores. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:1470-1475.
32. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Burigo AC, Ferreira SC. Sputum induction in stable steroid naive asthmatics: influence of prior use of  $\beta_2$  agonist . *Eur Respir J* 1998; 12: Suppl. 28, 365s.



## **NORMAS ADOTADAS**

Este trabalho foi digitado de acordo com as normas de resolução número 001/2001 do Colegiado do Curso em Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina, terceira edição.