

PABLO MORITZ

**DETERMINAÇÃO DO COMPONENTE INFLAMATÓRIO
DAS DOENÇAS DAS VIAS AÉREAS ATRAVÉS DO ESCARRO
INDUZIDO: UTILIZAÇÃO NA PRÁTICA CLÍNICA**

FLORIANÓPOLIS

2007

PABLO MORITZ

**DETERMINAÇÃO DO COMPONENTE INFLAMATÓRIO
DAS DOENÇAS DAS VIAS AÉREAS ATRAVÉS DO ESCARRO
INDUZIDO: UTILIZAÇÃO NA PRÁTICA CLÍNICA**

**Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado em Ciências Médicas da
Universidade Federal de Santa Catarina,
para obtenção do título de Mestre.**

Coordenadora: Profa. Dra. Marcia Margaret Menezes Pizzichini.

Orientador: Prof. Dr. Emilio Pizzichini

FLORIANÓPOLIS

2007

DEDICATÓRIA

**À DEUS, ORIGEM E DESTINO DA NOSSA JORNADA EVOLUTIVA,
AOS PACIENTES, SOFREDORES DO CAMINHO,
ÀQUELES QUE ESTÃO MAIS PRÓXIMOS, PARA QUE POSSAMOS NOS AMPARAR UNS AOS
OUTROS NA CAMINHADA,
À BYANCA, MINHA BÚSSOLA E MEU PORTO SEGURO,
AO MEU FILHO ARTUR, BÊNÇÃO DAS NOSSAS VIDAS,
AOS PAIS QUE TENHO, RAFAEL E SONIA, QUE ME INICIARAM NA JORNADA.**

AGRADECIMENTOS

A todos os pacientes que atenderam ao convite do NUPAIVA e dispuseram de seu tempo para a coleta de dados do estudo. Sem sua generosidade e desejo de contribuir para com a ciência esta pesquisa não teria sido possível.

À equipe de pesquisadores do NUPAIVA – Núcleo de Pesquisa em Asma e Inflamação das Vias Aéreas: enfermeiras Cristiane Cinara Rocha, Maíra Chiaradia Perraro e Nazaré Otília Nazário, que realizaram os procedimentos junto aos pacientes; à técnica em laboratório Célia Tânia Zimmermann, que processou o escarro, e à bioquímica Samira Ferreira que fez a contagem celular.

Aos professores Emilio Pizzichini, Marcia Margaret Menezes Pizzichini e Leila John Marques Steidle, pelo precioso tempo dedicado à inspiração, orientação e colaboração na realização deste estudo.

RESUMO

Introdução: Além de um importante instrumento de pesquisa, a celularidade do escarro induzido (EI) vem sendo utilizada em alguns centros para o diagnóstico e monitoração do componente inflamatório (inflamometria) das doenças das vias aéreas. Contudo, seu papel na prática diária da pneumologia ainda deve ser melhor definido.

Objetivos: Avaliar a utilização e a influência da determinação do componente inflamatório das doenças das vias aéreas, através do exame do escarro induzido, nas decisões terapêuticas de um serviço terciário de pneumologia.

Método: Foram analisadas 151 amostras de escarro induzido de 132 pacientes consecutivos referidos para indução de escarro com propósitos clínicos por cinco pneumologistas, entre julho de 2006 e fevereiro de 2007. As indicações para a realização do teste e a conduta terapêutica adotada em função do resultado foram analisadas através de questionário preenchido pelo médico que solicitou o escarro induzido, quando do recebimento do resultado. O escarro foi obtido e processado de acordo com Pizzichini e colaboradores.

Resultados: As principais indicações do teste foram: titulação da dose do corticosteróide inalatório na asma moderada a grave (54,3%), investigação de tosse crônica (30,5%), monitoração da inflamação em pacientes com bronquiectasias (7,3 %) e monitoração da inflamação na DPOC (6%). Dos 82 pacientes com asma, 47 (57%) apresentaram bronquite eosinofílica (eosinófilos >3%). Bronquite eosinofílica sem asma foi diagnosticada em 9 (19%) dos 46 pacientes que realizaram o exame para investigar tosse crônica. Dois (22%) de nove pacientes portadores de DPOC apresentaram bronquite eosinofílica. Bronquite neutrofílica (neutrófilos > 65%) foi observada em 13 pacientes; 5 com asma, 2 com tosse crônica e 6 com DPOC/Bronquiectasias. Com base nos resultados do EI, 48 (64,7%) pacientes com asma tiveram sua dose de corticosteróide modificada.

Conclusão: A aplicação sistemática da “inflamometria” através do exame do escarro induzido pode trazer importantes benefícios aos pacientes com doenças respiratórias, principalmente àqueles portadores de asma e tosse crônica.

Implicações: Casuísticas maiores e mais diversificadas devem ser futuramente estudadas para identificar diferentes fenótipos inflamatórios de outras condições e, eventualmente levar a um plano de tratamento individualizado para cada uma delas, a exemplo da asma.

ABSTRACT

Introduction: Induced sputum cell counts are an important research instrument and have been used in few centers for diagnosis and to monitor the inflammatory component (inflammometry) of airways diseases. However, its role in clinical practice of respiratory medicine still remains to be better defined.

Objectives: To study the clinical usefulness of measuring the inflammatory component of airway diseases through induced sputum cell counts, and its influence on treatment decisions in a tertiary respiratory center.

Method: We included 151 sputum samples from 132 consecutive patients referred for clinical sputum induction from five respirologists between July 2006 and February 2007. A questionnaire regarding indication, diagnosis and action taken was filled up by each attending physician upon receiving test results. Induce sputum was performed and processed according to Pizzichini *et al.*

Results: Main indications for the test were inhaled steroid dose titration in more severe asthma (54,3%) chronic cough investigation (30,5%), bronchiectasis (7,3%) and COPD monitoring (6%). Among 82 patients with asthma, 47 (57%) showed eosinophilic bronchitis (eosinophil counts > 3%). Nonasthmatic eosinophilic bronchitis was diagnosed in 9 (19%) of the 46 patients with chronic cough. Eosiniphilic bronchitis was found in two of the 9 patients with COPD. Neutrophilic bronchitis (neutrophil counts > 65%) was found in 13 patients, 5 with asthma, two with chronic cough, and 6 with COPD/bronchiectasis. Based on IS results 48 (64,7%) asthma patients had their steroid dose modified.

Conclusion: The systematic application of inflammometry using induced sputum may be of benefit for patients with airway diseases, particularly those with asthma or chronic cough.

Implications: Studies with a bigger and more heterogeneous population should be further performed to identify different inflammatory phenotypes in other conditions and, eventually, lead to an individualized treatment to airway diseases.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BE	Bronquite eosinofílica
BN	Bronquite neutrofílica
CI	Corticosteróide inalatório
CTC	Contagem total de células
CVF	Capacidade vital forçada
DP	Desvio padrão
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EI	Escarro induzido
ONe	Óxido nítrico exalado
PFE	Pico de fluxo expiratório
VEF ₁	Volume expiratório forçado no primeiro segundo

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	vi
SUMÁRIO	vii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Escarro induzido	2
1.2 Medida do óxido nítrico exalado	5
1.3 Análise do ar exalado condensado	6
1.4 Aplicabilidade do escarro induzido nas doenças das vias aéreas	6
2 OBJETIVOS	11
3 PARTICIPANTES E MÉTODOS	12
3.1 Participantes	12
3.2 Delineamento do estudo	12
3.3 Métodos	13
3.3.1 Questionário	13
3.3.2 Espirometria	13
3.3.3 Indução de escarro	13
3.3.4 Processamento do escarro	14
3.3.5 Análise estatística	15
4 RESULTADOS	16
5 DISCUSSÃO	23
6 CONCLUSÕES	27
7 REFERÊNCIAS	28
8 NORMAS ADOTADAS	38
9 ANEXO	39

INTRODUÇÃO

A inflamação das vias aéreas é considerada a causa primária de doenças respiratórias altamente prevalentes como a asma e a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), sendo responsável pelos sintomas, exacerbações¹ e possivelmente, pelo remodelamento das vias aéreas.² Por isto, a identificação de marcadores biológicos que permitam avaliar precocemente o processo inflamatório poderia auxiliar na monitoração e na otimização do tratamento destas doenças o que, atualmente, é um dos principais objetivos da medicina respiratória.³

A importância da inflamação das vias aéreas em condições como asma, DPOC e fibrose cística passou a ser reconhecida somente a partir da década de 80, após a utilização da broncofibroscopia para explorar as vias aéreas dos pacientes asmáticos. Pelo fato desta ser um procedimento invasivo e requerer sedação, sua utilização repetida tanto na pesquisa quanto na prática clínica é limitada.

Os componentes das doenças das vias aéreas incluem sintomas, limitação variável ao fluxo de ar, hiperresponsividade das vias aéreas, limitação crônica ao fluxo de ar e inflamação das vias aéreas, assim como enfisema e bronquiectasias.⁴ (figura 1) Estes componentes podem co-existir em variadas combinações. A inflamação das vias aéreas (bronquite) é o componente central a todos os outros. Ela é responsável pelos sintomas, limitação variável ao fluxo de ar através da liberação de mediadores broncoconstritores, e limitação crônica ao fluxo de ar através do remodelamento das vias aéreas com alterações estruturais. Os sintomas de dispnéia, tosse, expectoração e sibilância são todos inespecíficos pois podem ser a expressão de qualquer um dos outros componentes, assim como de outras doenças respiratórias e não-respiratórias. Daí a importância de métodos complementares para investigar a origem dos sintomas.

Os métodos de investigação das doenças das vias aéreas atualmente mais utilizados são a espirometria completa com ou sem a utilização do broncodilatador, a medida do pico de fluxo expiratório (PFE) para avaliar suas variações diurnas, e a broncoprovocação por estímulos inespecíficos (metacolina ou histamina) para avaliar a responsividade das vias aéreas. Em contraste, métodos para avaliação direta da inflamação das vias aéreas (inflamometria) são raramente empregados na prática clínica. Estes métodos incluem a broncofibroscopia para

obtenção do lavado broncoalveolar e/ou espécimes de tecido brônquico^{5, 6}, e técnicas menos invasivas como o exame da celularidade do escarro induzido^{7, 8}, a medida do óxido nítrico no ar exalado (ONe)^{9, 10} e a análise do condensado do ar exalado.¹¹⁻¹³ A inflamação das vias aéreas também pode ser determinada indiretamente através da mensuração de diversos marcadores no sangue periférico e na urina. Contudo, atualmente, esta metodologia oferece resultados inespecíficos sem nenhuma utilidade clínica.

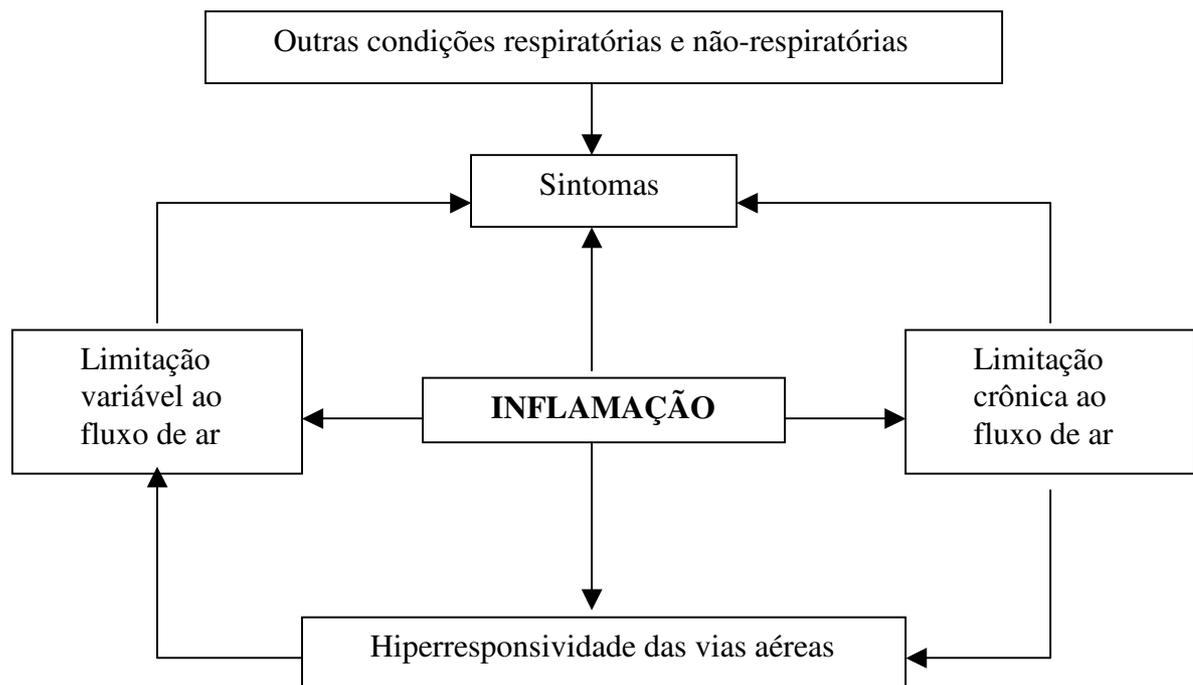


Figura 1 – Relação entre os componentes das doenças das vias aéreas. Fonte: adaptado de Hargreave FE *et al.* Asthma, COPD and bronchitis are just components of airway disease. Eur Respir J 2006;28(2):264-7.

1.1 Escarro induzido

A indução do escarro através de um aerosol de solução salina hipertônica foi introduzida em 1958 por Bickerman *et al.*¹⁴ para o diagnóstico do câncer de pulmão. A técnica foi utilizada mais tarde para a investigação da tuberculose¹⁵, assim como de infecções pulmonares oportunistas.^{16, 17}

Embora já se saiba há várias décadas que o escarro produzido espontaneamente por

asmáticos contém um número aumentado de eosinófilos, e que este achado teria implicações terapêuticas, o exame do escarro foi durante muito tempo abandonado. Isto se deveu principalmente à dificuldade de obtenção de uma amostra adequada de escarro em muitos pacientes com asma e pelas dificuldades técnicas no seu processamento, o que tornava os resultados pouco acurados. Mais recentemente, dois avanços importantes permitiram o retorno da utilização do exame do escarro como importante ferramenta de pesquisa. O primeiro foi a demonstração de que o escarro poderia ser obtido em indivíduos incapazes de expectorar espontaneamente. Neste sentido, a introdução da indução do escarro com o uso de solução salina em pacientes com asma de diferente gravidade^{18,19}, e em outras doenças respiratórias²⁰ abriu caminho para uma utilização progressivamente mais disseminada do método na medicina respiratória. O segundo avanço refere-se ao refinamento das técnicas de processamento do escarro durante a década de 90, que tornou a metodologia do exame do escarro exequível, reproduzível, válida e responsiva às intervenções.²¹

A partir disso se observou um crescimento rápido do número de publicações nos quais os pesquisadores têm utilizado esse método para estudar os vários aspectos da inflamação das vias aéreas.²² Inicialmente foi priorizado o estudo da asma. Mais recentemente, a utilização do exame do escarro foi estendida para a DPOC, fibrose cística, tosse crônica, fibrose pulmonar idiopática e outras doenças respiratórias.^{20, 23}

A segurança do procedimento de indução foi avaliada em vários estudos, incluindo pacientes com asma e DPOC de grau leve a moderado com doença estável^{24, 25} e pacientes doença exacerbada com limitação ao fluxo de ar mais acentuada.^{26, 27} O método de indução de escarro encontra-se hoje bem validado e padronizado²⁸, proporcionando uma forma segura e relativamente não-invasiva de coleta de material das vias aéreas inferiores (escarro), o que pode levar à identificação de marcadores biológicos de potencial utilidade clínica na investigação e caracterização do componente inflamatório (bronquite) envolvido na gênese dos sintomas das doenças das vias aéreas.

A indução do escarro consiste na inalação de um aerossol de solução salina hipertônica em diferentes concentrações em indivíduos tratados previamente com um broncodilatador de ação rápida e curta (salbutamol) para prevenir a constrição das vias aéreas.²⁹ Este procedimento desencadeia tosse que auxilia na eliminação das secreções determinando a coleta do escarro para exame. A concentração do aerossol de solução salina hipertônica e o tempo de indução variam de acordo com o método utilizado.²⁸ Os riscos em pacientes com

asma e DPOC que apresentam limitação ao fluxo de ar de grau leve a moderado são aceitáveis.²⁵ O método também é seguro em pacientes com limitação grave ao fluxo de ar das vias aéreas, exacerbados ou não, desde que a indução seja realizada com cautela e se utilize um procedimento modificado.²⁶ Quando a constrição das vias aéreas ocorrer, esta pode ser rapidamente revertida através da utilização de broncodilatador inalado de ação rápida. Até o momento não existem relatos de efeitos adversos sérios, necessidade de admissão hospitalar ou óbito em pacientes que foram submetidos à indução de escarro.

O escarro obtido através da indução é então processado para obtenção das fases líquida e celular, e então analisado. Cada passo do método utilizado para processar o escarro foi criteriosamente avaliado, visando minimizar a variabilidade intrínseca do método. Por exemplo, Popov *et al.*³⁰ propuseram um método para examinar o escarro usando citocentrifugados (que na verdade são “imprints” de células em uma lâmina). As vantagens deste procedimento em relação ao uso do esfregaço decorrem da excelente dispersão e melhor definição das células, determinando maior reprodutibilidade do método e diminuição do tempo necessário para a contagem diferencial de células.

O escarro assim obtido identifica marcadores biológicos de potencial utilidade clínica na investigação das doenças inflamatórias das vias aéreas. Estes marcadores podem ser medidos na fase líquida ou mensurados através da contagem celular diferencial, sendo esta última a mais freqüentemente utilizada. Assim, o exame da celularidade do escarro permite identificar a presença de inflamação (bronquite) eosinofílica, neutrofílica, a associação de ambas, ou a ausência de inflamação. Os achados da celularidade do escarro se correlacionam apenas parcialmente com a espirometria, hiperresponsividade das vias aéreas, lavado broncoalveolar e biópsia brônquica, demonstrando que estes métodos medem diferentes compartimentos e funções das vias aéreas, podendo ser complementares.^{6, 31}

Com o objetivo de tornar o método mais aplicável e interpretar seus achados, foram publicados alguns estudos para determinar os parâmetros de normalidade da celularidade diferencial, com um número expressivo de participantes. Os dois estudos principais são o de Belda *et al.*³², com 118 indivíduos hígidos com idade entre 18 e 60 anos, e o de Spanevello *et al.*³³ com 114 indivíduos hígidos com idade entre 25 e 51 anos. Com base nestes estudos, foram disponibilizados padrões da normalidade. A influência da idade na contagem celular diferencial do escarro induzido também foi estudada, interrogando-se um aumento na contagem de neutrófilos, principalmente a partir dos 50 anos.³⁴

Por outro lado sabe-se que a celularidade do escarro pode sofrer influências regionais, conforme o nível de desenvolvimento industrial e de poluição do ar de cada cidade.³⁵ Em um estudo realizado na cidade de Florianópolis com pacientes asmáticos, observou-se uma proporção menor de neutrófilos no escarro induzido em relação a proporção descrita em outros centros neste mesmo tipo de pacientes.³⁶ Estes achados sugerem que o uso de valores de referência obtidos em outros centros poderia não ser totalmente aplicável ao nosso meio, sinalizando para a importância da determinação dos parâmetros da normalidade na nossa população em futuros estudos.

Um inconveniente deste método decorre da necessidade de que o escarro seja examinado em um período de até duas horas após a sua obtenção.^{19,37} Estudos estão sendo desenvolvidos com o objetivo de ampliar o limite de tempo para o início do processamento do escarro após sua coleta, porém estes novos métodos ainda necessitam validação.³⁸

1.2 Medida do óxido nítrico exalado

A presença de óxido nítrico endógeno no ar exalado de animais e humanos foi descrita inicialmente em 1991.³⁹ Logo após este achado, várias publicações relataram concentrações elevadas de ONe em pacientes asmáticos quando comparados a indivíduos hígidos.^{10, 40} O teste pode ser realizado com o indivíduo respirando em um dispositivo de análise em tempo real, ou através da coleta do ar exalado em um balão para análise posterior.⁴¹

Estudos mais recentes demonstraram um aumento no número de partículas de óxido nítrico no ar exalado de asmáticos virgens de tratamento com corticosteróide inalatório, nas exacerbações da doença e após exposição a alérgenos em pacientes suscetíveis.¹¹ Contudo o aumento do ONe também pode ser observado em outras condições como nas infecções das vias aéreas superiores⁴², cirrose hepática⁴³, pacientes com síndrome de Kartagener, bem como ingestão de álcool e tabagismo, tornando o método pouco específico.^{11, 44}

O ONe aparentemente está associado a hiperresponsividade das vias aéreas em adultos e crianças¹¹, porém o método é incapaz de discriminar inflamação eosinofílica de não-eosinofílica nas diversas doenças das vias aéreas.⁴⁵ A fração de óxido nítrico no ar exalado tipicamente cai antes da eosinofilia nas vias aéreas ser controlada.⁴⁶ Apesar de seu uso ter sido recomendado recentemente para ajustar a dose de corticosteróides inalatórios na asma de indivíduos adultos⁴⁷, existem dúvidas quanto à sua aplicabilidade na prática clínica.

Considera-se que este não é bom método para predizer a possibilidade de interrupção da corticoterapia sem deterioração do controle da asma.⁴⁸

1.3 A análise do ar exalado condensado

Este método permite a mensuração de diversos marcadores inflamatórios biológicos não voláteis no condensado do ar exalado.¹¹ O condensado é coletado através do resfriamento do ar exalado. A maior vantagem deste método é o fato de ser totalmente não-invasivo e não influir no calibre das vias aéreas, sendo extremamente bem tolerado mesmo em pacientes com limitação importante das vias aéreas e em crianças. Esse princípio já foi aplicado em adultos asmáticos, onde se observaram concentrações elevadas de óxido nítrico, nitrito, nitrato e peróxido de hidrogênio.⁴⁹ Os ensaios realizados em crianças utilizando este método são reprodutíveis, e já existem parâmetros da normalidade publicados.^{50, 51} A concentração desses marcadores difere de acordo com a idade⁵², e está aumentada em crianças asmáticas quando comparadas a crianças híginas, podendo desta forma refletir a inflamação das vias aéreas.⁵³ Contudo, ainda são necessários novos estudos nessa área, tendo em vista que a exata origem dos marcadores mensurados por este método não está esclarecida e que sua aplicabilidade clínica ainda não está determinada. À semelhança do escarro, estudos recentes demonstram que os marcadores de inflamação e estresse oxidativo obtidos por este método não se correlacionam com aqueles obtidos através do lavado broncoalveolar.⁵⁴

1.4 Aplicabilidade do escarro induzido nas doenças das vias aéreas

Asma: Asma é uma doença comum, com impacto significativo na vida do indivíduo afetado.⁵⁵ A inflamação nas vias aéreas é considerada o fator de maior importância na patogênese da asma, podendo ser eosinofílica ou não-eosinofílica.⁵⁶ Ambas estão associadas à limitação crônica ao fluxo de ar⁵⁷ e à gravidade da doença.⁵⁸

Na asma leve persistente, os pacientes permanecem assintomáticos uma boa parte do tempo, e as provas de função pulmonar são normais ou muito discretamente alteradas. Isto torna difícil utilizar sintomas, VEF₁ e PFE como variáveis para guiar o tratamento nesta população. Portanto, os benefícios de se utilizar testes não-invasivos para monitoramento da inflamação das vias aéreas são bastante amplos. Além disso, o exame do escarro induzido

pode ser útil na decisão de descontinuar o tratamento em pacientes estabilizados, indicando quais os pacientes que provavelmente irão apresentar reagudização do quadro no futuro.⁴⁸

Na asma persistente moderada a grave, a presença de bronquite eosinofílica em um paciente assintomático é um fator preditivo de uma exacerbação⁵⁹, e portanto deve ser suprimida através do aumento da dose do corticosteróide inalado, ou melhora na aderência ao tratamento. Portanto, nesses casos, uma questão muito importante no manejo a longo prazo é a titulação da dose ideal de corticosteróide inalatório para a manutenção de um controle adequado da inflamação das vias aéreas. Green *et al.* utilizaram uma escala de até 1%, 1% a 3% e maior que 3% de eosinófilos no escarro induzido para diminuir, manter inalterada ou aumentar a dose de corticosteróide inalatório no tratamento da asma, comparando este grupo de pacientes com um grupo tratado com base nas recomendações atuais da *British Thoracic Society* (BTS).⁶⁰ As decisões terapêuticas de acordo com a BTS foram baseadas na avaliação clínica tradicional através de sintomas, uso de broncodilatadores de resgate e provas de função pulmonar. Os desfechos clínicos e funcionais foram similares nos dois grupos, contudo os pacientes que foram randomizados para o grupo do escarro tiveram um número cumulativo muito menor de exacerbações graves do que o grupo do BTS (35 vs. 109, $p=0.01$) e um número menor de pacientes necessitaram admissão hospitalar devido à asma (1 vs. 6, $p=0.047$) nos 75 pacientes com asma moderada a grave seguidos no período de um ano. De um modo geral, os dois grupos receberam quantidades semelhantes de corticosteróide inalatório e isto permitiu concluir que o uso do escarro induzido para direcionar o tratamento antiinflamatório resulta em um melhor manejo da asma. Em um outro estudo com dois anos de seguimento, Jayaram e colaboradores⁶¹ também compararam o manuseio clínico de acordo com as diretrizes canadenses⁶² com uma estratégia direcionada ao controle da inflamação das vias aéreas. Neste estudo, a utilização da estratégia direcionada ao controle da inflamação das vias aéreas pelo escarro reduziu o risco de exacerbações em 49%, com uma redução maior nas exacerbações moderadas a graves (67%) além de prolongar o tempo até a primeira exacerbação. A análise dos subgrupos de acordo com a presença ou não de inflamação eosinofílica permitiu observar uma menor utilização de corticosteróide inalatório nos pacientes com inflamação não-eosinofílica incluídos no grupo do escarro induzido e, uma maior utilização de corticosteróide inalatório nos pacientes com inflamação não-eosinofílica tratados de acordo com as diretrizes canadenses. Os benefícios mais importantes ocorreram nos pacientes com asma moderada a grave com uma redução significativa nas exacerbações

eosinofílicas. Não houve diferença na frequência de exacerbações não eosinofílicas que foram as mais frequentes. Os resultados destes dois estudos indicam que a monitorização do tratamento da asma guiada pelo controle da inflamação eosinofílica do escarro otimiza o tratamento a longo prazo da asma, identificando e reduzindo a ocorrência de exacerbações.

O escarro induzido também tem sido utilizado para monitorar a cinética da resolução da inflamação eosinofílica após a utilização de tratamento antiinflamatório com corticosteróide sistêmico.²⁶ A monitoração do número de eosinófilos no escarro tem sido reportada como o parâmetro mais acurado para determinar a dose de manutenção mínima de anti-inflamatório necessário para o tratamento da asma.⁶³

A contagem celular diferencial do escarro identifica se a exacerbação da asma está associada a eosinofilia, neutrofilia ou a um padrão misto. Ocasionalmente, nenhum tipo de inflamação celular estará presente.⁶⁴ Observa-se que pacientes com contagem de eosinófilos no escarro inferiores a 3% não apresentam evidência de melhora clínica e funcional quando submetidos ao tratamento com corticosteróides inalatórios.⁶⁵ Por outro lado, aqueles que apresentam bronquite eosinofílica (eosinófilos acima de 3%) apresentam melhora clínico-funcional que se correlaciona à queda dos eosinófilos no escarro induzido ou ao seu desaparecimento.⁶⁶ Isto sugere que a avaliação da inflamação subjacente é melhor do que a avaliação dos sintomas e das anormalidades funcionais para indicar o tratamento com corticosteróides. Enquanto as exacerbações por inflamação eosinofílica respondem bem aos corticosteróides, as exacerbações causadas por infecções virais ou bacterianas, neutrofílicas em sua maioria, requerem apenas tratamento de suporte com broncodilatadores, ou a utilização de um antibiótico. Aumentar a dose do corticosteróide inalatório nestas situações é uma medida geralmente ineficaz.⁶⁷

A análise da celularidade do EI também é uma ferramenta útil para o diagnóstico da asma ocupacional.⁶⁸ Esta é uma condição cujo diagnóstico nem sempre é fácil uma vez que o teste de broncoprovocação específico com a substância suspeita de causar a asma ocupacional nem sempre é possível, exigindo equipamento caro e somente disponível em poucos centros especializados. Já o método alternativo de monitoração do PFE durante o trabalho e repouso é pouco sensível e específico, subestima a variação do calibre das vias aéreas e pode ter os resultados facilmente falsificados.⁶⁸ Por isto, o EI vem sendo utilizado com frequência crescente uma vez que pode mostrar o surgimento de um componente inflamatório, eosinofílico ou não, associado aos períodos de trabalho, com resolução após o afastamento do

trabalho apenas naqueles indivíduos com asma ocupacional.⁶⁹

Bronquite Eosinofílica: A análise do EI também permitiu o reconhecimento da bronquite eosinofílica não-asmática como uma causa tratável de tosse crônica. A maioria dos pacientes com tosse crônica tem neutrofilia no escarro.⁷⁰ Entretanto, até 40% dos portadores de tosse crônica podem apresentar uma contagem de eosinófilos no escarro superior a 3%.²⁰ Destes, metade são asmáticos e metade têm responsividade das vias aéreas normal e são na realidade portadores de uma condição específica recentemente descrita como bronquite eosinofílica não-asmática.²⁰ Os pacientes com tosse crônica que possuem eosinofilia no escarro associada à asma (responsividade das vias aéreas aumentada) e à bronquite eosinofílica (responsividade das vias aéreas normal) respondem ao tratamento com corticosteróide. Assim, a aferição da inflamação das vias aéreas passa a ser uma importante ferramenta recentemente adicionada ao algoritmo de investigação da tosse crônica.^{71, 72}

DPOC: A principal característica do escarro induzido nos indivíduos com DPOC é a neutrofilia²⁰, e as opções de tratamento atualmente disponíveis têm pouco ou nenhum efeito sobre a inflamação neutrofílica. A contagem absoluta e percentual dos neutrófilos correlaciona-se com a diminuição do VEF₁ e com o aumento da queda longitudinal do VEF₁, sugerindo que a inflamação neutrofílica das vias aéreas tem implicações funcionais relevantes.⁷³ Entretanto, estudos mostram que até 40% dos pacientes com DPOC apresentam uma quantidade de eosinófilos aumentada no escarro.^{74, 75} Estes indivíduos são indistinguíveis do ponto de vista clínico e funcional daqueles que não apresentam eosinofilia no escarro. Existem evidências importantes de que a eosinofilia no escarro prevê uma resposta objetiva ao tratamento com corticosteróide por via oral^{74, 75} e inalatório.⁷⁶ Portanto, assim como na asma, talvez a contagem de eosinófilos no escarro induzido possa ser utilizada para identificar pacientes com DPOC responsivos a corticoterapia, guiando de forma mais precisa o tratamento medicamentoso. Esta hipótese foi motivo de um estudo randomizado recentemente publicado onde se comparou, ao longo de um ano, um grupo de pacientes com DPOC tratado de forma convencional de acordo com o consenso da *British Thoracic Society*, e um grupo tratado com base na celularidade do escarro induzido. Observou-se uma redução significativa no número de exacerbações graves e admissões hospitalares no grupo tratado com base nos achados do escarro induzido, sendo que a dose de corticosteróide inalatório ou oral utilizada pelos pacientes durante o estudo foi semelhante nos dois grupos.⁷⁷

Outras condições: Existem poucos estudos sobre as características celulares do escarro

induzido em outras doenças respiratórias. Na fibrose pulmonar idiopática, já se observou inflamação eosinofílica e inflamação neutrofílica, levantando-se a hipótese de que esta inflamação nas vias aéreas poderia estar contribuindo para a tosse nesses pacientes.²³ Entretanto, considera-se que a indução de escarro reflete a inflamação principalmente das grandes vias aéreas, e não seria o método ideal para investigação do interstício na fibrose pulmonar. Observaram-se graus variados de neutrofilia em pacientes com a Síndrome da Apnéia Obstrutiva do Sono.⁷⁸ Estes achados sugerem que esta condição, sabidamente relacionada a inflamação nas vias aéreas superiores⁷⁹, possa estar relacionada também a inflamação nas vias aéreas inferiores.

A motivação para a realização deste estudo originou-se de dois fatos principais. Primeiro, o reconhecimento de que os parâmetros mais freqüentemente utilizados na prática clínica para monitorar os pacientes portadores de doenças das vias aéreas, tais como sintomas e provas de função pulmonar, não refletem diretamente o processo inflamatório subjacente. Segundo, a compreensão de que os diferentes padrões inflamatórios presentes nas vias aéreas não são exclusivos de nenhuma doença respiratória e que uma mesma doença pode apresentar mais de um tipo de inflamação ao longo do tempo. Embora as evidências atuais demonstrem que a medida da celularidade do escarro induzido proporciona, de forma pouco invasiva, informações válidas e específicas sobre os diferentes tipos de inflamação presente nas doenças das vias aéreas, a utilidade destas informações na prática clínica diária não se encontra bem estabelecida. Neste sentido, nós objetivamos neste estudo avaliar a utilização do método em situações corriqueiras da medicina respiratória, bem como caracterizar a influência da determinação do componente inflamatório das doenças das vias aéreas nas decisões terapêuticas.

OBJETIVOS

2.1 Primário

Avaliar a utilização e determinar as conseqüências da análise da celularidade do escarro induzido no diagnóstico e manejo das doenças das vias aéreas, na prática clínica de um serviço terciário de pneumologia.

2.2 Secundário

Determinar as características do componente inflamatório das vias aéreas de pacientes portadores de doenças respiratórias prevalentes.

PARTICIPANTES E MÉTODOS

3.1 Participantes

No presente estudo foram incluídos de forma consecutiva 132 pacientes capazes de produzir, em uma ou mais ocasiões, uma amostra adequada de escarro induzido para uso clínico. Os pacientes foram referidos por cinco pneumologistas, entre julho de 2006 e fevereiro de 2007, com o objetivo específico de determinar o componente inflamatório envolvido, no sentido de elucidar a natureza de sintomas respiratórios ou de auxiliar nas decisões terapêuticas em pacientes com doenças respiratórias previamente diagnosticadas. De acordo com a indicação clínica relatada pelo médico assistente, os pacientes foram agrupados como portadores de asma, tosse crônica, DPOC, bronquiectasias, bronquite eosinofílica sem asma e outras (pneumonia de resolução lenta).

Os participantes foram informados quanto aos objetivos do estudo, as características dos procedimentos envolvidos e os respectivos 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

Estudo transversal prospectivo que consistiu de uma única visita onde se realizaram a coleta de dados clínicos, a espirometria completa antes e após a utilização de um broncodilatador inalatório e indução do escarro. Ao receber o resultado do teste, o médico assistente preencheu um questionário estruturado a respeito da indicação do procedimento, a caracterização do componente inflamatório envolvido, e qual seria a conduta terapêutica baseada naquele resultado. O processamento do material obtido no exame do escarro e a contagem celular diferencial foram realizados em laboratório de referência sem o conhecimento das características clínicas dos participantes.

Uma amostra de escarro adequada para análise foi definida como aquela que contivesse material expectorado com viabilidade celular superior a 50%, e com uma contaminação com

células escamosas da orofaringe inferior a 20% e que se mostrasse suficiente para a contagem diferencial de 400 células.

3.3 Métodos

3.3.1 Questionário

Foi utilizado um questionário padronizado para avaliar a indicação clínica para a realização do teste, a natureza do componente inflamatório envolvido e, frente aos resultados da celularidade diferencial e total obtidos, qual seria a conduta terapêutica adotada pelo médico assistente (anexo 1).

3.3.2 Espirometria

A espirometria completa antes e após o broncodilatador inalatório foi realizada de acordo com as especificações da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia.⁸⁰ Para tanto foi utilizado um espirômetro computadorizado (Koko[®] Spirometer, PDS Instrumentation, Louisville, EUA). Os valores da normalidade previstos utilizados foram aqueles publicados por Crapo *et al.*⁸¹

3.3.3 Indução de escarro

A indução de escarro foi realizada pelo método descrito por Pizzichini *et al.*^{7, 28} O procedimento foi iniciado 10 minutos após a administração de 200 µg de salbutamol inalado através de aerosol por dose medida, através da inalação de um aerosol de solução salina em concentrações crescentes (0,9%, 3%, 4% e 5%), cada uma destas inalada por 3 e 4 minutos sucessivamente até a obtenção de escarro suficiente para análise, ou até uma queda do VEF₁ igual ou superior a 20% em relação ao valor basal. Utilizou-se um nebulizador ultrasônico Fisoneb (Fisons, Pickering, Ontario, Canadá), com débito de 0,87 ml/min e partículas com diâmetro aerodinâmico de massa mediano de 5,58 µm. Após cada período de inalação, o

VEF₁ foi medido para garantir a segurança do teste, sendo que a concentração da solução salina não era aumentada caso ocorresse uma queda do VEF₁ entre 10 e 19% em relação ao valor basal.

Após cada inalação, os pacientes foram instruídos a enxaguar a boca, engolir a água e assoar o nariz para evitar contaminação do expectorado com saliva ou secreção pós-nasal. A seguir foram orientados a tossir e recolher o escarro num recipiente estéril.

3.3.4 Processamento do escarro

O escarro foi analisado dentro das primeiras 2 horas, conforme descrito por Pizzichini *et al.*⁷ O escarro recém coletado é espalhado em uma placa de Petri, e todas as porções mais opacas ou densas, melhor visualizadas ao microscópio invertido, que pareçam diferentes de saliva são separadas e colocadas dentro de um tubo de 15 ml de poliestireno e pesadas.³⁷ Esse material é tratado com dithiothreitol (Sputolysin 10%; Calbiochem Corp.; San Diego, California) diluído a 1:10 com água destilada, em um volume 4 vezes maior do que o peso do escarro selecionado para análise. Essa mistura é turbilhonada por 15 segundos, aspirada com uma pipeta e depois recolocada no tubo para garantir a mistura, sendo posteriormente colocada em um homogenizador (Speci-mix; Barnstead/Thermolyne; Dubuque, Iowa, EUA) por 15 minutos. Adiciona-se então quatro vezes o volume do escarro selecionado, de salina tamponada com fosfato de Dulbecco, e recoloca-se o conteúdo no homogenizador por mais 5 minutos. A suspensão resultante é filtrada através de uma malha de *nylon* com 48 µm de diâmetro (BBSH; Thompson; Scarborough, Ontario) para remover debris celulares e o muco restante. A contagem de células é realizada em um hemocítômetro Neubauer modificado e a viabilidade celular é determinada simultaneamente corando a lâmina com Trypan blue. O número total de células por miligrama é calculado e expresso em milhões por grama de escarro processado. O citocentrifugado é preparado colocando-se em média 75 µL de suspensão de células, ajustada para obter uma concentração de $1,0 \times 10^6$ /mL, em uma citocentrífuga Shandon 3 (Shandon Southern Instruments, Sewickley, PA, EUA) funcionando em 450 rotações por minuto durante 6 minutos. As lâminas são secas ao ar e coradas com May-Grünwald Giemsa, e a contagem diferencial de células é feita em 400 células não escamosas. A amostra é considerada adequada se a contagem total e diferencial de células

puder ser determinada, sendo e os resultados são expressos em milhões de células por grama de escarro.

3.3.5 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 DP. O *software* utilizado para análise do banco de dados foi o SPSS para Windows versão 10.0.

A contagem total de células (CTC) e a viabilidade celular foram expressas como a média e 5-95% percentil. Os dados com distribuição não normal, como a contagem diferencial de eosinófilos, foram expressos como mediana e amplitude do interquartil. As diferenças entre as doenças das vias aéreas foram inicialmente analisadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Quando uma diferença significativa entre as diferentes doenças foi observada, a comparação entre elas foi feita utilizando o teste não paramétrico de Mann-Whitney U. Foram considerados significativos os valores de p inferiores a 0.05.

RESULTADOS

Entre julho de 2006 e fevereiro de 2007 foram realizadas no nosso centro 157 induções de escarro em 138 pacientes com propósitos clínicos. Deste total, em 151 induções (132 pacientes) houve produção de material expectorado adequado para análise, caracterizando uma taxa de sucesso de 96%. Em todos estes 151 exames obteve-se o preenchimento do questionário pelo médico assistente. Das 151 induções de escarro incluídas, sete apresentaram material apenas suficiente para contagem de 100 células. Contudo, todas estas sete amostras apresentaram viabilidade celular superior a 60% e permitiram uma contagem celular diferencial cujos resultados estavam dentro dos limites da normalidade. Estes resultados foram considerados válidos pelo médico assistente e utilizados para a tomada de decisão terapêutica.

A média de idade dos pacientes foi de 49 ($\pm 17,5$) anos, sendo 96 mulheres (63%) e 55 homens, que apresentaram um VEF1 médio de 70,6 ($\pm 24,3$) % do valor previsto e uma relação VEF1/CVF de 0,64 ($\pm 0,1$). O tempo de indução necessário para a produção de um expectorado adequado foi de 12,1 ($\pm 5,3$) minutos. Uma amostra adequada de escarro foi obtida em 65% dos pacientes utilizando-se apenas as concentrações de solução salina mais baixas (0,9% e 3%). Em 22% dos pacientes necessitou-se da concentração de 4%, e em apenas 11% dos pacientes foi necessário utilizar a concentração de 5%. A queda média no VEF1 durante o processo de indução foi de 6,8 (7,6) % em relação ao valor basal. As características gerais dos pacientes estão descritas na tabela 1.

Tabela 1: Características dos pacientes

	Homens	Mulheres	Geral
Número de exames	55	96	151
Idade, anos	50,1 ± 19	48,4 ± 16,6	49 ± 17,5
VEF ₁ % do previsto	68 ± 23,2	72,1 ± 24,9	70,6 ± 24,3
VEF ₁ / CVF	0,62 ± 0,1	0,66 ± 0,1	0,64 ± 0,1
Tempo de indução, minutos	11 ± 4,5	12,6 ± 5,7	12,1 ± 5,3
Falência na indução, n	1	5	6

VEF₁ = Volume expiratório forçado no primeiro segundo
 CVF = Capacidade vital forçada
 n = número de pacientes

As características dos pacientes de acordo com o diagnóstico principal do médico assistente estão descritas na tabela 2.

Tabela 2: Características dos pacientes por grupos, de acordo com o diagnóstico do médico assistente.

	Asma	Tosse crônica	Bronquiectasias	DPOC
Número de exames	82	46	11	9
VEF ₁ % do previsto	61,5 ± 20,8	92,1 ± 16,2	53,4 ± 6,6	51,8 ± 18,7
VEF ₁ / CVF	0,60 ± 0,1	0,77 ± 7,6	0,55 ± 7,1	0,49 ± 0,1
Queda no VEF ₁ %	8,3 ± 8,4	4,3 ± 5,1	4,1 ± 5,2	10,4 ± 9,7
Tempo de indução, minutos	11,3 ± 5,1	13,6 ± 5,4	9,8 ± 3,7	13,2 ± 6,5

VEF₁ = Volume expiratório forçado no primeiro segundo
 CVF = Capacidade vital forçada

As indicações para a realização do teste (tabela 3) foram: monitoração da inflamação na asma (54,3%), investigação de tosse crônica (30,5%), bronquiectasias (7,3%), monitoração da

inflamação na DPOC (6,0%), bronquite eosinofílica não-asmática (1,3%) e pneumonia de resolução lenta (0,7%). O item “monitoração da inflamação na asma” incluiu na sua grande maioria, casos de asma moderada a grave clinicamente controlada, onde o objetivo do teste foi a titulação da dose ideal do corticosteróide inalatório. Alguns casos de exacerbações de asma, investigação de sintomas em pacientes asmáticos em tratamento, e decisões sobre início ou interrupção de tratamento em pacientes com asma foram incluídos neste item. O item “monitoração da inflamação na DPOC” incluiu casos de exacerbação da DPOC, assim como casos de doença estável para a decisão sobre a utilização de corticosteróide inalatório. O exame também foi realizado em dois pacientes com diagnóstico prévio de bronquite eosinofílica não-asmática para averiguar o controle da inflamação com o tratamento.

Tabela 3: Indicações para a realização da indução de escarro

INDICAÇÃO	número	%
Monitoração da inflamação na asma	82	54,3
Investigação de tosse crônica	46	30,5
Bronquiectasias	11	7,3
Monitoração da inflamação na DPOC	9	6,0
Bronquite eosinofílica não-asmática	2	1,3
Pneumonia de resolução lenta	1	0,7

DPOC = Doença pulmonar obstrutiva crônica

As características celulares do escarro induzido em cada grupo de pacientes estão descritas na tabela 4. Observaram-se diferenças significativas ($p < 0,05$) na contagem total de células, no percentual de neutrófilos e no percentual de eosinófilos entre os grupos de indicação clínica. A contagem total de células foi menor nos pacientes com tosse crônica do que em todos os outros grupos, o percentual de neutrófilos foi maior nos pacientes com bronquiectasias do que em todos os outros grupos, e o percentual de eosinófilos foi maior nos pacientes com asma do que em todos os outros grupos. As diferenças no percentual de macrófagos são significativas, porém refletem as diferenças nos eosinófilos e neutrófilos. Não se observou diferença significativa no percentual de linfócitos.

Tabela 4: Características do escarro induzido conforme a condição clínica, com resultados expressos como média e amplitude do interquartil.

	Asma	Tosse crônica	Bronquiectasias	DPOC
CTC x 10 ⁶ /mg	9,6 (7,0)	5,3 (4,5)*	9,8 (9,3)	8,8 (6,8)
Neutrófilos %	32,1 (25,5)	27,5 (23,2)	58,6 (24,0)*	36,8 (22,5)
Eosinófilos % [#]	3,0 (10,8)*	0,7 (3,2)	1,0 (2,0)	0,5 (3,7)
Macrófagos %	51,0 (34,2)	59,0 (28,5)	35,1 (20,0)*	54,1 (20,0)
Linfócitos %	3,5 (4,0)	3,3 (2,1)	2,8 (4,0)	4,0 (4,2)

CTC = contagem total de células.

[#] Resultados expressos como mediana e amplitude do interquartil

* Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação a todos os outros grupos

A análise da celularidade do escarro induzido demonstrou bronquite eosinofílica associada à asma em 50 (33,1%) exames, bronquite eosinofílica não associada à asma (broncoprovação pela metacolina dentro dos limites da normalidade) em 14 (9,3%) exames, bronquite neutrofílica em 6 (4%) exames, bronquite neutrofílica associada a provável infecção em 6 (4%), bronquite eosinofílica associada à bronquite neutrofílica em 1 (0,7%) exame e celularidade normal em 74 (49%) exames. Os resultados são mostrados na tabela 5, separados por indicação da realização do teste.

Tabela 5: Resultados da celularidade do escarro induzido conforme a indicação.

Indicação	Resultados	n^o	%
Monitoração da inflamação na asma (n = 82)	BE	47	57,3
	BN	2	2,4
	BN com infecção	2	2,4
	BE mais BN	1	1,2
	Celularidade normal	30	36,6
Investigação de tosse crônica (n = 46)	BE com asma	3	6,5
	BE sem asma	9	19,6
	BN com infecção	2	4,3
	Celularidade normal	32	69,6
Bronquiectasias (n = 11)	BE sem asma	1	9,1
	BN	2	18,2
	BN com infecção	2	18,2
	Celularidade normal	6	54,5
Monitoração da inflamação na DPOC (n = 9)	BE sem asma	2	22,2
	BN	2	22,2
	Celularidade normal	5	55,6
Bronquite eosinofílica (n = 2)	BE sem asma	2	100,0
Pneumonia de resolução lenta	Celularidade normal	1	100,0

BE = bronquite eosinofílica; BN = bronquite neutrofílica

Em relação à conduta frente aos resultados da celularidade do escarro induzido, o curso do tratamento foi alterado em 82 (55%) dos 151 casos. Dos 82 casos em que o procedimento foi realizado para monitoração da inflamação na asma, 55 (67%) tiveram seu tratamento modificado com base nos resultados obtidos. Dentre estes, 37 (45,1%) tiveram sua dose de corticosteróide inalatório aumentada, 8 (9,8%) foram tratados com corticosteróide

oral, 4 (4,9%) foram tratados com antibióticos, 3 (3,7%) tiveram sua dose de corticosteróide inalatório reduzida e em 3 (3,7%) casos foram adotadas medidas para melhorar a adesão ao tratamento. Os 27 casos restantes (33%) não tiveram seu tratamento alterado.

Dos 46 casos em que o teste foi realizado para investigar tosse crônica, 12 (26,1%) receberam tratamento com corticosteróide inalatório ou oral, 2 (4,3%) receberam antibióticos, 2 (4,3%) tiveram seu corticosteróide inalatório suspenso, e 30 (65,2%) foram encaminhados para a realização de outros exames complementares.

Dos 11 casos em que o teste foi realizado em pacientes com bronquiectasias, 3 (27,3%) receberam antibióticos, 1 recebeu corticosteróide inalatório e 6 (54,5%) não tiveram seu tratamento alterado.

Dos 9 casos em que se realizou o teste para monitoração da inflamação na DPOC, 2 (22,2%) pacientes receberam tratamento com corticosteróide inalatório, 1 teve a dose do corticosteróide inalatório reduzida, 1 teve o tratamento com corticosteróide inalatório suspenso e 1 recebeu antibiótico. Em quatro ocasiões (44,4%), o tratamento inicial da DPOC não foi alterado.

Nos dois pacientes que realizaram o teste para controle de bronquite eosinofílica o tratamento foi alterado. O paciente que realizou o teste por pneumonia de resolução lenta não teve alteração no seu tratamento. As condutas terapêuticas frente ao resultado do teste são sumarizadas na tabela 6.

Tabela 6: Conduta terapêutica frente aos resultados do escarro induzido.

Indicação	Conduta	n	%
Monitoração da inflamação na asma (n = 82)	Aumento na dose do CI	37	45,1
	Corticosteróide oral	8	9,8
	Antibiótico	4	4,9
	Redução na dose do CI	3	3,7
	Medidas para melhorar adesão	3	3,7
	Tratamento inalterado	27	33,0
Investigação de tosse crônica (n = 46)	Corticosteróide inalatório ou oral	12	26,1
	Antibióticos	2	4,3
	Suspensão do CI	2	4,3
	Encaminhado a outros exames	30	65,2
Bronquiectasias (n = 11)	Antibióticos	3	27,3
	Introdução de CI	1	9,1
	Tratamento inalterado	7	63,6
Monitoração da inflamação na DPOC (n = 9)	Introdução de CI	2	22,2
	Redução na dose do CI	1	11,1
	Suspensão do CI	1	11,1
	Antibióticos	1	11,1
	Tratamento inalterado	4	44,0
Bronquite eosinofílica (n = 2)	Introdução de CI	1	50,0
	Aumento na dose do CI	1	50,0
Pneumonia de resolução lenta	Tratamento inalterado	1	100,0

n = número de paciente

CI = corticosteróide inalatório

DISCUSSÃO

A caracterização do componente inflamatório de doenças comuns das vias aéreas, neste grupo de pacientes, determinou uma modificação no curso do tratamento na maioria das ocasiões (55%). Esta alteração no tratamento ocorreu principalmente em duas situações; em pacientes com asma, onde a maioria teve seu tratamento modificado após a determinação do processo inflamatório das vias aéreas e, nos pacientes com tosse crônica, onde o diagnóstico da bronquite eosinofílica não-asmática foi responsável pela introdução de tratamento específico com um corticosteróide inalatório.

A principal indicação para a realização do procedimento neste estudo foi a monitoração da inflamação na asma. Isto provavelmente ocorreu pelo fato de que esta é a área em que a aplicabilidade clínica do exame do escarro é mais estudada, além de apresentar o maior número de evidências suportando a utilização do método.²⁰ O principal objetivo da caracterização do processo inflamatório nesta condição foi a titulação da dose ideal do corticosteróide inalatório em pacientes com asma moderada a grave. Estes pacientes vinham sendo tratados conforme os consensos prévios da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, e da *American Thoracic Society*. Apesar disso, a maioria apresentou bronquite eosinofílica no escarro induzido, caracterizando controle inadequado do componente inflamatório da doença. Dos 73 pacientes com asma que realizaram o procedimento, 55 (67%) tiveram seu tratamento modificado. A maioria destes (67%) teve sua dose de corticosteróide inalatório aumentada.

Estes resultados obtidos em nossa prática clínica dão suporte e confirmam que a avaliação clínica, dos sintomas e das provas de função pulmonar, não é suficiente para determinar a presença de inflamação nas vias aéreas dos pacientes com asma moderada a grave. Esta premissa foi verificada em dois ensaios clínicos que compararam as estratégias de manuseio da asma baseadas nas diretrizes canadenses e britânicas com uma estratégia de tratamento guiada pela celularidade do escarro induzido (eosinofilia). Os dois estudos demonstraram que estas estratégias determinam um adequado controle da asma além de influenciar em dois importantes desfechos do controle da asma; a ocorrência de exacerbações e a determinação do tratamento mínimo para se obter o controle da asma ou prevenir as suas exacerbações.^{60, 61}

A persistência de tosse por mais de oito semanas, caracterizando a tosse como crônica, é uma condição muito comum na prática clínica da medicina respiratória. Os pacientes com tosse crônica que apresentam exames de imagem normais, testes de função pulmonar normais e responsividade normal das vias aéreas, cuja determinação do componente inflamatório mostra uma proporção aumentada de eosinófilos no escarro (>3%), são diagnosticados como portadores de bronquite eosinofílica não-asmática. Nesta situação, o uso de corticosteróide inalatórios isoladamente determina normalização da eosinofilia do escarro, que é acompanhada pela melhora ou desaparecimento da tosse crônica. Em nosso estudo, 19% dos pacientes que realizaram a indução de escarro para investigação de tosse crônica foram diagnosticados com esta condição. Estes achados são similares àqueles descritos na literatura, onde a bronquite eosinofílica não-asmática é a causa de 10 a 30% dos casos de tosse crônica referidos aos pneumologistas para investigação.⁸²⁻⁸⁴ É possível que na prática clínica diária, a presença de uma espirometria normal e de responsividade das vias aéreas normal faça com que muitos pneumologistas optem por abandonar a investigação da inflamação nas vias aéreas inferiores e passem a perseguir causas alternativas para a tosse, como a doença do refluxo gastroesofágico ou a rinosinusite. Com isto, pode ocorrer um retardo no diagnóstico e a realização de exames desnecessários. O reconhecimento de que a tosse crônica pode ser causada por bronquite eosinofílica e que o diagnóstico só pode ser realizado através da análise da celularidade do material obtido através da indução do escarro ou da broncoscopia encontra-se hoje bem estabelecido. Por este motivo, as diretrizes atuais sobre o manuseio da tosse crônica incluíram a indução de escarro nas recomendações para investigação da causa da tosse.^{71, 72}

Das 151 induções de escarro realizadas durante o estudo, apenas nove tiveram como indicação a monitoração da inflamação na DPOC. Dois destes pacientes apresentaram bronquite eosinofílica e tiveram um corticosteróide inalatório adicionado ao seu tratamento de manutenção. Dois outros pacientes tiveram o tratamento com corticosteróide inalatório reduzido ou suspenso com base nos resultados do teste. Esta utilização limitada do método na DPOC possivelmente reflete a escassez de estudos utilizando a indução do escarro nesta condição. Embora tradicionalmente se considere que a DPOC é caracterizada por uma resposta inflamatória neutrofílica, a inflamação eosinofílica parece ter papel importante⁷⁴ em pacientes com doença estável, ou durante as exacerbações. Existem evidências de que aproximadamente 30% dos pacientes com DPOC apresentam eosinofilia no escarro. Neste

grupo, a caracterização do componente inflamatório das vias aéreas pode prever a resposta ao tratamento com corticosteróides sistêmicos ou inalatórios, que controla a bronquite eosinofílica e se acompanha de redução da dispnéia, melhora no VEF1 e da qualidade de vida destes pacientes.^{74, 85} Mais recentemente, Siva *et al.* demonstraram que a utilização do escarro induzido para orientar o tratamento da inflamação eosinofílica nos pacientes com DPOC, à semelhança do que acontece nos pacientes com asma, é capaz de reduzir a frequência de exacerbações graves e internações hospitalares em comparação ao tratamento tradicional baseado nas diretrizes atuais da *British Thoracic Society*.⁷⁷

Observou-se a presença de inflamação eosinofílica na maioria dos pacientes com asma. Entretanto, cinco (6%) destes pacientes apresentaram bronquite neutrofílica. Dentre os 9 pacientes com DPOC, onde tradicionalmente se espera encontrar inflamação neutrofílica, dois (22%) apresentaram bronquite eosinofílica. Da mesma forma, em um dos pacientes com bronquiectasias se observou inflamação eosinofílica. Isto reforça a idéia de que os diferentes padrões inflamatórios presentes nas vias aéreas não são exclusivos de nenhuma doença respiratória e que uma mesma doença pode apresentar mais de um tipo de inflamação ao longo do tempo. No presente estudo, a determinação do componente inflamatório das doenças comuns das vias aéreas provocou alterações no curso do tratamento na maioria dos casos.

A indução de escarro para análise da celularidade total e diferencial proporciona uma medida não-invasiva e direta da inflamação nas vias aéreas, componente central de doenças respiratórias muito prevalentes. Sua utilização no campo da pesquisa tem crescido muito nos últimos anos, porém sua aplicação na prática clínica encontra-se ainda limitada a alguns poucos centros no mundo. Este é o primeiro estudo brasileiro sobre a experiência da utilização do método em um serviço de atendimento terciário de medicina respiratória.

O exame do escarro apresenta diversas vantagens sobre os métodos mais invasivos de obtenção de material das vias aéreas inferiores como, por exemplo, a broncoscopia. Segurança e praticidade são as mais óbvias. Além disso, por ser relativamente não invasivo a indução de escarro pode ser realizada de forma aleatória⁸⁶, e repetidamente em indivíduos com doenças de diferente gravidade.²⁴ A taxa de sucesso de 96% no processo de indução verificada em nosso estudo confirma e expande a exequibilidade do teste reportada na literatura.²⁵ Apesar de não ter sido o objetivo deste estudo avaliar a segurança e os efeitos colaterais do método, não foram relatados eventos adversos significativos durante os exames, mesmo em pacientes com limitação importante ao fluxo de ar das vias aéreas. Contudo, o exame de escarro induzido

necessita profissionais treinados para a indução, e um laboratório de referência direcionado para o processamento e contagem diferencial do escarro. Este processo é laborioso e intensivo, tornando o método ainda pouco aplicável ao nível de atenção primária à população. Entretanto, para um serviço de referência terciário, a disponibilidade deste método parece ser bastante importante, embora haja necessidade de estudos adequados sobre a relação custo-benefício de sua utilização.

Uma das limitações deste estudo foi a ausência de uma caracterização mais detalhada dos pacientes com asma que realizaram o exame. É provável que uma análise de subgrupos dos diferentes cenários em que se apresentam os pacientes com asma, possa trazer informações bastante relevantes sobre a utilidade do método. Nossa amostra de pacientes com DPOC foi pequena, o que limitou bastante a análise dos resultados. Talvez uma amostra maior pudesse confirmar os benefícios descritos na literatura em relação à utilização do escarro induzido nesta condição. Outra limitação do estudo é o fato de que os pneumologistas que encaminharam a maior parte dos pacientes já estavam habituados a utilizar o escarro induzido como ferramenta na prática clínica. É possível que a amostra de pacientes fosse diferente se os mesmos fossem encaminhados por pneumologistas que nunca tivessem utilizado o método clinicamente.

Nosso estudo objetivou retratar a maneira como vem sendo utilizado o exame do escarro induzido na prática clínica diária em nosso meio, fora do ambiente de pesquisa. Não tivemos a intenção de mensurar o impacto de sua utilização nas doenças respiratórias nem tampouco de avaliar a relação custo-benefício de sua utilização. Os resultados dos exames e as conseqüentes modificações terapêuticas relatadas pelos médicos assistentes sugerem que a caracterização do componente inflamatório das doenças respiratórias estudadas (inflamometria) é de fundamental importância para se modificar a abordagem e o tratamento destas. É nosso desejo que este estudo estimule a ampliação das publicações brasileiras sobre o assunto, bem como o aperfeiçoamento do método para sua utilização mais ampla em nosso meio.

CONCLUSÕES

1. A determinação do componente inflamatório freqüentemente modifica o curso do tratamento nas doenças das vias aéreas.
2. O exame do escarro foi utilizado principalmente para a titulação da dose do corticosteróide inalatório na asma e na investigação de tosse crônica.
3. Em pacientes com asma, a principal modificação introduzida foi o aumento da dose do corticosteróide inalatório.
4. Em pacientes com tosse crônica, o exame do escarro diagnosticou bronquite eosinofílica não-asmática em 19% dos casos.
5. As doenças das vias aéreas se caracterizam por um componente inflamatório heterogêneo.

REFERÊNCIAS

1. Gibson PG, Dolovich J, Girgis-Gabardo A, Morris MM, Anderson M, Hargreave FE, et al. The inflammatory response in asthma exacerbation: changes in circulating eosinophils, basophils and their progenitors. *Clin Exp Allergy* 1990;20(6):661-8.
2. Proceedings of a Workshop. Airway inflammation and remodeling in asthma: implications for asthma therapy. *Can Respir J* 1996;5:15-70.
3. Bousquet J, Clark TJ, Hurd S, Khaltayev N, Lenfant C, O'Byrne P, et al. GINA guidelines on asthma and beyond. *Allergy* 2007;62(2):102-12.
4. Hargreave FE, Parameswaran K. Asthma, COPD and bronchitis are just components of airway disease. *Eur Respir J* 2006;28(2):264-7.
5. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989;139(3):806-17.
6. Maestrelli P, Saetta M, Di Stefano A, Calcagni PG, Turato G, Ruggieri MP, et al. Comparison of leukocyte counts in sputum, bronchial biopsies, and bronchoalveolar lavage. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152(6 Pt 1):1926-31.
7. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154(2 Pt 1):308-17.
8. Hargreave FE. Induced sputum for the investigation of airway inflammation: evidence for its clinical application. *Can Respir J* 1999;6(2):169-74.
9. Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. The European Respiratory Society Task Force. *Eur Respir J*

- 1997;10(7):1683-93.
10. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994;343(8890):133-5.
 11. Gibson PG, Henry RL, Thomas P. Noninvasive assessment of airway inflammation in children: induced sputum, exhaled nitric oxide, and breath condensate. *Eur Respir J* 2000;16(5):1008-15.
 12. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(7):1693-722.
 13. Mutlu GM, Garey KW, Robbins RA, Danziger LH, Rubinstein I. Collection and analysis of exhaled breath condensate in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164(5):731-7.
 14. Bickerman HA, Sproul EE, Barach AL. An aerosol method of producing bronchial secretions in human subjects: a clinical technic for the detection of lung cancer. *Dis Chest* 1958;33(4):347-62.
 15. Yue WY, Cohen SS. Sputum induction by newer inhalation methods in patients with pulmonary tuberculosis. *Dis Chest* 1967;51(6):614-20.
 16. Leigh TR, Parsons P, Hume C, Husain OA, Gazzard B, Collins JV. Sputum induction for diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Lancet* 1989;2(8656):205-6.
 17. Fortun J, Navas E, Marti-Belda P, Montilla P, Hermida JM, Perez-Elias MJ, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV-infected patients: diagnostic yield of induced sputum and immunofluorescent stain with monoclonal antibodies. *Eur Respir J* 1992;5(6):665-9.
 18. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girgis-Gabardo A, Denburg JA, Hargreave FE, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax*

- 1992;47(1):25-9.
19. Fahy JV, Liu J, Wong H, Boushey HA. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *Am Rev Respir Dis* 1993;147(5):1126-31.
 20. Pavord ID, Sterk PJ, Hargreave FE, Kips JC, Inman MD, Louis R, et al. Clinical applications of assessment of airway inflammation using induced sputum. *Eur Respir J* 2002;37(Suppl):S40-3.
 21. Hargreave FE, Pizzichini MMM, Pizzichini E. Assessment of Airway Inflammation. In: Barnes PJ, Grunstein MM, Leff AR, Woolcock AJ, editors. *Asthma*. 1 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. p. 1433-50.
 22. Kim CK, Hagan JB. Sputum tests in the diagnosis and monitoring of asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004;93(2):112-22; quiz 122-4, 184.
 23. Birring SS, Parker D, McKenna S, Hargadon B, Brightling CE, Pavord ID, et al. Sputum eosinophilia in idiopathic pulmonary fibrosis. *Inflamm Res* 2005;54(2):51-6.
 24. Wong HH, Fahy JV. Safety of one method of sputum induction in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(1):299-303.
 25. Vlachos-Mayer H, Leigh R, Sharon RF, Hussack P, Hargreave FE. Success and safety of sputum induction in the clinical setting. *Eur Respir J* 2000;16(5):997-1000.
 26. Pizzichini MM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Mahony J, Dolovich J, et al. Sputum in severe exacerbations of asthma: kinetics of inflammatory indices after prednisone treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155(5):1501-8.
 27. Pizzichini MM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Pavord I, Dolovich J, et al. Prednisone-dependent asthma: inflammatory indices in induced sputum. *Eur Respir J*

- 1999;13(1):15-21.
28. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Leigh R, Djukanovic R, Sterk PJ. Safety of sputum induction. *Eur Respir J* 2002;37(Suppl):S9-18.
 29. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Ind PW, Djukanovic R, Maestrelli P, et al. Sputum induction. *Eur Respir J* 2002;37(Suppl):S3-8.
 30. Popov T, Gottschalk R, Kolendowicz R, Dolovich J, Powers P, Hargreave FE. The evaluation of a cell dispersion method of sputum examination. *Clin Exp Allergy* 1994;24(8):778-83.
 31. Rutgers SR, Timens W, Kaufmann HF, van der Mark TW, Koeter GH, Postma DS. Comparison of induced sputum with bronchial wash, bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies in COPD. *Eur Respir J* 2000;15(1):109-15.
 32. 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(2 Pt 1):475-8.
 33. Spanevello A, Confalonieri M, Sulotto F, Romano F, Balzano G, Migliori GB, et al. Induced sputum cellularity. Reference values and distribution in normal volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(3 Pt 1):1172-4.
 34. Thomas RA, Green RH, Brightling CE, Birring SS, Parker D, Wardlaw AJ, et al. The influence of age on induced sputum differential cell counts in normal subjects. *Chest* 2004;126(6):1811-4.
 35. Nobutomo K. Air pollution and cytological changes in sputum. *Lancet* 1978;1(8063):523-6.
 36. Lee SVS, Pizzichini MMM, Marques LJ, Ferreira SC, Pizzichini E. Inflamação das vias aéreas em asmáticos virgens de tratamento com esteróides: características do escarro

- induzido. *J Pneumol* 2003;29(4):188-95.
37. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Hargreave FE, Dolovich J. Measurement of inflammatory indices in induced sputum: effects of selection of sputum to minimize salivary contamination. *Eur Respir J* 1996;9(6):1174-80.
 38. Prince P, Bertrand M, Boulay ME, Bernier MC, Boulet LP. Optimization of the conditions for preservation of induced sputum: influence of freezing on cellular analysis. *Chest* 2005;128(2):980-5.
 39. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;181(2):852-7.
 40. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993;6(9):1368-70.
 41. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171(8):912-30.
 42. Kharitonov SA, Yates D, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. *Eur Respir J* 1995;8(2):295-7.
 43. Soderman C, Leone A, Furst V, Persson MG. Endogenous nitric oxide in exhaled air from patients with liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 1997;32(6):591-7.
 44. Kharitonov SA, Barnes PJ. Clinical aspects of exhaled nitric oxide. *Eur Respir J* 2000;16(4):781-92.
 45. Berlyne GS, Parameswaran K, Kamada D, Efthimiadis A, Hargreave FE. A comparison of exhaled nitric oxide and induced sputum as markers of airway inflammation. *J Allergy*

- Clin Immunol 2000;106(4):638-44.
46. Lim S, Jatakanon A, Meah S, Oates T, Chung KF, Barnes PJ. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in mild to moderately severe asthma. *Thorax* 2000;55(3):184-8.
 47. Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax* 2006;61(9):817-27.
 48. Deykin A, Lazarus SC, Fahy JV, Wechsler ME, Boushey HA, Chinchilli VM, et al. Sputum eosinophil counts predict asthma control after discontinuation of inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(4):720-7.
 49. Antczak A, Nowak D, Shariati B, Krol M, Piasecka G, Kurmanowska Z. Increased hydrogen peroxide and thiobarbituric acid-reactive products in expired breath condensate of asthmatic patients. *Eur Respir J* 1997;10(6):1235-41.
 50. Baraldi E, Azzolin NM, Cracco A, Zacchello F. Reference values of exhaled nitric oxide for healthy children 6-15 years old. *Pediatr Pulmonol* 1999;27(1):54-8.
 51. Daya H, Qian W, McClean P, Haight J, Zamel N, Papsin BC, et al. Nasal nitric oxide in children: a novel measurement technique and normal values. *Laryngoscope* 2002;112(10):1831-5.
 52. Jobsis Q, Raatgeep HC, Schellekens SL, Hop WC, Hermans PW, de Jongste JC. Hydrogen peroxide in exhaled air of healthy children: reference values. *Eur Respir J* 1998;12(2):483-5.
 53. Jobsis Q, Raatgeep HC, Hermans PW, de Jongste JC. Hydrogen peroxide in exhaled air is increased in stable asthmatic children. *Eur Respir J* 1997;10(3):519-21.
 54. Jackson AS, Sandrini A, Campbell C, Chow S, Thomas PS, Yates DH. Comparison of

- biomarkers in exhaled breath condensate and bronchoalveolar lavage. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175(3):222-7.
55. Weiss KB, Sullivan SD. The health economics of asthma and rhinitis. I. Assessing the economic impact. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(1):3-8.
56. Busse WW, Rosenwasser LJ. Mechanisms of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111(3 Suppl):S799-804.
57. ten Brinke A, Zwinderman AH, Sterk PJ, Rabe KF, Bel EH. Factors associated with persistent airflow limitation in severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164(5):744-8.
58. Louis R, Lau LC, Bron AO, Roldaan AC, Radermecker M, Djukanovic R. The relationship between airways inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(1):9-16.
59. Jatakanon A, Lim S, Barnes PJ. Changes in sputum eosinophils predict loss of asthma control. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(1):64-72.
60. Green RH, Brightling CE, McKenna S, Hargadon B, Parker D, Bradding P, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360(9347):1715-21.
61. Jayaram L, Pizzichini MM, Cook RJ, Boulet LP, Lemiere C, Pizzichini E, et al. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: effect on exacerbations. *Eur Respir J* 2006;27(3):483-94.
62. Becker A, Lemiere C, Berube D, Boulet LP, Ducharme FM, FitzGerald M, et al. Summary of recommendations from the Canadian Asthma Consensus guidelines, 2003. *Cmaj* 2005;173(6 Suppl):S3-11.

63. Jatakanon A, Kharitonov S, Lim S, Barnes PJ. Effect of differing doses of inhaled budesonide on markers of airway inflammation in patients with mild asthma. *Thorax* 1999;54(2):108-14.
64. Simpson JL, Scott R, Boyle MJ, Gibson PG. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. *Respirology* 2006;11(1):54-61.
65. Pavord ID, Brightling CE, Woltmann G, Wardlaw AJ. Non-eosinophilic corticosteroid unresponsive asthma. *Lancet* 1999;353(9171):2213-4.
66. Hargreave FE, Leigh R. Induced sputum, eosinophilic bronchitis, and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160(5 Pt 2):S53-7.
67. O'Byrne PM, Parameswaran K. Pharmacological management of mild or moderate persistent asthma. *Lancet* 2006;368(9537):794-803.
68. Girard F, Chaboillez S, Cartier A, Cote J, Hargreave FE, Labrecque M, et al. An effective strategy for diagnosing occupational asthma: use of induced sputum. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170(8):845-50.
69. Lemiere C, Pizzichini MM, Balkissoon R, Clelland L, Efthimiadis A, O'Shaughnessy D, et al. Diagnosing occupational asthma: use of induced sputum. *Eur Respir J* 1999;13(3):482-8.
70. Jatakanon A, Laloo UG, Lim S, Chung KF, Barnes PJ. Increased neutrophils and cytokines, TNF-alpha and IL-8, in induced sputum of non-asthmatic patients with chronic dry cough. *Thorax* 1999;54(3):234-7.
71. Irwin RS, Baumann MH, Bolser DC, Boulet LP, Braman SS, Brightling CE, et al. Diagnosis and management of cough executive summary: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006;129(1 Suppl):1S-23S.
72. II Diretrizes brasileiras no manejo da tosse crônica. *J Bras Pneumol* 2006;32(S6):S404-

S446.

73. Stanescu D, Sanna A, Veriter C, Kostianev S, Calcagni PG, Fabbri LM, et al. Airways obstruction, chronic expectoration, and rapid decline of FEV1 in smokers are associated with increased levels of sputum neutrophils. *Thorax* 1996;51(3):267-71.
74. Brightling CE, Monteiro W, Ward R, Parker D, Morgan MD, Wardlaw AJ, et al. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 2000;356(9240):1480-5.
75. Pizzichini E, Pizzichini MM, Gibson P, Parameswaran K, Gleich GJ, Berman L, et al. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158(5 Pt 1):1511-7.
76. Brightling CE, McKenna S, Hargadon B, Birring S, Green R, Siva R, et al. Sputum eosinophilia and the short term response to inhaled mometasone in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2005;60(3):193-8.
77. Siva R, Green RH, Brightling CE, Shelley M, Hargadon B, McKenna S, et al. Eosinophilic airway inflammation and exacerbations of COPD: a randomised controlled trial. *Eur Respir J* 2007.
78. Salerno FG, Carpagnano E, Guido P, Bonsignore MR, Roberti A, Aliani M, et al. Airway inflammation in patients affected by obstructive sleep apnea syndrome. *Respir Med* 2004;98(1):25-8.
79. Rubinstein I. Nasal inflammation in patients with obstructive sleep apnea. *Laryngoscope* 1995;105(2):175-7.
80. Pereira C. Diretrizes para testes de função pulmonar 2002 - Espirometria. *J Pneumol* 2002;28(Suppl):S1-82.

81. Crapo RO, Morris AH, Gardner RM. Reference spirometric values using techniques and equipment that meet ATS recommendations. *Am Rev Respir Dis* 1981;123(6):659-64.
82. Brightling CE. Chronic cough due to nonasthmatic eosinophilic bronchitis: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2006;129(1 Suppl):116S-121S.
83. Carney IK, Gibson PG, Murree-Allen K, Saltos N, Olson LG, Hensley MJ. A systematic evaluation of mechanisms in chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(1):211-6.
84. Ayik SO, Basoglu OK, Erdinc M, Bor S, Veral A, Bilgen C. Eosinophilic bronchitis as a cause of chronic cough. *Respir Med* 2003;97(6):695-701.
85. Leigh R, Pizzichini MM, Morris MM, Maltais F, Hargreave FE, Pizzichini E. Stable COPD: predicting benefit from high-dose inhaled corticosteroid treatment. *Eur Respir J* 2006;27(5):964-71.
86. Gibson PG, Wlodarczyk JW, Hensley MJ, Gleeson M, Henry RL, Cripps AW, et al. Epidemiological association of airway inflammation with asthma symptoms and airway hyperresponsiveness in childhood. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158(1):36-41.

NORMAS ADOTADAS

Relatório:

Normas para elaboração de Dissertação do Curso de Mestrado em Ciências Médicas. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Mestrado em Ciências Médicas. Florianópolis – SC, 2001.

Referências:

Normas do Comitê internacional de Editores de Revistas Médicas (Vancouver)
International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Inter Med* 1997, 126:36-47.

ANEXO

QUESTIONÁRIO CLÍNICO

Paciente _____

Médico solicitante _____ Prontuário _____

QUESTÃO 1: QUAL FOI A INDICAÇÃO DA INDUÇÃO DO ESCARRO?

- Monitoração da inflamação na ASMA
- Investigação de TOSSE CRÔNICA
- Monitoração da inflamação na DPOC
- Monitoração da inflamação em BRONQUIECTASIAS
- Monitoração da inflamação na BRONQUITE EOSINOFÍLICA
- Outras: _____

QUESTÃO 2: QUAL FOI O DIAGNÓSTICO?

- BRONQUITE EOSINOFÍLICA com asma
- BRONQUITE EOSINOFÍLICA sem asma
- BRONQUITE NEUTROFÍLICA
- BRONQUITE NEUTROFÍLICA com provável infecção
- BRONQUITE EOSINOFÍLICA associada a BRONQUITE NEUTROFÍLICA
- Celularidade NORMAL

QUESTÃO 3: QUAL FOI A CONDUTA PERANTE O RESULTADO?

- Introdução do corticosteróide inalatório
- Aumento da dose do corticosteróide inalatório
- Manutenção da dose do corticosteróide inalatório
- Redução da dose do corticosteróide inalatório
- Interrupção do corticosteróide inalatório
- Introdução do corticosteróide oral
- Interrupção do corticosteróide oral
- Antibioticoterapia
- Ações para melhorar a adesão ao tratamento
- Realização de outros exames complementares para elucidar o diagnóstico
- Outros: _____