

---

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE MEDICINA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA  
MESTRADO EM PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

**RELAÇÃO ENTRE HIPER-REATIVIDADE BRÔNQUICA E  
SIBILÂNCIA EM ESCOLARES DE URUGUAIANA, RIO  
GRANDE DO SUL**

Emerson Rodrigues da Silva  
dr.emerson@terra.com.br

Dissertação de Mestrado apresentada à  
Faculdade de Medicina da PUCRS para  
obtenção do título de Mestre em Medicina,  
concentração em Pediatria.

Orientador: Prof. Dr. Renato Tetelbom Stein

Porto Alegre, janeiro 2006

---

S586r **Silva, Emerson Rodrigues da**

Relação entre hiper-reatividade brônquica e sibilância em escolares de Uruguaiana, Rio Grande do Sul / Emerson Rodrigues da Silva; orient. Renato Tetelbom Stein. Porto Alegre: PUCRS, 2006.  
090f.: il. tab.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós- Graduação em Pediatria e Saúde da Criança. Área de concentração: Pediatria..

1. HIPER-REATIVIDADE BRÔNQUICA. 2. ASMA/fisiopatologia. 3. SONS RESPIRATÓRIOS. 4. CRIANÇA. 5. DOENÇAS PARASITÁRIAS. 6. HELMINTOS. 7. SOLUÇÕES HIPERTÔNICAS. 8. TESTES DE PROVOCAÇÃO BRÔNQUICA. 9. ESTUDOS DE CASOS E CONTROLES. I. Stein, Renato Tetelbom. II. Título.

C.D.D. 618.9223  
C.D.U. 616.248-053.2(816.5)(043.3)  
NLM WF 150

*Dedicatória*

*Para Cláudia.  
Por tudo.*

---

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Tetelbom Stein pelo espírito formador, pela orientação e pela confiança ao me delegar um projeto tão estimado.

À Dra. Marilyn Urrutia de Pereira, exemplo de coragem e energia ao levar a ciência a uma comunidade distante de forma quixotesca, por sua generosidade e inestimável ajuda.

À Dra. Anna Claudia Drews, por sua disposição e rigor, preciosos para a coleta destes dados.

Às bolsistas de iniciação científica Daniele Escouto e Renata Spier Monteiro pela incansável ajuda e desprendimento no trabalho de campo.

Ao Prof. Dr. Paulo Márcio Condessa Pitrez pela motivação, exemplo e brilho.

Ao Prof. Dr. Marcus Herbert Jones pelo apoio e soluções precisas.

Ao Dr. Jaime Vaz Brasil, à Sra. Dilva Dallegrave e Sr. Antônio Bampi pelo suporte discreto mas fundamental.

Ao Dr. Jose Luiz Saldanha da Silveira e à Santa Casa de Caridade de Uruguaiana pela viabilização do local.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela disponibilização de bolsa de pesquisa.

Às crianças que se submeteram aos testes.

À Uruguaiana, berço de minhas origens e fonte do meu estudo.

---

---

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>x</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xii</b>

### PARTE I

#### REFERENCIAL TEÓRICO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>3</b>
1.1Epidemiologia da Asma .....	6
1.2 Fenótipos da Asma.....	10
1.3 Fatores de Risco para Asma .....	12
1.4 Hiper-Reatividade Brônquica e Asma.....	13
1.5 Métodos de Broncoprovocação Diretos Versus Indiretos.....	17
1.6 Relação entre Asma, Atopia e Parasitoses .....	19
<b>2 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>25</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>28</b>
3.1 Objetivo Geral.....	29
3.2 Objetivo Específico.....	29

---

---

<b>4 MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
4.1 Seleção da Amostra .....	31
4.2 Tamanho da Amostra .....	32
4.3 Critérios de Inclusão.....	33
4.4 Critérios de Exclusão.....	33
4.5 Análise Estatística .....	34
4.6 Definição das Variáveis.....	34
4.6.1 Variável Principal .....	34
4.6.2 Variáveis Secundárias.....	35
4.7 Questionários .....	36
4.8 Testes Cutâneos .....	37
4.9 Exames Parasitológicos .....	38
4.10 Protocolo de Broncoprovocação com Solução Salina Hipertônica ...	39
<b>5 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>45</b>

---

**PARTE II (ARTIGO)**

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>57</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>60</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>67</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>74</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>82</b>

**CONCLUSÕES**

<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>86</b>
------------------------	-----------

**ANEXOS**

<b>ANEXOS.....</b>	<b>88</b>
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	89
Adendo ao Termo de Consentimento Livre e Informado.....	90

---

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Curvas de tempo e resposta nas crianças sem história de sibilância nos últimos doze meses.....	71
Figura 2- Curvas de tempo e resposta nas crianças com história de sibilância nos últimos doze meses.....	72

---

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1- Características da população estudada, estratificada por grupos de sibilantes e não-sibilantes .....	68
Tabela 2- Características das crianças com resposta positiva à broncoprovocação com solução salina hipertônica ( $\geq$ 15% de queda do VEF1).....	73

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>EPF</b>	exame parasitológico de fezes
<b>HRB</b>	hiper-reatividade brônquica
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	interferon-gama
<b>IgE</b>	imunoglobulina E
<b>IL</b>	interleucina
<b>ISAAC</b>	International Study of Asthma and Allergy in Childhood
<b>PIB</b>	Produto Interno Bruto
<b>PUCRS</b>	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
<b>Th1</b>	Resposta linfocitária do tipo 1 mediada por linfócitos T helper 1
<b>Th2</b>	Resposta linfocitária do tipo 2 mediada por linfócitos T helper 2
<b>VEF1</b>	volume expiratório forçado no primeiro segundo
<b>VSR</b>	vírus sincicial respiratório

---

## RESUMO

**Introdução:** estudos epidemiológicos têm auxiliado no entendimento dos diferentes fenótipos clínicos de sibilância. Apesar de ser de amplo conhecimento que a asma é altamente prevalente em várias regiões brasileiras, existem poucos estudos buscando o entendimento dos mecanismos associados com a sua expressão clínica. Hiper-reatividade brônquica e atopia são marcadores importantes associados à asma em populações de países desenvolvidos. Em populações de baixa renda há poucos relatos descrevendo como ocorre a relação entre HRB, atopia e sibilância e também de que modo infecções comuns, como as parasitoses, estão associadas à HRB.

**Objetivos:** verificar a associação entre hiper-reatividade brônquica e sibilância nos últimos doze meses em uma população de escolares na cidade de Uruguaiana/RS.

**Métodos:** foi realizado teste de broncoprovocação com solução salina hipertônica (4,5%) e realizados testes de função pulmonar em cada um dos sujeitos, medindo a ocorrência de queda de 15% (definido como HRB positiva) na função pulmonar basal em dois grupos de escolares, divididos de acordo com a presença ou ausência de sibilância nos últimos doze meses. Outros fatores foram avaliados com o uso de questionários padronizados, com testes cutâneos para avaliação de atopia e testes parasitológicos em amostras de fezes.

**Resultados:** 97 pacientes foram incluídos no estudo, sendo que 17 destes apresentaram queda maior que 15% nos valores do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1). Não houve diferença estatística significativa em relação à HRB entre os grupos de pacientes sibilantes e não-sibilantes ( $p=0,3$ ) assim como atopia ( $p=0,2$ ) e parasitose em geral ( $p=0,6$ ). Escolares com alta carga de helmintos apresentaram risco cinco vezes maior de hiper-reatividade brônquica quando comparados às crianças não infectadas ou com níveis baixos de infecção (OR 5,0; IC95% 1,1–21,3). Infecção por *Giardia lamblia* mostrou ser marginalmente protetora de HRB (OR 0,8; IC95% 0,7-0,9)

**Conclusões:** o estudo não detectou uma relação significativa ente HRB e sibilância atual na população testada. Este achado pode significar que a definição de sibilância através de questionário neste tipo de população talvez apresente baixa especificidade. Outra possibilidade é que sibilância nesta população poderia representar um fenótipo atenuado de doença, não ligado à HRB. A relação positiva entre alta carga de helmintos e HRB poderia explicar a sibilância entre estas crianças, por mecanismo não mediado por alergia. Parece haver um papel protetor da giardíase em relação à HRB.

**Descritores:** asma; hiper-reatividade brônquica; parasitose; helmintos; pediatria; broncoprovocação; solução hipertônica.

---

## ABSTRACT

**Background:** epidemiological studies have been helpful in understanding the different clinical wheezing phenotypes. Although vastly known that asthma is highly prevalent in many regions of Brazil, there are few studies searching the understanding of the mechanisms associated with its clinical expression. Bronchial hyperreactivity (BHR) and atopy are important markers associated with asthma in developed countries. In low-income populations there are few reports on how the relation of BHR, atopy and wheezing occurs and also how common infections such as parasitosis are associated with BHR.

**Objective:** to evaluate the association between BHR and wheezing in the 12 past months in a population of school-age children in the city of Uruguaiana, in the south of Brazil.

**Methods:** bronchoprovocation was conducted using hypertonic saline (4,5%) and pulmonary function tests were performed with each subject to check the 15% decline (defined as BHR positive) in basal pulmonary function in two groups of subjects, divided by the presence or absence of wheezing in the previous 12 months. Other factors have been evaluated with the use of standardized questionnaires, with skin prick tests to evaluate atopy, and parasitologic exams in stools samples.

**Results:** 97 subjects were included in the study, of whom 17 showed a decline of more than 15% in their basal forced expiratory volume in the first second (FEV1). There was no significant difference related to BHR between groups of wheezing and non-wheezing subjects ( $p=0.3$ ) as well as for atopy ( $p=0.2$ ) and parasitosis at all ( $p=0.6$ ). Subjects highly infected by helminths showed a 5-fold chance to show BHR when compared to non-infected or “low-load” helminth-infected subjects (OR 5.0; CI 95% 1.1 - 21.3). Infection caused by *Giardia lamblia* showed to be marginally protective to BHR (OR 0.8, CI95% 0.7-0.9).

**Conclusions:** this study did not detect a significant relation between BHR and current wheeze in the population tested. This finding could mean that the definition of wheezing by questionnaire in this kind of population perhaps presents low specificity. Another possibility is that wheezing in this population could represent an attenuated disease phenotype, not linked to BHR. The positive relation between high helminth load and BHR could explain wheeze among these children, which is not mediated by allergy. There may be a protective role for giardiasis in relation to BHR.

**Key words:** asthma; bronchial hyperreactivity; parasitosis; helminths; pediatrics; bronchoprovocation; hypertonic saline.

---

---

# PARTE I

---

---

## REFERENCIAL TEÓRICO

---

## 1 INTRODUÇÃO

A asma é a doença crônica mais comum da infância sendo responsável por significativa morbidade, com reflexos na qualidade de vida e gerando custos substanciais. Numerosos estudos foram conduzidos nas últimas duas décadas tentando elucidar os mecanismos fisiopatológicos da doença. Contudo, a asma é uma condição heterogênea e apresenta diferentes fenótipos e manifestações clínicas, que variam com a idade, o gênero, herança genética e exposição ambiental<sup>1</sup>, o que cria dificuldades adicionais em seu estudo e entendimento. Pesquisadores de todo o mundo procuram estudar a asma em várias frentes, usando desde a biologia molecular até grandes estudos epidemiológicos. Dentro da proposta de analisar e rastrear o comportamento da asma foi criado, no início dos anos 90, o ISAAC – International Study of Asthma and Allergies in Childhood - na tentativa de padronizar a investigação em populações distintas, medindo diferenças de incidência ou prevalência, e investigando os fatores que expliquem estas diferenças<sup>2</sup>.

A primeira fase deste estudo procurou, através de questionários padronizados e de vídeos, avaliar a ocorrência e a severidade de sinais e

---

---

sintomas de asma, rinite alérgica e eczema atópico em 155 centros espalhados por 56 países diferentes<sup>3</sup>. O estudo encontrou grandes diferenças nas taxas de prevalência entre os países estudados, com alguns países mostrando até vinte vezes mais asma e doença alérgica que em outros<sup>4</sup>, provavelmente em função de diferenças no meio ambiente e condições sócio-econômicas.

A segunda fase do estudo teve como objetivo identificar os fatores relacionados às diferenças encontradas na primeira fase. O papel da sensibilização atópica, a influência de fatores ambientais e de estilos de vida, assim como o papel da hiper-reatividade brônquica (HRB) em pacientes asmáticos e sibilantes são o foco de atenção na segunda fase do estudo.

Um dado que vem chamando muito a atenção dos pesquisadores é a grande diferença nas prevalências de asma entre países desenvolvidos em relação a aqueles em desenvolvimento. Nos primeiros, as taxas de asma são elevadas e existe uma significativa associação com atopia (testes cutâneo-alérgicos positivos ou níveis elevados de imunoglobulina-E (IgE) específica a alergenios ambientais), sugerindo assim a existência de fatores socio-econômicos e ambientais que favoreçam ou protejam o aparecimento da asma e doença atópica<sup>5</sup>. O aumento das doenças alérgicas em contextos mais privilegiados gerou a chamada “Hipótese da Higiene” que postula que a exposição natural a agentes infecciosos em idade precoce estimula o sistema imunológico a produzir linfócitos do tipo Th1, inibindo a resposta inflamatória do tipo Th2, a qual é responsável pela produção de IgE, eosinófilos e outros

---

---

mediadores de doença atópica, fundamentais na gênese das doenças alérgicas.

Dentro desta padronização, na segunda fase do estudo ISAAC, faz-se necessário o estudo da HRB e sua relação com a asma em comunidades menos favorecidas economicamente, uma vez que a maior parte dos estudos de broncoprovocação publicados investiga populações de países desenvolvidos, onde a associação entre atopia e asma parece ser mais significativa. Um dos debates importantes na comunidade acadêmica é o da validade de estudos epidemiológicos de asma que se baseiam somente em questionários. Woolcock e colaboradores têm sugerido que a definição de asma deva obrigatoriamente passar por medidas de avaliação objetivas, sendo que as provas de broncoprovocação, que definem HRB, são o melhor complemento diagnóstico às perguntas de questionário para aumentar sensibilidade e especificidade do diagnóstico epidemiológico de asma<sup>6</sup>.

Também a relação entre sibilância e HRB nestas populações menos favorecidas ainda não é bem compreendida, uma vez que muitos dos pacientes sibilantes apresentam diferentes fatores que possivelmente modulam e interferem na resposta imunológica. As parasitoses, o contato com grãos em estoque, a falta de condições de saneamento, maior impacto de infecções do trato respiratório (decorrentes das más condições de higiene e nutrição), o contato com endotoxinas e o número de co-habitantes têm sido demonstrado em alguns estudos reduzir a prevalência de atopia e asma<sup>7</sup>. No entanto, em

---

função da heterogeneidade da asma e dos quadros de sibilância, alguns estudos questionam estas associações, postulando efeitos contrários. Park e colaboradores demonstraram uma associação positiva entre exposição à endotoxina e asma<sup>8</sup>. As principais razões para as divergências entre estes resultados são a falta de uniformização na metodologia empregada e na amplitude conceitual da asma, englobando muitas vezes pacientes que apresentam doença de via aérea sibilante e que não preenchem critérios rígidos de diagnóstico da doença. Assim, é fundamental a definição clara de asma através da pesquisa com marcadores de doença, como a HRB e a investigação de sua associação com fatores sócio-econômicos e ambientais em populações pouco favorecidas.

### **1.1 Epidemiologia da Asma**

Muitos estudos acerca da prevalência da asma em pediatria têm sido realizados em todo o mundo. Nestes, verifica-se uma grande variação nas prevalências de asma em idade escolar. As mesmas dificuldades enfrentadas ao definirmos e classificarmos a asma se apresentam no momento de definir em bases populacionais a real prevalência cumulativa e atual da doença. Na tentativa de superar estas dificuldades pesquisas recentes vêm usando medidas de prevalência semelhantes em diferentes áreas geográficas. Dentro

---

---

deste propósito, o ISAAC se mostra um dos mais relevantes, uma vez que coleta dados de mais de 150 centros, permitindo muitas vezes detecção de diferenças relevantes entre populações de mesmo substrato genético<sup>9</sup>.

Desde a década de 1970 já se verificam evidências de que a asma e atopia são menos freqüentes em países de menor desenvolvimento, em especial nas áreas rurais. Já em 1974, Anderson e colaboradores<sup>10</sup> mostraram que a asma era praticamente inexistente em crianças e adolescentes em montanhas de Papua Nova Guiné. Por outro lado, a incidência de infecções respiratórias de vias aéreas superiores era quatro vezes maior àquela encontrada em crianças da Grã-Bretanha. Após, vários outros pesquisadores mostraram resultados semelhantes<sup>11-14</sup>.

Além das diferenças entre meio rural e urbano, também parece haver uma espécie de gradiente leste-oeste entre os países da Europa, sugerindo um gradiente econômico. Na parte da Alemanha que correspondia à Alemanha Ocidental antes da Queda do Muro de Berlim, a prevalência de asma (9,3 versus 7,2%,  $p < 0,05$ ) e HRB (8,3 versus 5,5%,  $p < 0,01$ ) foram significativamente maiores em crianças de 9 a 11 anos de idade do que na antiga Alemanha Oriental. Também a freqüência de sensibilização atópica medida por testes cutâneos entre crianças do leste era cerca da metade do observado em crianças da Alemanha Ocidental (18,2 versus 36,7%,  $p < 0,01$ )<sup>15</sup>. Do mesmo modo, prevalência menor de atopia foi encontrada em crianças da Estônia e da

---

---

Polônia quando comparadas com crianças da Suécia (10,9 versus 13,6 versus 30,3%  $p < 0,01$ )<sup>16</sup>.

Entre os países desenvolvidos de cultura Ocidental as maiores prevalências de asma se encontram na Austrália, Nova Zelândia e Reino Unido, enquanto que as menores se encontram na França, Espanha e na Itália<sup>17</sup>.

Embora a metodologia de aferição da prevalência de asma varie muito entre os estudos, a grande maioria concluiu que houve um aumento de 1,5 a 3 vezes na prevalência de asma<sup>18,19</sup>. Alguns destes estudos foram baseados em questionários, sem o uso de métodos objetivos como os usados pelos grandes estudos epidemiológicos, como o ISAAC. É possível que grande parte deste aumento se deva à crescente preocupação em rotular os episódios de sibilância<sup>20</sup>. No entanto, estudos atuais com medidas objetivas de HRB sugerem que as mudanças na classificação e reconhecimento da asma não explicam totalmente os aumentos da prevalência nas últimas décadas. Burr e colaboradores realizaram testes de broncoprovocação com exercício em crianças inglesas em 1973 e em 1988. Foi relatado um aumento na prevalência de sibilância e na história positiva para asma assim como foi dobrada a positividade no teste para HRB<sup>18</sup>. Também Peat e colaboradores realizaram broncoprovocação com histamina mostrando um aumento de até duas vezes na prevalência de HRB, acompanhando o mesmo aumento nos episódios de sibilância em uma população de crianças australianas entre 1982 e 1992<sup>21</sup>.

---

---

Neste estudo, o aumento se deu principalmente em crianças atópicas, embora a prevalência de atopia medida por testes cutâneos não tenha mudado.

Embora de um modo geral os estudos tenham demonstrado um aumento nas prevalências de asma, o mesmo não se verificou em relação à gravidade. Aumentaram também os encaminhamentos para especialistas, mas diminuíram concomitantemente a frequência de hospitalizações, as admissões a unidades de cuidado intensivo, a média de dias de internação e a frequência de visitas a salas de emergência<sup>22</sup>. Weitzman e colaboradores confirmaram nos Estados Unidos que, embora a prevalência de asma tenha aumentado entre os anos de 1981 e 1988, não houve evidência de aumento na severidade da asma<sup>23</sup>.

Embora apresente alta morbidade, a asma é considerada uma causa rara de morte entre crianças e adolescentes. No Brasil, segundo informações do Datasus do Governo Federal, houve um total de 41 mortes por asma no ano de 2002<sup>24</sup>. Estudo feito recentemente comparando as estatísticas de mortalidade no Reino Unido mostrou entre os anos de 1968 e 2000 queda na mortalidade por doenças respiratórias em geral, na faixa etária entre 1 e 16 anos de vida. Especificamente em relação à asma, o número de óbitos para cada 100.000 caiu de 0,83 para 0,25<sup>25</sup>.

A prevalência de sibilância nos últimos doze meses no Brasil é semelhante a observada em países desenvolvidos, com quase 23% dos pacientes tendo algum tipo de indicador de sibilância recente. Na Austrália e Nova Zelândia a metodologia do Estudo ISAAC encontrou 29,7% enquanto que

---

nos Estados Unidos 24,4%. Os números brasileiros mostram-se superiores aos encontrados na América Latina como um todo, onde 17% dos adolescentes entre 13 e 14 anos apresentavam sibilância nos últimos doze meses. Resultados semelhantes foram obtidos com a mesma metodologia no Canadá, Peru e Irã. No Brasil o estudo ISAAC coletou dados em Curitiba, Porto Alegre, Recife, Salvador, Itabira, Uberlândia e São Paulo. A prevalência cumulativa de asma variou entre 4,8% em Itabira até 21,9% em Porto Alegre para crianças de 13 a 14 anos<sup>26</sup>. Estudo recente realizado em Pelotas/RS demonstrou uma prevalência acumulada de 31%<sup>27</sup> e sibilância nos últimos doze meses de 16,8% (em Porto Alegre a sibilância nos últimos doze meses foi de 24,7%), demonstrando que provavelmente em Pelotas exista maior preocupação em classificar os pacientes como sendo asmáticos.

## **1.2 Fenótipos de Asma**

No contexto clínico o diagnóstico de asma, com seus diferentes fenótipos, não pressupõe a presença de HRB. Contrariamente, em alguns casos, especialmente naqueles pacientes chamados de Sibilantes Transitórios Precoces, não se verificou aumento da resposta à broncoprovocação com metacolina, achado que sugere que a redução da função pulmonar seja o principal mecanismo envolvido na gênese da asma nestes pacientes. Embora

---

estes pacientes apresentem sinais de doença precocemente, também apresentam maiores taxas de remissão a longo prazo<sup>1,28</sup>.

Um outro tipo de fenótipo de asma descrito na literatura parece ter como fator desencadeante principal as infecções virais do trato respiratório, sem a presença prévia de alterações na função pulmonar. Rakes e colaboradores demonstraram que pacientes sibilantes no primeiro ano de vida apresentavam entre 70 a 82% das vezes culturas positivas para vírus respiratórios em secreção de vias aéreas superiores, ao contrário de apenas 20% nas crianças não sibilantes de um grupo controle<sup>29</sup>. Estes pacientes, chamados de Sibilantes Não-Atópicos, apresentam um padrão de doença menos severo e menos persistente que os asmáticos atópicos. Um estudo conduzido por Penny e colaboradores mostrou que a sibilância apresentada por crianças entre os 8 a 10 anos de idade vivendo em uma cidade satélite de Lima, no Peru, não estava associada com sensibilização alérgica assim como outros marcadores de atopia<sup>30</sup>.

O terceiro fenótipo é o de sibilantes atópicos, que apresentam sensibilização alérgica com elevações dos níveis de IgE e apresentam associação importante com HRB, assim como um padrão de doença mais persistente e grave<sup>31</sup>.

Como a grande maioria dos estudos é realizada em países desenvolvidos, é importante que se busquem explicações para a alta prevalência de asma em nosso meio, muito semelhante à observada em alguns

---

---

países em desenvolvimento, onde a interação de fatores externos parece influenciar de forma distinta a gênese da asma.

### **1.3 Fatores de Risco para Asma**

Além da HRB, os fatores de risco classicamente associados à asma são história familiar positiva (que remete à questão da importância do caráter hereditário da doença), a ação de estímulos externos (como tabagismo passivo, ambiente abundante em alérgenos) e a atopia, em especial quando há manifestações precoces de doença alérgica (eczema) <sup>32</sup>.

Uma série de outros fatores de risco ambientais e de história clínica podem estar também associados à persistência de sintomas de sibilância durante a vida. Existe uma forte associação entre bronquiolite induzida pelo vírus sincicial respiratório nos primeiros anos de vida com sibilância recorrente até os doze anos de idade<sup>33</sup>. Em um estudo na Suécia, 47 crianças hospitalizadas com bronquiolite foram seguidas até os sete anos de idade, sendo rastreados sinais e sintomas de asma. Análises multivariadas mostraram que a infecção pelo VSR é fator de risco independente para asma<sup>34</sup>. Reforçando estes achados, Wenzel e colaboradores demonstraram que a prevenção ou a protelação da infecção pelo VSR reduz a chance de

---

desenvolver atopia e está associado a uma melhor função pulmonar entre os sete e dez anos de vida<sup>35</sup>.

Do mesmo modo, a prematuridade também<sup>36</sup> mostrou-se um fator de risco independente para a manutenção da asma em idade escolar. Embora essa observação sofra influência do baixo ganho ponderal durante a gestação<sup>37</sup>, gerando controvérsia a respeito da imaturidade pulmonar, atualmente se considera a prematuridade como um fator importante<sup>32</sup>.

#### **1.4 Hiper-Reatividade Brônquica e Asma**

Importante marcador de asma, a HRB caracteriza-se por um aumento anormal na limitação ao fluxo de ar que se segue à exposição a estímulos não alérgicos<sup>38</sup>. Mesmo que a HRB não seja um achado específico da asma, podendo ser verificada também na doença pulmonar obstrutiva crônica e na fibrose cística, é considerada um achado fundamental e está associada ao prognóstico da doença. Em meados do século XX, Tiffenueu<sup>39</sup> pela primeira vez relacionou HRB com asma e discutiu sua importância no contexto da prática clínica. Desde então, vários estudos já demonstraram a relação da HRB com asma. Alguns autores inclusive postulam que asma em estudos epidemiológicos deveria ser definida como HRB sintomática; ou seja, HRB associada a sintomas nos últimos 12 meses<sup>40</sup>.

---

---

Vários estudos onde a HRB foi avaliada mostraram que ela prediz o desfecho da asma na idade adulta<sup>41-43</sup>, e, em especial, quando associada à sibilância, pode discriminar aqueles pacientes que irão persistir sibilando quando adultos. Também foi associado o grau de inflamação das vias aéreas com a severidade da HRB. Kerstjens e colaboradores demonstraram que pacientes que apresentam melhor resposta ao uso de corticosteróides são aqueles com HRB mais severa<sup>44</sup>. Sinais clínicos sugestivos de asma, como sibilância, dispnéia noturna e sensação de aperto no tórax também estão associados com HRB em adultos<sup>45</sup>.

Além da importância variável da atopia e da HRB em relação à asma, também o padrão de resposta patológica difere entre fenótipos distintos. Tanto a celularidade<sup>46</sup> quanto mediadores inflamatórios apresentam uma variabilidade grande entre os diferentes fenótipos de doença<sup>47</sup>. Heaton e colaboradores demonstraram diferenças na resposta inflamatória sérica em asmáticos atópicos e não atópicos. Entre os pacientes atópicos foi demonstrada uma associação importante entre atopia e eosinofilia, com a produção de Interleucina-5. Outro estudo mostrou que pacientes atópicos com HRB apresentavam padrão inflamatório com predomínio de eosinofilia e produção de interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) policlonal, enquanto que em de pacientes não-atópicos a HRB estava associação com produção de interleucina-10 (IL-10) policlonal e alérgeno-específica<sup>48</sup>. Estas diferenças imunofenotípicas demonstram parte das dificuldades na elaboração de estratégias terapêuticas definitivas para a asma.

---

As tentativas de padronizar o diagnóstico da asma são particularmente importantes quando se leva em conta a grande subjetividade do diagnóstico clínico, a baixa reprodutibilidade de questionários e a lembrança de sintomas por parte dos pacientes e dos familiares, assim como as diferenças culturais e lingüísticas que podem haver quando se analisa populações distintas<sup>49</sup>. O diagnóstico de asma através de questionários envolve visitas recorrentes e grande aderência das famílias à pesquisa, o que dificulta sua execução em larga escala. Em estudos epidemiológicos, estas dificuldades aumentam, uma vez que os diagnósticos baseados em questionários e definições por termos médicos são muito variáveis de acordo com o local analisado. Embora os questionários se constituam em um método útil em função de seu baixo custo e da íntima relação com os sinais e sintomas do paciente, por outro lado dão margem a interpretações errôneas de parte dos sujeitos que respondem.

O diagnóstico de asma fornecido por um médico em algum momento da vida também foi investigado como um dos fatores possíveis para a identificação da doença. Um estudo realizado no País de Gales com crianças entre oito e onze anos de idade mostrou uma sensibilidade de 0,39 e especificidade de 0,90 (valor preditivo positivo de 0,62) para o diagnóstico de asma dado por um médico em algum momento da vida quando comparado a HRB, usada como marcador de asma<sup>50</sup>. Transpondo estes achados para a prática clínica, é digno de nota um outro estudo realizado por Cane e colaboradores, que encontrou uma taxa de concordância entre sinais percebidos por familiares e achados de ausculta de somente 45%<sup>51</sup>, o que comprova a necessidade da obtenção de

---

---

dados objetivos ao analisarmos o diagnóstico de asma em estudos epidemiológicos, os quais adicionam informações objetivas aos dados de questionários<sup>49</sup>.

Além do uso de questionários validados e de marcadores de HRB, também são utilizados testes diagnósticos de atopia a fim de caracterizar um fenótipo específico, uma vez que vários estudos mostram forte associação entre atopia, exposição à alérgenos e asma<sup>52,53</sup>. No entanto, estas medidas também falham em mostrar-se únicas e definitivas, uma vez que alérgenos específicos de uma região em estudo podem não ser importantes em outra região. Ácaros de poeira domiciliar são agentes sensibilizantes importantes em regiões úmidas enquanto que fungos como a *Alternaria* são relevantes em zonas secas, desérticas ou no campo<sup>54</sup>. Mais do que isso, por se tratar de doença complexa, duas regiões podem apresentar diferentes fatores etiológicos na gênese da asma em função de diferenças genéticas e ambientais; ou seja, a atopia pode ser determinante para a asma em alguns locais, enquanto que em outros pode interferir pouco no desencadeamento de sinais e sintomas.

Deparando-se com o complexo leque de possibilidades fisiopatológicas e fenotípicas que a asma apresenta, alguns autores postulam que a questão chave, ao invés de centrar-se na busca de um padrão-ouro para o diagnóstico de asma, deveria ser focada no uso racional dos diferentes métodos diagnósticos disponíveis, combinando dados de sintomas respiratórios, função da via aérea e estado alérgico para responder perguntas acerca da prevalência,

---

etiologia, história natural e prevenção da asma em populações específicas<sup>55</sup>. A busca por identificadores mais objetivos de diagnóstico de asma impulsionou o estudo dos métodos de broncoprovocação, que através de padronizações por protocolos torna reprodutível a aferição da HRB.

### **1.5 Métodos de Broncoprovocação Diretos Versus Indiretos**

Os métodos disponíveis atualmente para broncoprovocação se dividem em métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos são aqueles que envolvem a inalação de algum agente, como a metacolina ou a histamina, e que reduzem o fluxo de ar causando broncoconstrição através de efeito direto no músculo liso brônquico<sup>56</sup>. Os métodos indiretos, como a broncoprovocação com exercício ou inalação de solução salina hipertônica ou adenosina, começaram a ser mais bem estudados no final dos anos 80<sup>57</sup>. Estes métodos induzem limitação de fluxo aéreo por ação sobre células não envolvidas diretamente na contração muscular lisa, como células inflamatórias, epiteliais e nervos que, sob estimulação, liberam mediadores ou neurotransmissores que provocam a contração do músculo liso<sup>56</sup>. Vários mediadores são liberados após a estimulação por métodos indiretos, como histamina, leucotrienos, prostaglandinas, acetil-colina e neuropeptídeos, diferentemente dos estímulos diretos, com os quais os métodos indiretos mantêm baixa correlação<sup>57</sup>.

---

Em pacientes com asma, a HRB à provocação com estímulos indiretos está mais associada à inflamação da via aérea do que a desencadeada por métodos diretos<sup>58</sup>. Do mesmo modo, foi demonstrado por Hofstra e colaboradores que a resposta ao tratamento com corticosteróides é mais bem aferida com broncoprovocação com exercício (indireto) do que com o uso de metacolina (direto), mostrando a maior relevância dos métodos indiretos para a prática clínica<sup>59</sup>.

O mecanismo de ação dos métodos indiretos (ou seja, broncoprovocação com exercício, uso de solução salina hipertônica ou adenosina) é semelhante: ocorre o aumento da osmolaridade da via aérea por ação da solução hipertônica ou por ressecamento através do exercício. A desidratação provoca encolhimento celular de mastócitos (que liberam histamina, prostaglandinas e leucotrienos) e células epiteliais (prostaglandinas e IL-8)<sup>60</sup>, assim como estimulam nervos sensoriais das vias aéreas, o que explica a tosse provocada pelo teste em alguns sujeitos. Embora os testes diretos apresentem boa sensibilidade para detecção de asma, os métodos indiretos de broncoprovocação são mais específicos do que a metacolina para diferenciar asma de outras alterações crônicas das vias aéreas como bronquiolite obliterante, fibrose cística, bronquiectasias e discinesia mucociliar<sup>61</sup>.

Em relação aos outros métodos de provocação indiretos, o uso de solução salina hipertônica apresenta algumas vantagens adicionais: não depende de condições climáticas estáveis, uma vez que pode ser realizada em

---

espaço reduzido; tem custo muito baixo, permitindo sua realização em centros com baixo orçamento; não depende do estado atlético dos sujeitos; tem uma aceitação maior por parte dos pacientes e responsáveis, por não usar substâncias medicamentosas e é bem tolerado pelos pacientes. Em um estudo com 500 crianças, apenas 1,5% delas sentiram-se incapazes de prosseguir com o exame por tosse ou irritação da via aérea (contra 1,6% da provocação com exercício na mesma população)<sup>62</sup>.

Em estudos epidemiológicos os métodos indiretos vêm sendo usados em vários centros diferentes. Um estudo com 2.363 crianças entre 8 a 11 anos de idade na Austrália, que realizaram broncoprovocação com histamina, mostrou uma sensibilidade de 53% e uma especificidade de 90% para detectar crianças com um diagnóstico de asma<sup>63</sup>. Em outro estudo do mesmo país foram comparadas as sensibilidade e especificidade do teste com solução salina hipertônica e a histamina com resultados semelhantes<sup>62</sup>, embora nestes estudos as crianças não tenham sido orientadas a suspender as medicações em uso antes do teste, o que poderia subestimar sua real sensibilidade.

### **1.6 Relação entre Asma, Atopia e Parasitoses**

Manifestações de doença alérgica como asma, rinite e eczema em países industrializados estão fortemente associados à atopia<sup>64,65</sup>. Atopia é

---

---

caracterizada pela elevação dos níveis de imunoglobulina-E (IgE) total ou específica a um alérgeno e evidência *in vivo* de hipersensibilidade mediada por IgE demonstrada por testes cutâneos<sup>64</sup>. Grande parte dos pesquisadores considera atopia um determinante importante da asma, embora apenas 25 a 30% das crianças atópicas em países desenvolvidos venham a apresentar manifestação clínica de doença alérgica<sup>6</sup> e apenas 37% dos casos de asma possa ser atribuído à atopia<sup>66</sup>.

Uma das explicações postuladas para o aumento da prevalência de asma após o primeiro ano de vida, em ambientes urbanos, é justamente a crescente tendência à sensibilização alérgica<sup>67</sup>. Os fatores relacionados a esta tendência são a exposição reduzida a infecções virais e bacterianas<sup>65</sup>, redução dos níveis de aleitamento materno com introdução precoce do leite de vaca e alimentos sólidos<sup>68</sup>, aumento da exposição à poluição decorrente da combustão de combustíveis fósseis<sup>69</sup> e alterações ambientais intra-domiciliares. Particularmente em regiões tropicais, existem grandes diferenças na prevalência de alergia entre populações urbanas e rurais, com taxas mais altas de asma nas primeiras<sup>70,71</sup>. Também existem evidências dissociando atopia e asma em algumas regiões dos trópicos<sup>30,70</sup> e em populações rurais da Europa. Com base nestes achados, foi proposto que a redução no número de infecções intensas nos primeiros anos de vida em países industrializados, devido a melhores condições de saneamento, vacinações e uso de antibióticos alterariam o sistema imunológico de modo que este responda inadequadamente a substâncias inócuas<sup>72</sup>, favorecendo o surgimento de asma de característica

---

---

atópica. Esta hipótese foi cunhada de "Teoria da Higiene" <sup>73</sup>, a qual postula um papel fundamental na resposta imune, através do balanço entre a resposta imune tipo 1 (Th1, associada a infecções virais e doenças autoimunes) e a resposta tipo 2 (Th2, associada a infecções parasitárias e doenças alérgicas). Pela teoria, a estimulação insuficiente Th1 (por redução nas infecções virais e bacterianas) levaria a falta de supressão da resposta Th2, que provocaria aumento de células e mediadores de doença alérgica <sup>74</sup>. Chama a atenção o fato de que a resposta imunológica a infecções por helmintos também é do tipo Th2 e, contudo, não parece haver correlação positiva entre parasitose e manifestações clínicas de doenças alérgicas a despeito da estimulação imunológica semelhante<sup>9</sup>. Ou seja, embora doença atópica e parasitose apresentem fenômenos imunológicos semelhantes, a resposta clínica em relação à hipersensibilidade imediata e inflamação são claramente distintos.

Parasitose tem sido descrita em vários estudos como fator protetor ao desenvolvimento de atopia em populações altamente infectadas<sup>75-77</sup>. As infestações intestinais por helmintos estão entre as infecções mais prevalentes no mundo todo e estima-se que cerca de um bilhão de pessoas estejam parasitadas por pelo menos um tipo de helminto<sup>78</sup>. A infestação endêmica por parasitas, em especial aqueles com ciclo pulmonar, como o *Ascaris lumbricoides*, parece exercer um efeito anti-inflamatório supressor da reação alérgica mediada por IgE no trato respiratório<sup>75</sup>.

---

A discussão a respeito do papel protetor das parasitoses em relação à doença alérgica é antiga. Recentemente, reavaliando estas associações, estudos na África e na América do Sul mostraram uma relação inversa entre infecção parasitária (esquistossomíase e helmintíase intestinal) e testes cutâneos a alérgenos ambientais, assim como em relação a marcadores clínicos, como HRB, sibilância ou asma<sup>76,79,77,80,81</sup>. Na maior parte destes estudos, mais de 30% dos sujeitos estudados apresentavam níveis de IgE específica para ácaros domiciliares semelhantes aos apresentados por sujeitos de países industrializados. No entanto, estes níveis nos países industrializados estavam associados à positividade nos testes cutâneos a ácaros enquanto que nos países em desenvolvimento o nível sérico de IgE nem sempre acompanhava as reações cutâneas. No Gabão somente 11% dos escolares reagiram a ácaro nos testes cutâneos, enquanto que 32% foram positivos para IgE específica para ácaros domiciliares medida em amostra de sangue<sup>80</sup>.

Altos níveis de IgE e testes cutâneos positivos em países da Europa Central e Austrália estão associados a altas taxas de doença respiratória nestes países<sup>13 82</sup>. Ao contrário, em muitos países em desenvolvimento como a Gâmbia e Nigéria, 35,3 e 28,2% de reações atópicas cutâneas tiveram correspondência com apenas 3,6% de asma e 6% de sibilância respectivamente<sup>81, 82</sup>. Em um estudo realizado na Etiópia, atopia a ácaros domiciliares foi comum, mas a presença de altos níveis de infecção parasitária por helmintos não estavam relacionados a sibilância<sup>75</sup>. Todos estes achados parecem mostrar que apesar da sensibilização a alérgenos ambientais,

---

pacientes parasitados por helmintos estão protegidos contra degranulação de mastócitos e conseqüentemente de apresentar resposta atópica cutânea.

Também o nível de infecção parasitária já foi estudada em relação à alergia. Na Venezuela, os sujeitos foram separados entre aqueles com nenhuma, leve ou severa infestação por helmintos e o que se verificou foi que aqueles levemente infestados ou não infestados (como grupos urbanos de alto nível sócio-econômico) apresentavam uma amplificação da resposta específica a alérgenos mediada por IgE, com testes cutâneos positivos. Já os sujeitos severamente parasitados apresentavam-se protegidos de reatividade cutânea apesar de um alto grau de sensibilização aos ácaros. Além disso, as manifestações clínicas de alergia foram melhoradas após o tratamento das verminoses naqueles levemente infestados, mas pioraram significativamente naqueles tratados que tinham inicialmente alta carga parasitária<sup>83</sup>. O padrão de infecção com parasitas intestinais também parece determinar a resposta inflamatória. Embora todos os helmintos com fase larval pulmonar (*Ascaris lumbricoides*, *Ancilostomas* e *Strongyloides stercoralis*) sejam capazes de induzir sintomas semelhantes a asma, em regiões onde a infestação é altamente endêmica e o contato com o parasita ocorre precocemente a ascaridíase pulmonar sintomática é rara<sup>84</sup>. Assim, é possível que comunidades com um padrão de doença parasitária esporádica ou sazonal apresentem mais doença atópica, enquanto que em locais de infestação contínua e endêmica a sintomatologia de doença alérgica esteja suprimida e este efeito parece ter efeito quantitativo em relação à carga de parasitas<sup>85</sup>. Ou seja, a alta

---

prevalência de infecções crônicas em países em desenvolvimento resultam em uma estimulação imunológica contínua, com ciclos repetidos de infecção e inflamação, seguidos da ativação de moléculas anti-inflamatórias que restringem reações exacerbadas do sistema imunológico, estabelecendo uma rede reguladora que pode ser a chave para o controle das doenças alérgicas. Esta rede estaria fracamente estimulada em países industrializados com uma carga muito baixa de patógenos, permitindo o rápido desenvolvimento de reações imunopatológicas inadequadas<sup>72</sup>.

A explicação para a diferente manifestação clínica entre perfis semelhantes de resposta imunológica (Th2) de pacientes parasitados e alérgicos parece estar no perfil de citocinas e outros mediadores de inflamação, como a IL-10 liberada por células T estimuladas por antígenos parasitários. Também é importante a resposta dos mastócitos a populações inespecíficas de IgE, produzidos durante a infestação parasitária. Isto levaria a uma saturação de receptores dos mastócitos com estas imunoglobulinas inespecíficas, tornando-os pouco responsivos a alérgenos específicos<sup>86</sup>. De fato, em vários estudos o efeito protetor de infecções por helmintos em relação à reatividade alérgica estava associado a altos níveis de IgE totais inespecíficos<sup>76,79</sup>.

---

---

## **JUSTIFICATIVA**

---

## **2 JUSTIFICATIVA**

A falta de padronização metodológica faz com que as comparações entre populações sejam muito difíceis em estudo de asma. Além disso, a variabilidade dos fenótipos da doença também contribui para a dificuldade na avaliação destas populações. Poucos estudos existem na literatura com métodos semelhantes investigando crianças com asma não-atópica associada a agressões do meio-ambiente. O uso da metodologia do ISAAC neste estudo permite uma comparação mais adequada de nossa população e de seus fatores de risco para asma, avaliando o papel da HRB na sua gênese, permitindo a elaboração de estratégias mais efetivas no tratamento e prevenção da asma nestas faixas etárias.

Comparativamente a outros países, o Brasil, e especialmente o Rio Grande do Sul, demonstra uma alta prevalência de asma, comparável às prevalências encontradas em países desenvolvidos. No entanto, a participação de hiper-reatividade brônquica nestas estatísticas ainda não foi bem compreendida. É possível que um subgrupo de asmáticos tenha sua doença mediada não por atopia e hiper-reatividade brônquica, mas por outros

---

mecanismos de agressão resultando em estimulação imunológica ou mesmo direta no trato respiratório, gerando sintomatologia típica da doença.

É reconhecido por extensa literatura, que existe uma importante associação entre asma definida por sintomas clínicos (sibilância), atopia (definida por testes cutâneos a alérgenos ambientais) e HRB. A maioria destes estudos foi realizada em populações de bom nível sócio-econômico e é raro encontrar publicações que descrevam estas associações em populações de mais baixa renda, onde diferentes fatores ambientais e de impacto social possam interferir. Neste nosso estudo verificamos a relação entre sibilância que ocorreu nos últimos 12 meses em relação à HRB medida por teste de provocação com solução hipertônica. Além do ineditismo de estudos nesse tipo de população que temos no interior do RS, também colocamos como objetivo do estudo avaliar a possível relação de parasitoses intestinais com esta mesma HRB. Há parasitas de ciclo pulmonar e outros de ciclo exclusivamente intestinal que podem mediar respostas inflamatórias diferentes, agindo sistemicamente através de resposta imunológica ou localmente durante o ciclo pulmonar, sendo poucos os estudos que verificaram estas relações com a HRB.

---

---

## **OBJETIVOS**

---

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Verificar a relação entre hiper-reatividade brônquica à solução salina hipertônica e sibilância nos últimos doze meses em escolares de Uruguaiana/RS.

#### **3.2 Objetivo Específico**

Verificar a relação entre hiper-reatividade brônquica e infecção parasitária.

---

---

## MÉTODOS

---

## **4 MÉTODOS**

### **4.1 Seleção da Amostra**

A amostra estudada neste trabalho foi selecionada a partir de uma coorte em estudo na cidade de Uruguaiana, Rio Grande do Sul, na fronteira oeste do Estado, que conta com 132.068 habitantes. A cidade, embora tenha 1,24% da população do Estado, contribui com apenas 0,79% do Produto Interno Bruto (PIB) do Rio Grande do Sul (RS) e com 0,28% do PIB proveniente da atividade industrial. A atividade predominante é a agropastoril e serviços. O índice de Desenvolvimento Humano da Cidade é de 0,788 (dados de 2000), nível considerado médio<sup>60</sup>.

O número de escolares cursando as 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> séries do ensino básico é de 3.049 alunos. Destes, uma amostra representativa de 1982 crianças completaram a primeira fase do estudo com respostas a questionário. Uma sub-amostra escolhida aleatoriamente de 1119 crianças realizou testes cutâneos e coletou fezes para exames parasitológicos.

---

Desse total de 1119 crianças, foram sendo sorteadas até que cada grupo de sibilantes e não-sibilantes nos últimos 12 meses ou asma alguma vez na vida contasse com 60 sujeitos. Todas as crianças tiveram o questionário padronizado ISAAC-fase II respondido por seus responsáveis.

Todas as crianças submetidas à broncoprovocação tiveram consentimento informado (ANEXO) aceito e assinado por seus responsáveis para a realização do exame. Além disso, o protocolo foi previamente analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Lucas da PUCRS.

#### **4.2 Tamanho da Amostra**

Para encontrar um nível de significância de 5%, poder de 90% e esperando uma probabilidade de testes positivos de 60% no grupo de sibilantes e de 20% no grupo de não-sibilantes, o cálculo de tamanho amostral sugeriu um mínimo de 30 sujeitos em cada um dos grupos.

---

### **4.3 Critérios de Inclusão**

- Participação na fase anterior do estudo
- Capacidade de realizar manobras expiratórias adequadas;
- FEV1 acima de 75% do previsto para a estatura;

### **4.4 Critérios de Exclusão**

- Uso de cromoglicato, nedocromil, broncodilatador de curta duração ou brometo de ipratrópio em período menor de 6 horas antes do teste;
  - Uso de xantinas por 12 horas antes do teste;
  - Uso de broncodilatador de longa duração por menos de 24 horas antes do teste;
  - Uso de anti-histamínicos por menos de 48 horas antes do teste;
  - Incapacidade em realizar manobras expiratórias adequadas;
  - Desconforto com o procedimento ou tosse;
-

- Infecção respiratória ativa que pudesse comprometer a execução das manobras expiratórias.

#### **4.5 Análise Estatística**

Para as variáveis contínuas foi usado o teste t de Student e para as variáveis bivariadas foi usado o teste do qui-quadrado. Foi usado o programa SPSS versão 11.0<sup>®</sup> e o programa Excel 2003<sup>®</sup> para as análises estatísticas.

#### **4.6 Definição das Variáveis**

##### **4.6.1 Variável Principal**

A hiper-reatividade brônquica foi definida como a queda maior ou igual a 15% do valor inicial do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) após a nebulização com solução salina hipertônica.

##### **4.6.2 Variáveis Secundárias:**

---

### Escolaridade

Foi definido como até oito o número de anos de escolaridade baixa, ao avaliarmos o grau de escolaridade materna.

### Tabagismo materno atual

Foi definido como positivo quando a pergunta “A mãe de seu/sua filho (a) fuma atualmente?” era respondida afirmativamente.

### Zona pobre

De acordo com o protocolo ISAAC, zona pobre caracteriza-se pela ausência de parques ou praças na vizinhança.

### Bronquiolite

Crianças com história de internação hospitalar ou atendimento em serviço de emergência nos dois primeiros anos de vida por bronquiolite foram considerados como positivos para este fator.

---

### Parasitose

Presença de qualquer parasita intestinal encontrado em ao menos uma amostra dos exames parasitológicos de fezes.

Giardíase: ao menos um exame parasitológico positivo para *Giardia lamblia*.

Helmintíase: ao menos um exame parasitológico positivo para qualquer helminto encontrado. Uma variável para carga alta de helmintos também foi definida: presença de mais de 100 ovos de helmintos por grama de fezes no exame parasitológico com o Método de Kato-Katz.

### **4.7 Questionários:**

Foram utilizados os questionários da fase 2 do estudo ISAAC, incluindo questões sobre a história atual e pregressa de eventos respiratórios, potenciais fatores de risco para asma ou alergia, assim como dados demográficos. Os pais ou responsáveis pelas crianças foram entrevistados por pesquisadores treinados e reavaliados após período inicial. Este questionário foi traduzido para o português e contra-vertido para o inglês e validado em estudo prévio para aplicação no Brasil<sup>87</sup>. Para o presente estudo definimos como sibilantes as crianças que tiveram resposta positiva à pergunta “Seu filho/a apresentou

---

---

sibilos (chiado ou miado de gato) no peito nos últimos 12 meses?”. O valor negativo desta variável foi construído através da combinação de duas respostas negativas à pergunta de sibilância nos últimos 12 meses (referida acima) e à outra que se refere ao diagnóstico de asma alguma vez na vida (“Seu filho/a teve asma alguma vez na vida?”). Asma ativa foi definida como a combinação entre sibilância nos últimos 12 meses (ver pergunta acima) e o diagnóstico de asma alguma vez na vida (ver pergunta acima).

#### **4.8 Testes Cutâneos**

Em todos os pacientes recrutados no estudo, foram aplicados testes cutâneos para seis alérgenos ambientais comuns: *Dermatophagoides pteronissinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Alternaria alternata*, epitélio de gato, extrato de gramíneas e extrato de árvores (laboratório ALK - Horsholm, Dinamarca). Também foram aplicados histamina, como controle positivo e diluente como controle negativo.

Foram usadas lancetas fornecidas pelo laboratório ALK (Horsholm, Dinamarca), que apresentam boa reprodutibilidade, sendo bem tolerados pelos pacientes. Foram usados extratos padronizados do mesmo laboratório, mantidos sob refrigeração e a salvo de contaminação bacteriana.

---

Os aplicadores receberam treinamento prévio de acordo com os padrões do protocolo ISAAC<sup>2</sup> e a reprodutibilidade obtida pelos mesmos foi testada em 3 séries de 16 exames com histamina em voluntários, previamente ao estudo.

Uma gota de cada extrato de alérgenos, assim como os controles, eram colocados na pele da face anterior do antebraço esquerdo. Após 15 minutos, o contorno externo da pápula reacional era delimitado com uma caneta de ponta especial e o resultado foi determinado pela média dos comprimentos do maior diâmetro e da linha perpendicular a esta. A reação cutânea era considerada positiva quando o halo formado superava em 3 mm ou mais o diâmetro médio do halo de controle com histamina. Os pacientes eram considerados atópicos quando ao menos um dos alérgenos testados apresentava reação positiva.

Como os testes cutâneos podem sofrer variação circadiana<sup>88</sup> todos os testes foram realizados no período compreendido entre as 8 e 13 horas.

#### **4.9 Exames Parasitológicos**

Todos os pacientes coletaram também fezes para pesquisa de parasitas, tendo sido analisadas somente amostras adequadas. Os pais ou responsáveis foram orientados a coletar três amostras em dias diferentes, acondicionadas em recipiente plástico fornecido. As fezes eram levadas para análise dentro de 24

---

horas a contar da coleta e eram recolhidas nas escolas ou no domicílio. O laboratório que realizou as análises (Biosul, Uruguaiana/RS) protocolava e acondicionava sob refrigeração as amostras e, após, as submetia a três processos distintos de análise, pelo mesmo profissional. Inicialmente era feito o teste de Ritchie, para identificar ovos de helmintos e cistos de *Giardia lamblia*<sup>89</sup>. A seguir, o método de Baerman<sup>90</sup>, que identifica larvas de *Strongiloides stercoralis*<sup>90</sup>, e finalmente o método de Kato-Katz<sup>91,92</sup>.

#### **4.10 Protocolo de BroncoProvocação com Solução Salina Hipertônica**

Para o registro dos índices pulmonares foi usado um aparelho de espirometria da marca Superspiro<sup>®</sup>, da empresa Micro Medical. Foram obtidas curvas expiratórias forçadas onde se registrou o volume expiratório forçado no primeiro segundo. O traçado das curvas obtidas também era analisado a fim de garantir boa cooperação e entendimento dos sujeitos.

##### **Solução de nebulização**

Foi obtida com água destilada e preparada a cada turno, em temperatura ambiente. Adicionava-se 45 g de NaCl em 1000 mL de água, com concentração

final de 4,5%, concentração que conferia à solução um gosto semelhante à água do mar.

#### Nebulizador

Foi utilizado um nebulizador ultrasônico, a fim de se obter um diâmetro adequado de partículas nebulizadas, maior débito por minuto e maior uniformidade entre as partículas. Dois aparelhos da marca DeVilbiss - Large Volume<sup>®</sup> foram usados para as nebulizações. De acordo com o fabricante, as partículas produzidas variam entre 0,5 e 5 micron de diâmetro.

A tubulação utilizada tinha no máximo 50 cm de comprimento e 22 milímetros de diâmetro de luz interna a fim de que não fosse reduzido significativamente o débito do nebulizador.

À tubulação eram conectadas válvulas não reinalantes, que derivavam o conteúdo expirado (ar e saliva) a fim de não alterar a pesagem do conjunto após o término das nebulizações, uma vez que a inalação de solução salina hipertônica produz invariavelmente uma salivação intensa. Nestas válvulas, por fim, foram conectadas peças bucais que impediam a entrada de ar lateral proveniente do ambiente, sem solução salina. Grampos nasais acolchoados também foram usados para ocluir as narinas, o que poderia empobrecer a concentração na via aérea. A cada sujeito era realizada a higienização do conjunto.

---

### Balança

Foi usada uma balança da marca Sartorius Basic 2100<sup>®</sup>, com capacidade de medição entre 0 a 2500g, com frações de 0,1g. Todo o conjunto, composto de tubulação, recipiente, válvulas e adaptadores bucais era pesado antes e depois das nebulizações, estando o sistema já preenchido com um volume até 200 mL. Após o período total de exposição, o conjunto era novamente pesado e o resultado era dividido pelo tempo com o resultado apresentado em mL por minuto. Foi arbitrado que cada grama de queda no peso aferido ao fim das exposições corresponderia a 1 mL.

### Procedimento

O protocolo utilizado foi traduzido do original em inglês, como definido no manual do estudo ISAAC-fase II<sup>2</sup>.

Inicialmente todos os pacientes foram medidos, com trena aferida para fins de pesquisa. A seguir, a avaliação espirométrica definiu os sujeitos adequados ao critério de inclusão principal, qual seja, FEV1 maior que 75% do previsto (valores de referência: tabela de Polgar)<sup>93</sup>. Uma instrução e demonstração breves esclareciam os sujeitos acerca da exposição à solução salina e da realização das manobras expiratórias forçadas. A seguir, duas manobras expiratórias eram obtidas e registradas. Caso houvesse diferença de mais de 5% em seus valores absolutos, uma terceira manobra era realizada,

---

---

considerando-se as duas melhores como sendo significativas e a de maior valor como a referência e valor basal.

Nos sujeitos com menos de 75% do valor previsto de FEV1 para a idade, era administrado broncodilatador (salbutamol 400 $\mu$ g) através de espaçador e novas medidas de FEV1 eram obtidas 10 minutos após.

Após o registro dos valores basais de FEV1 o sujeito passava à inalação com a solução salina hipertônica. Mantendo uma posição confortável, sentada, o sujeito era orientado a respirar normalmente através do bocal adaptado em válvula. Se necessário, era orientado elevar a tubulação em nível superior à boca para minimizar a sialorréia. Em caso de tosse excessiva e afastamento voluntário do bocal, a nebulização era interrompida, assim como o cronômetro digital utilizado.

Inicialmente o tempo de exposição era de 30 segundos, para que não houvesse uma alteração súbita nos valores de FEV1, permitindo assim maior controle do ponto de vista clínico. Após a exposição inicial, em até um minuto eram tomadas novas medidas de FEV1, também obedecendo aos critérios de reprodutibilidade da American Thoracic Society<sup>94</sup>. Caso os valores de FEV1 fossem menores que 85% do valor basal, o teste era considerado positivo e as inalações suspensas. Caso a queda fosse até 90 e 85% do valor basal, o tempo de exposição era mantido igual ao último realizado. O tempo restante era recalculado a fim de que o tempo total de inalação não ultrapassasse um total de 15 minutos e 30 segundos. Caso após duas repetições do mesmo tempo o

---

FEV1 não caísse mais que 85% do valor basal, o tempo era dobrado. Nos casos de queda menor que 10% do valor basal, o tempo era dobrado. Esse critério permanecia válido para todas as etapas de inalação. O início do período subsequente de inalação começava dentro de 3 minutos desde o fim da última exposição. Quando não eram necessárias repetições, os tempos de exposição eram de 30 segundos, 1, 2, 4 e 8 minutos.

Nos casos de resposta positiva à broncoprovocação com solução salina hipertônica, os pacientes (a exemplo daqueles com menos de 75% do FEV1 previsto para a estatura na avaliação inicial) recebiam salbutamol (400µg através de spray conectado a espaçador) e repetiam suas provas de função pulmonar após 10 minutos. Nenhum paciente era liberado do local de exame até que houvesse a reversão até 90% do valor basal, permanecendo sob vigilância clínica de pediatra habilitado durante todo o tempo. Todos os valores foram registrados nas planilhas e folhas de registro.

### Segurança

Foram tomados cuidados para a realização do procedimento com suporte de equipamento necessário para a reversão de eventuais reduções importantes do VEF1 conforme protocolo da European Respiratory Society<sup>95</sup> também seguidos pelo protocolo do ISAAC<sup>2</sup>. Todos os exames foram feitos na presença de médico (pesquisador) habilitado em Suporte Avançado de Vida com certificação da American Heart Association e Sociedade Brasileira de

---

Pediatria. Rápido acesso a oxigênio, oximetria de pulso e material para manejo avançado de vias aéreas foi também garantido.

Além disso, todos os pacientes foram esclarecidos sobre o procedimento e eram liberados para interromper o teste assim que o desejassem. Do mesmo modo, o protocolo previu um tempo de exposição inicial de 30 segundos, com incrementos gradativos nas exposições a fim de detectar precocemente mudanças pequenas na função pulmonar, antes que estas pudessem comprometer a ventilação.

Por fim, todos os pacientes que apresentavam teste positivo (queda de FEV1 maior que 15% de seu valor basal) recebiam broncodilatador até a reversão do FEV1 para 90% ou mais de seus valores basais.

---

---

## REFERÊNCIAS

---

## 5 REFERÊNCIAS

1. Stein RT, Holberg CJ, Morgan WJ, Wright AL, Lombardi E, Taussig L, Martinez FD. Peak flow variability, methacholine responsiveness and atopy as markers for detecting different wheezing phenotypes in childhood. *Thorax* 1997;52(11):946-952.
  2. Weiland SK, Bjorksten B, Brunekreef B, Cookson WO, von Mutius E, Strachan DP. Phase II of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC II): rationale and methods. *Eur Respir J* 2004;24(3):406-412.
  3. Strachan D, Sibbald B, Weiland S, Ait-Khaled N, Anabwani G, Anderson HR, Asher MI, Beasley R, Bjorksten B, Burr M, Clayton T, Crane J, Ellwood P, Keil U, Lai C, Mallol J, Martinez F, Mitchell E, Montefort S, Pearce N, Robertson C, Shah J, Stewart A, von Mutius E, Williams H. Worldwide variations in prevalence of symptoms of allergic rhinoconjunctivitis in children: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Pediatr Allergy Immunol* 1997;8(4):161-176.
  4. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J* 1998;12(2):315-335.
  5. Strannegard O, Strannegard IL. The causes of the increasing prevalence of allergy: is atopy a microbial deprivation disorder? *Allergy* 2001;56(2):91-102.
  6. Woolcock AJ, Reddel H, Trevillion L. Assessment of airway responsiveness as a guide to diagnosis, prognosis, and therapy in asthma. *Allergy Proc* 1995;16(1):23-26.
-

7. Singh J, Schwartz DA. Endotoxin and the lung: Insight into the host-environment interaction. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(2):330-333.
  8. Park JH, Gold DR, Spiegelman DL, Burge HA, Milton DK. House dust endotoxin and wheeze in the first year of life. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(2):322-328.
  9. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet* 1998;351(9111):1225-1232.
  10. Anderson HR. The epidemiological and allergic features of asthma in the New Guinea Highlands. *Clin Allergy* 1974;4(2):171-183.
  11. Van Niekerk CH, Weinberg EG, Shore SC, Heese HV, Van Schalkwyk J. Prevalence of asthma: a comparative study of urban and rural Xhosa children. *Clin Allergy* 1979;9(4):319-314.
  12. Keeley DJ, Neill P, Gallivan S. Comparison of the prevalence of reversible airways obstruction in rural and urban Zimbabwean children. *Thorax* 1991;46(8):549-553.
  13. Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, Schreuer M, Waser M, Maisch S, Carr D, Schierl R, Nowak D, von Mutius E. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001;358(9288):1129-1133.
  14. Riedler J, Eder W, Oberfeld G, Schreuer M. Austrian children living on a farm have less hay fever, asthma and allergic sensitization. *Clin Exp Allergy* 2000;30(2):194-200.
  15. von Mutius E, Martinez FD, Fritsch C, Nicolai T, Roell G, Thiemann HH. Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149(2 Pt 1):358-364.
  16. Braback L, Breborowicz A, Julge K, Knutsson A, Riiikjarv MA, Vasar M, Bjorksten B. Risk factors for respiratory symptoms and atopic sensitisation in the Baltic area. *Arch Dis Child* 1995;72(6):487-493.
  17. Paoletti P, Carmignani G, Viegi G, Carrozzi L, Bertieri C, Di Pede F, Mammini U, Giuntini C. Prevalence of asthma and asthma
-

- symptoms in a general population sample of north Italy. *Eur Respir J Suppl* 1989;6:527s-531s.
18. Burr ML, Butland BK, King S, Vaughan-Williams E. Changes in asthma prevalence: two surveys 15 years apart. *Arch Dis Child* 1989;64(10):1452-1456.
  19. Ninan TK, Russell G. Respiratory symptoms and atopy in Aberdeen schoolchildren: evidence from two surveys 25 years apart. *Bmj* 1992;304(6831):873-875.
  20. Hill R, Williams J, Tattersfield A, Britton J. Change in use of asthma as a diagnostic label for wheezing illness in schoolchildren. *Bmj* 1989;299(6704):898.
  21. Peat JK, van den Berg RH, Green WF, Mellis CM, Leeder SR, Woolcock AJ. Changing prevalence of asthma in Australian children. *Bmj* 1994;308(6944):1591-1596.
  22. Manfreda J, Becker AB, Wang PZ, Roos LL, Anthonisen NR. Trends in physician-diagnosed asthma prevalence in Manitoba between 1980 and 1990. *Chest* 1993;103(1):151-157.
  23. Weitzman M, Gortmaker SL, Sobol AM, Perrin JM. Recent trends in the prevalence and severity of childhood asthma. *Jama* 1992;268(19):2673-2677.
  24. DATASUS MdSGF. Informações de Saúde - DATASUS. In: Saúde Md, editor. Volume 2005: Ministério da Saúde / Governo Federal; 2002.
  25. Panickar JR, Dodd SR, Smyth RL, Couriel JM. Trends in death from respiratory illness in children in England and Wales from 1968 to 2000. *Thorax* 2005;thx.2005.044750.
  26. Werneck G, Ruiz S, Hart R, White M, Romieu I. Prevalence of asthma and other childhood allergies in Brazilian schoolchildren. *J Asthma* 1999;36(8):677-690.
  27. Chatkin MN, Menezes AM. [Prevalence and risk factors for asthma in schoolchildren in southern Brazil]. *J Pediatr (Rio J)* 2005;81(5):411-416.
  28. Castro-Rodriguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Halonen M, Taussig LM, Morgan WJ, Martinez FD. Association of radiologically ascertained pneumonia before age 3 yr with asthmalike symptoms
-

- and pulmonary function during childhood: a prospective study. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159(6):1891-1897.
29. Rakes GP, Arruda E, Ingram JM, Hoover GE, Zambrano JC, Hayden FG, Platts-Mills TA, Heymann PW. Rhinovirus and respiratory syncytial virus in wheezing children requiring emergency care. IgE and eosinophil analyses. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159(3):785-790.
  30. Penny ME, Murad S, Madrid SS, Herrera TS, Pineiro A, Caceres DE, Lanata CF. Respiratory symptoms, asthma, exercise test spirometry, and atopy in schoolchildren from a Lima shanty town. *Thorax* 2001;56(8):607-612.
  31. Peat JK, Salome CM, Woolcock AJ. Longitudinal changes in atopy during a 4-year period: relation to bronchial hyperresponsiveness and respiratory symptoms in a population sample of Australian schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85(1 Pt 1):65-74.
  32. Lemanske RF, Jr. Issues in understanding pediatric asthma: epidemiology and genetics. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109(6 Suppl):S521-524.
  33. Openshaw PJ, Yamaguchi Y, Tregoning JS. Childhood infections, the developing immune system, and the origins of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114(6):1275-1277.
  34. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(5):1501-1507.
  35. Wenzel SE, Gibbs RL, Lehr MV, Simoes EA. Respiratory outcomes in high-risk children 7 to 10 years after prophylaxis with respiratory syncytial virus immune globulin. *Am J Med* 2002;112(8):627-633.
  36. Kelly YJ, Brabin BJ, Milligan P, Heaf DP, Reid J, Pearson MG. Maternal asthma, premature birth, and the risk of respiratory morbidity in schoolchildren in Merseyside. *Thorax* 1995;50(5):525-530.
  37. Steffensen FH, Sorensen HT, Gillman MW, Rothman KJ, Sabroe S, Fischer P, Olsen J. Low birth weight and preterm delivery as risk factors for asthma and atopic dermatitis in young adult males. *Epidemiology* 2000;11(2):185-188.
-

38. Lotvall J, Inman M, O'Byrne P. Measurement of airway hyperresponsiveness: new considerations. *Thorax* 1998;53(5):419-424.
  39. Tiffeneau R. Not Available. *Acta Allergol* 1958;12(Suppl 5):187-221.
  40. Toelle BG, Peat JK, Salome CM, Mellis CM, Woolcock AJ. Toward a definition of asthma for epidemiology. *Am Rev Respir Dis* 1992;146(3):633-637.
  41. Zhong NS, Chen RC, M Oy, Wu JY, Fu WX, Shi LJ. Bronchial hyperresponsiveness in young students of southern China: relation to respiratory symptoms, diagnosed asthma, and risk factors. *Thorax* 1990;45(11):860-865.
  42. Sparrow D, O'Connor G, Colton T, Barry CL, Weiss ST. The relationship of nonspecific bronchial responsiveness to the occurrence of respiratory symptoms and decreased levels of pulmonary function. The Normative Aging Study. *Am Rev Respir Dis* 1987;135(6):1255-1260.
  43. Roorda RJ, Gerritsen J, Van Aalderen WM, Schouten JP, Veltman JC, Weiss ST, Knol K. Risk factors for the persistence of respiratory symptoms in childhood asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993;148(6 Pt 1):1490-1495.
  44. Kerstjens HA, Overbeek SE, Schouten JP, Brand PL, Postma DS. Airways hyperresponsiveness, bronchodilator response, allergy and smoking predict improvement in FEV1 during long-term inhaled corticosteroid treatment. Dutch CNSLD Study Group. *Eur Respir J* 1993;6(6):868-876.
  45. Boezen HM, Postma DS, Schouten JP, Kerstjens HA, Rijcken B. PEF variability, bronchial responsiveness and their relation to allergy markers in a random population (20-70 yr). *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154(1):30-35.
  46. Miranda C, Busacker A, Balzar S, Trudeau J, Wenzel SE. Distinguishing severe asthma phenotypes: role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113(1):101-108.
  47. Djukanovic R. Airway inflammation in asthma and its consequences: implications for treatment in children and adults. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109(6 Suppl):S539-548.
-

48. Heaton T, Rowe J, Turner S, Aalberse RC, de Klerk N, Suriyaarachchi D, Serralha M, Holt BJ, Hollams E, Yerkovich S, Holt K, Sly PD, Goldblatt J, Le Souef P, Holt PG. An immunoepidemiological approach to asthma: identification of in-vitro T-cell response patterns associated with different wheezing phenotypes in children. *Lancet* 2005;365(9454):142-149.
  49. Pearce N, Beasley R, Pekkanen J. Role of bronchial responsiveness testing in asthma prevalence surveys. *Thorax* 2000;55(5):352-354.
  50. Peat JK, Toelle BG, Gray EJ, Haby MM, Belousova E, Mellis CM, Woolcock AJ. Prevalence and severity of childhood asthma and allergic sensitisation in seven climatic regions of New South Wales. *Med J Aust* 1995;163(1):22-26.
  51. Cane RS, Ranganathan SC, McKenzie SA. What do parents of wheezy children understand by "wheeze"? *Arch Dis Child* 2000;82(4):327-332.
  52. Britton J, Pavord I, Richards K, Knox A, Wisniewski A, Wahedna I, Kinnear W, Tattersfield A, Weiss S. Factors influencing the occurrence of airway hyperreactivity in the general population: the importance of atopy and airway calibre. *Eur Respir J* 1994;7(5):881-887.
  53. Burrows B, Sears MR, Flannery EM, Herbison GP, Holdaway MD. Relationships of bronchial responsiveness assessed by methacholine to serum IgE, lung function, symptoms, and diagnoses in 11-year-old New Zealand children. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90(3 Pt 1):376-385.
  54. Peat JK, Tovey E, Mellis CM, Leeder SR, Woolcock AJ. Importance of house dust mite and *Alternaria* allergens in childhood asthma: an epidemiological study in two climatic regions of Australia. *Clin Exp Allergy* 1993;23(10):812-820.
  55. Peat JK, Toelle BG, Marks GB, Mellis CM. Continuing the debate about measuring asthma in population studies. *Thorax* 2001;56(5):406-411.
  56. Joos GF. Bronchial hyperresponsiveness: too complex to be useful? *Curr Opin Pharmacol* 2003;3(3):233-238.
  57. Pauwels R, Joos G, Van der Straeten M. Bronchial hyperresponsiveness is not bronchial hyperresponsiveness is not bronchial asthma. *Clin Allergy* 1988;18(4):317-321.
-

58. Van Den Berge M, Meijer RJ, Kerstjens HA, de Reus DM, Koeter GH, Kauffman HF, Postma DS. PC(20) adenosine 5'-monophosphate is more closely associated with airway inflammation in asthma than PC(20) methacholine. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(7):1546-1550.
  59. Hofstra WB, Neijens HJ, Duiverman EJ, Kouwenberg JM, Mulder PG, Kuethe MC, Sterk PJ. Dose-responses over time to inhaled fluticasone propionate treatment of exercise- and methacholine-induced bronchoconstriction in children with asthma. *Pediatr Pulmonol* 2000;29(6):415-423.
  60. O'Sullivan S, Roquet A, Dahlen B, Larsen F, Eklund A, Kumlin M, O'Byrne PM, Dahlen SE. Evidence for mast cell activation during exercise-induced bronchoconstriction. *Eur Respir J* 1998;12(2):345-350.
  61. Godfrey S, Springer C, Noviski N, Maayan C, Avital A. Exercise but not methacholine differentiates asthma from chronic lung disease in children. *Thorax* 1991;46(7):488-492.
  62. Riedler J, Reade T, Dalton M, Holst D, Robertson C. Hypertonic saline challenge in an epidemiologic survey of asthma in children. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150(6 Pt 1):1632-1639.
  63. Salome CM, Peat JK, Britton WJ, Woolcock AJ. Bronchial hyperresponsiveness in two populations of Australian schoolchildren. I. Relation to respiratory symptoms and diagnosed asthma. *Clin Allergy* 1987;17(4):271-281.
  64. Burrows B, Martinez FD, Halonen M, Barbee RA, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Engl J Med* 1989;320(5):271-277.
  65. von Mutius E, Martinez FD, Fritzsche C, Nicolai T, Reitmeir P, Thiemann HH. Skin test reactivity and number of siblings. *Bmj* 1994;308(6930):692-695.
  66. Pearce N, Pekkanen J, Beasley R. How much asthma is really attributable to atopy? *Thorax* 1999;54(3):268-272.
  67. Lewis S. ISAAC--a hypothesis generator for asthma? International Study of Asthma and Allergies in Childhood. *Lancet* 1998;351(9111):1220-1221.
-

68. Bjorksten B, Kjellman NI. Perinatal environmental factors influencing the development of allergy. *Clin Exp Allergy* 1990;20 Suppl 3:3-8.
  69. Diaz-Sanchez D, Dotson AR, Takenaka H, Saxon A. Diesel exhaust particles induce local IgE production in vivo and alter the pattern of IgE messenger RNA isoforms. *J Clin Invest* 1994;94(4):1417-1425.
  70. Yemaneberhan H, Bekele Z, Venn A, Lewis S, Parry E, Britton J. Prevalence of wheeze and asthma and relation to atopy in urban and rural Ethiopia. *Lancet* 1997;350(9071):85-90.
  71. Brabin BJ, Kelly Y. Prevalence of childhood asthma in the tropics. *Ann Trop Paediatr* 1998;18 Suppl:S33-39.
  72. Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 2002;296(5567):490-494.
  73. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *Bmj* 1989;299(6710):1259-1260.
  74. Matricardi PM, Bonini S. High microbial turnover rate preventing atopy: a solution to inconsistencies impinging on the Hygiene hypothesis? *Clin Exp Allergy* 2000;30(11):1506-1510.
  75. Scrivener S, Yemaneberhan H, Zebenigus M, Tilahun D, Girma S, Ali S, McElroy P, Custovic A, Woodcock A, Pritchard D, Venn A, Britton J. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study. *Lancet* 2001;358(9292):1493-1499.
  76. Lynch NR, Lopez RI, Di Prisco-Fuenmayor MC, Hagel I, Medouze L, Viana G, Ortega C, Prato G. Allergic reactivity and socio-economic level in a tropical environment. *Clin Allergy* 1987;17(3):199-207.
  77. Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M, Cruz AA, Sousa-Atta L, Sole D, Carvalho EM. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123(2):145-148.
  78. Carrillo Diaz T, Castillo Sainz R. [Zoonoses and asthma]. *Arch Bronconeumol* 2004;40(6):247-249.
-

79. Lynch NR, Hagel I, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Alvarez N. Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92(3):404-411.
  80. van den Biggelaar AH, van Ree R, Rodrigues LC, Lell B, Deelder AM, Kremsner PG, Yazdanbakhsh M. Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet* 2000;356(9243):1723-1727.
  81. Nyan OA, Walraven GE, Banya WA, Milligan P, Van Der Sande M, Ceesay SM, Del Prete G, McAdam KP. Atopy, intestinal helminth infection and total serum IgE in rural and urban adult Gambian communities. *Clin Exp Allergy* 2001;31(11):1672-1678.
  82. Faniran AO, Peat JK, Woolcock AJ. Prevalence of atopy, asthma symptoms and diagnosis, and the management of asthma: comparison of an affluent and a non-affluent country. *Thorax* 1999;54(7):606-610.
  83. Lynch NR, Palenque M, Hagel I, DiPrisco MC. Clinical improvement of asthma after anthelmintic treatment in a tropical situation. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(1):50-54.
  84. Spillmann RK. Pulmonary ascariasis in tropical communities. *Am J Trop Med Hyg* 1975;24(5):791-800.
  85. Cooper PJ. Can intestinal helminth infections (geohelminths) affect the development and expression of asthma and allergic disease? *Clin Exp Immunol* 2002;128(3):398-404.
  86. Holt PG, Macaubas C, Stumbles PA, Sly PD. The role of allergy in the development of asthma. *Nature* 1999;402(6760 Suppl):B12-17.
  87. Ferrari FP, Rosario Filho NA, Ribas LF, Callefe LG. [Prevalence of asthma in schoolchildren in Curitiba - ISAAC]. *J Pediatr (Rio J)* 1998;74(4):299-305.
  88. Taudorf E, Malling HJ, Laursen LC, Lanner A, Weeke B. Reproducibility of histamine skin prick test. Inter- and intravariation using histamine dihydrochloride 1, 5, and 10 mg/ml. *Allergy* 1985;40(5):344-349.
  89. Castilho VL, Franca IL, Monteiro CJ, Amato Neto V, Campos R, Moreira AA. [Comparative study of Faust et al. and Ritchie methods for parasitological examinations of feces]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1980;22(6):319-322.
-

- 
90. Graeff-Teixeira C, Medeiros E, Zanini GM, Brasil CA, Cardozo BL, Dalpiaz MG, Bisol LW. Inexpensive alternative material for the isolation of larvae with the Baermann method. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997;92(3):399-400.
  91. Odongo-Aginya EI, Taylor MG, Sturrock RF, Ackers JP, Doehring E. Field evaluation of an improved Kato-Katz thick smear technique for quantitative determination of helminth eggs in faeces. *Trop Med Parasitol* 1995;46(4):275-277.
  92. Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1972;14(6):397-400.
  93. Polgar C PV. Standard values. In: *Pulmonary function testing in children: techniques and standards*. Saunders W, editor. Philadelphia; 1971. 87-122 p.
  94. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, Hankinson JL, Irvin CG, MacIntyre NR, McKay RT, Wanger JS, Anderson SD, Cockcroft DW, Fish JE, Sterk PJ. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(1):309-329.
  95. Joos GF, O'Connor B, Anderson SD, Chung F, Cockcroft DW, Dahlen B, DiMaria G, Foresi A, Hargreave FE, Holgate ST, Inman M, Lotvall J, Magnussen H, Polosa R, Postma DS, Riedler J. Indirect airway challenges. *Eur Respir J* 2003;21(6):1050-1068.
-

---

## **PARTE II (ARTIGO)**

---

## INTRODUÇÃO

Sibilância na infância está associada a diferentes formas de expressão clínica, com grande variabilidade de sintomas, mecanismos fisiopatogênicos e fatores de risco específicos para os fenótipos mais prevalentes<sup>1</sup>.

A maior parte dos estudos que avaliam o papel da hiper-reatividade brônquica (HRB) na gênese da asma foi conduzida em países desenvolvidos, onde se observa maior prevalência de um fenótipo atópico e significativa associação com HRB<sup>2,3</sup>. No entanto, estas populações gozam de condições sócio-econômicas distintas das encontradas em muitas partes do mundo em desenvolvimento. Foi postulado na literatura que a exposição reduzida a infecções virais e bacterianas<sup>4</sup>, a redução nos níveis de aleitamento materno<sup>5</sup>, o aumento da inalação de produtos da combustão de derivados fósseis<sup>6</sup> e alterações ambientais domiciliares (como boas condições de saneamento)<sup>7</sup> poderiam levar a um aumento na sensibilização alérgica, conseqüentemente aumentando a prevalência de HRB nos países desenvolvidos.

A bronquiolite nos primeiros anos de vida<sup>8</sup>, a prematuridade<sup>9,10</sup>, a história familiar positiva para asma, o tabagismo passivo e a presença de alérgenos em abundância também estão associados à asma<sup>2,9</sup>, embora não se tenha conhecimento pleno de como ocorrem estas interações em uma população onde as condições sócio-econômicas são deficientes. No sul do Brasil, a prevalência cumulativa de asma varia entre 21,9 a 31%<sup>11,12</sup>, o que o

---

coloca acima da média na América Latina e com padrões muito semelhantes aos de países desenvolvidos<sup>13</sup>. Dados recentes de estudos realizados em populações de baixa renda indicam que a associação de sibilância e atopia é menos importante do que a encontrada entre populações mais afluentes<sup>14</sup> e de que o mesmo parece acontecer em relação a HRB. Também há poucos estudos que, além da atopia e da HRB, avaliam a associação de outros fatores na ocorrência de asma nesta população. Em populações estudadas em países em desenvolvimento as parasitoses parecem desempenhar um papel importante na modulação da resposta imune. Vários estudos já demonstraram associação inversa entre parasitose e asma do tipo alérgica<sup>15 16</sup>, a despeito do ciclo pulmonar conhecido de parasitas de alta prevalência como o *Ascaris lumbricoides*, os ancilostomídeos e *Strongyloides stercoralis*. No entanto, a relação entre a infecção parasitária e HRB não está totalmente esclarecida. É possível que grande parte das associações entre parasitose e sibilância sejam mediadas por fatores locais ou mecânicos ao invés de traduzirem eventos inflamatórios ou imunológicos, com manifestação de HRB..

A falta de um teste diagnóstico de padrão ouro e a variedade de protocolos propostos geram dificuldades adicionais no estudo destas associações. Não existe, até o momento, um dado ou exame complementar único que possa ser considerado definitivo em classificar o paciente com asma, principalmente nos primeiros anos de vida. Métodos indiretos de avaliação da HRB, como a nebulização com solução salina hipertônica, induzem limitação no fluxo de ar sem atuar sobre células envolvidas diretamente na contração do

---

músculo liso. Estes estímulos atuam sobre células epiteliais e inflamatórias das vias aéreas, além de nervos que, estimulados, liberam mediadores e neurotransmissores que provocam a contração do músculo liso<sup>17</sup>. O uso da broncoprovocação com solução salina hipertônica vem sendo amplamente utilizado em estudos por oferecer vantagens em relação aos métodos anteriormente usados: são seguros, de fácil execução, de baixo custo e apresentam maior relação com sinais clínicos e inflamação da via aérea do que os métodos diretos<sup>18</sup>.

O objetivo deste estudo é verificar a relação entre a sibilância ocorrida nos últimos 12 meses e HRB em uma população de escolares de uma cidade de baixo desenvolvimento sócio-econômico do sul do Brasil, avaliando também de que modo outros fatores de alta prevalência nesta população estão relacionados à HRB.

---

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foi utilizada uma amostra selecionada entre 1982 escolares de 4 e 5<sup>a</sup> séries do ensino básico que participam de uma coorte em estudo na cidade de Uruguaiana, no sul do Brasil e que responderam a um questionário padronizado, de acordo com o protocolo do estudo ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood), englobando perguntas acerca da história atual e progressão de eventos respiratórios, potenciais fatores de risco para asma ou alergia e dados demográficos. Das 1119 que realizaram testes cutâneos para avaliação de atopia e exames parasitológicos de fezes para diagnóstico de parasitoses, 120 crianças foram escolhidas por método aleatório, e alocadas em dois grupos, de casos (história positiva de sibilância nos últimos doze meses, por questionário) e de controles (sem história prévia de asma alguma vez na vida ou sibilância nos últimos 12 meses).

Os critérios de exclusão foram incapacidade em realizar manobras expiratórias coordenadas, volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) menor do que 75% do previsto para a estatura, infecção respiratória aguda e desconforto com o procedimento ou tosse excessiva. Foram excluídos também escolares que tivessem feito uso de algum medicamento que pudesse alterar o resultado dos testes, como broncodilatadores (usados até 6 horas antes do teste e 24 horas antes do teste para os de longa duração), xantinas (12 horas) e anti-histamínicos (48 horas). Os escolares excluídos que

---

apresentavam VEF1 menor que 75% do previsto recebiam broncodilatador (salbutamol – 400 µg através de aerosol conectado a espaçador) e repetiam as provas de função 10 minutos após.

**Definição das variáveis:**

HRB: definida como uma queda maior do que 15% no valor basal do VEF1 de cada sujeito após a exposição à solução salina hipertônica;

Nível de escolaridade materna: foi definido como até oito o número de anos de escolaridade baixa;

Tabagismo materno atual: positivo quando a pergunta "A mãe de seu/sua filho/(a) fuma atualmente?" era respondida afirmativamente;

Zona pobre: De acordo com o protocolo ISAAC, zona pobre é caracterizada pela ausência de parques ou praças na vizinhança.

Bronquiolite: relato de internação hospitalar ou atendimento em serviço de emergência nos dois primeiros anos de vida por bronquiolite;

Parasitose: presença de qualquer parasita intestinal em ao menos uma amostra de fezes estudada. Giardíase foi definida como ao menos um exame positivo para *Giardia lamblia*. Helmintíase como qualquer helminto encontrado e "alta

---

---

carga” de helmintos foi definida como a presença de mais de 100 ovos por grama de fezes analisada.

Sibilância: foram definidas como sibilantes aquelas crianças que tiveram resposta positiva à pergunta "Seu/sua filho(a) apresentou sibilos (chiado ou miado de gato) no peito nos últimos doze meses?" . O valor negativo desta variável foi constituído através da combinação de duas respostas negativas à pergunta sobre sibilância nos últimos doze meses (referida acima) e à outra que se refere ao diagnóstico de asma alguma vez na vida ("Seu/sua filho/a teve asma alguma vez na vida?"). Asma ativa foi definida como a combinação entre sibilância nos últimos doze meses e o diagnóstico de asma alguma vez na vida.

### **Testes cutâneos**

Foram aplicados testes cutâneos para seis alérgenos ambientais comuns, assim como controles negativo (diluyente) e positivo (histamina). As lancetas utilizadas foram fornecidas pelo laboratório ALK (Holsholm, Dinamarca), assim como os extratos de alérgenos, que eram acondicionados sob refrigeração e a salvo de contaminação. Os aplicadores receberam treinamento e foram avaliados durante a aplicação dos testes a fim de garantir a reprodutibilidade. Todos os testes foram aplicados entre as oito e as treze horas a fim de não sofrerem com variações circadianas.

---

### **Exames parasitológicos**

Todos os escolares tiveram três amostras de fezes coletadas em dias diferentes, acondicionadas em recipiente fornecido para pesquisa de parasitas. As fezes eram levadas para análise dentro de 24 horas a contar da coleta e eram realizadas no mesmo laboratório de análises. Após a preparação, as submetia a três processos distintos de análise, pelo mesmo profissional. Inicialmente era feito o teste de Ritchie<sup>19</sup>, para identificar principalmente helmintos. A seguir, o método de Baerman<sup>20</sup>, que identifica *Strongyloides stercoralis* e *Giardia lamblia*, e finalmente o método de Kato-Katz, que permite quantificar ovos de helmintos nas fezes<sup>21,22</sup>. Algumas amostras sorteadas aleatoriamente foram também analisadas em outro laboratório a fim de garantir a qualidade dos exames.

### **Protocolo de broncoprovocação com solução salina hipertônica**

Para o registro dos índices pulmonares foi usado um aparelho de espirometria da marca Superspiro<sup>®</sup>, da empresa Micro Medical. Foram obtidas curvas expiratórias forçadas onde se registrou o volume expiratório forçado no primeiro segundo. O traçado das curvas obtidas também era analisado a fim de garantir boa cooperação e entendimento dos sujeitos.

---

### Solução de nebulização

Foi obtida com água destilada e preparada a cada turno, em temperatura ambiente. Adicionava-se 45 g de NaCl em 1000 mL de água, com concentração final de 4,5%, concentração que conferia à solução um gosto semelhante à água do mar tendo sido utilizado um nebulizador ultra-sônico.

### Procedimento

O protocolo utilizado foi traduzido do original em inglês, como definido no manual do estudo ISAAC-fase II<sup>23</sup>.

Inicialmente todos os pacientes foram medidos, com trena aferida para fins de pesquisa. A seguir, a avaliação espirométrica definiu os sujeitos adequados ao critério de inclusão principal, qual seja, FEV1 maior que 75% do previsto (valores de referência: tabela de Polgar<sup>24</sup>). Uma instrução e demonstração breves esclareciam os sujeitos acerca da exposição à solução salina e da realização das manobras expiratórias forçadas. A seguir, um mínimo de duas manobras expiratórias eram obtidas e registradas. Caso houvesse diferença de mais de 5% em seus valores absolutos, uma terceira manobra era

---

---

realizada, considerando-se as duas melhores como sendo significativas e a de maior valor como a referência e valor basal.

Após 30 segundos de exposição inicial em até um minuto eram tomadas novas medidas de FEV1, também obedecendo aos critérios de reprodutibilidade da American Thoracic Society <sup>25</sup>. Caso os valores de FEV1 fossem menores que 85% do valor basal, o teste era considerado positivo e as inalações suspensas. Caso a queda fosse entre 90 e 85% do valor basal, o tempo de exposição era mantido igual ao último realizado. O tempo restante era recalculado a fim de que o tempo total de inalação não ultrapassasse um total de 15 minutos e 30 segundos. Caso após duas repetições do mesmo tempo o FEV1 não caísse mais que 85% do valor basal, o tempo era dobrado. Nos casos de queda menor que 10% do valor basal, o tempo era dobrado. Esse critério permanecia válido para todas as etapas de inalação. O início do período subsequente de inalação começava dentro de 3 minutos desde o fim da última exposição. Quando não eram necessárias repetições, os tempos de exposição eram de 30 segundos, 1, 2, 4 e 8 minutos.

Nos casos de resposta positiva à broncoprovocação com solução salina hipertônica, os sujeitos recebiam salbutamol (400µg através de spray conectado a espaçador) e repetiam suas provas de função pulmonar após 10 minutos. Nenhuma criança era liberada do local de exame até que houvesse a reversão até 90% do valor basal, permanecendo sob vigilância clínica durante

---

todo o tempo. Todos os valores foram registrados nas planilhas e folhas de registro.

### Segurança

Foram tomados cuidados para a realização do procedimento com suporte de equipamento necessário para a reversão de eventuais reduções importantes do VEF1 conforme protocolo da European Respiratory Society<sup>26</sup> também seguidos pelo protocolo do ISAAC<sup>23</sup>. Todos os exames foram feitos na presença de médico (pesquisador) habilitado em Suporte Avançado de Vida com certificação da American Heart Association e Sociedade Brasileira de Pediatria. Rápido acesso a oxigênio, oximetria de pulso e material para manejo avançado de vias aéreas foi também garantido.

Foi coletado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de responsável de cada um dos escolares. O presente estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Lucas da PUC/RS.

---

## RESULTADOS

1199 crianças responderam ao questionário ISAAC, tiveram teste cutâneo aplicado e coletaram fezes para EPF. As crianças foram sendo sorteadas aleatoriamente até que fossem alocadas em dois grupos 60 crianças com história de sibilância nos últimos 12 meses e 60 sem história de sibilância nos últimos 12 meses ou asma alguma vez na vida.

A média de idade dos escolares foi de 10,17 anos ( $\pm 0,78$ ), não havendo diferença estatística entre as médias de idade entre os dois grupos ( $p=0,4$ ).

A amostra selecionada mostrou-se representativa da população que vem sendo estudada em Uruguaiana. Nesta, 40,3% das crianças apresentam infestação ativa por algum parasita e a prevalência de sibilância nos doze meses precedentes à pesquisa foi de 25,7%. No entanto, o diagnóstico de asma atual, que refere-se à combinação de sibilância nos últimos doze meses associado a diagnóstico prévio de asma foi de apenas 9,3% na população geral do estudo. Não houve diferença também em relação à população da coorte em estudo quanto a parâmetros como tabagismo materno, história materna de asma, prematuridade e habitação em zona pobre. Os outros fatores como bronquiolite antes dos dois anos de idade e mesmo a história de asma atual não puderam ser controlados em função da seleção da amostra basear-se no sorteio de casos-controle com história recente de sibilância, já sabidamente associados à HRB. A atopia, no entanto, mesmo largamente associada à asma,

não apresentou diferença ao separarmos as crianças nos dois grupos, de sibilantes e não sibilantes, da população geral (13,3%).

Na tabela 1 apresentamos as características da população selecionada para o presente estudo, que tem baixo nível sócio-cultural (média de anos de escolaridade materna:  $5,9 \pm 2,6$ ) e vive em zona considerada pobre, ou seja, com poucas árvores e praças.

**Tabela 1- Características da população estudada, estratificada por grupos de sibilantes e não-sibilantes\*.**

Características avaliadas	Sibilantes N (%)	Não-sibilantes N (%)	Valor de p
Sexo masculino	29 (59)	23 (47,9)	0,3
Escolaridade materna $\geq 8$ anos	6 (12,2)	10 (20,8)	0,2
Tabagismo Materno	15 (30,6)	11 (22,9)	0,4
História materna de asma	5 (10,2)	4 (8,5)	0,7
Prematuridade	9 (19,6)	5 (10,9)	0,2
Atopia	8 (16,3)	6 (12,8)	0,6
Moradia em zona pobre	46 (93,9)	47 (97,9)	0,3
Parasitose	23 (47,9)	24 (50)	0,8
Giardíase	9 (18,8)	4 (8,3)	0,1
Helmintos	10 (20,8)	13 (27,1)	0,4
Carga alta de helmintos**	4 (8,3)	5 (10,4)	0,7
Bronquiolite	7 (14,3)	0	0,07
Asma atual	16 (32,7)	0	$\leq 0,01$

\* O número total de sujeitos em cada grupo foi variável em algumas características avaliadas.

\*\* Carga alta de helmintos definida como a presença de mais de cem ovos por campo visualizado no exame parasitológico de fezes com o método de Kato-Katz.

Do total de 120 crianças sorteadas inicialmente, duas recusaram-se a assinar termo de consentimento, dez não foram localizadas (mudança ou troca de endereço), duas moravam fora da zona urbana de Uruguaiana e outras seis foram excluídas por apresentarem infecção de vias aéreas superiores ou não tolerarem o exame com tosse e sialorréia abundante. Três pacientes apresentaram VEF1 <75% do previsto para a estatura e foram excluídos do estudo, recebendo broncodilatador. Ao repetirem as provas após 10 minutos todos apresentaram aumento do VEF1 (de 5,3 a 7,8%). Ao todo, vinte e três pacientes foram excluídos do protocolo.

## **FUNÇÃO PULMONAR E BRONCOPROVOCAÇÃO**

Conforme o método descrito acima, 97 crianças foram submetidas ao teste de broncoprovocação.

Os dois grupos apresentaram percentuais de VEF1 para a estatura semelhantes antes do início das nebulizações ( $p=0,8$ ). Do mesmo modo, o débito gerado pelo nebulizador não diferiu entre os dois grupos (grupo de sibilantes: 1,24 ml/min  $\pm$  0,36; grupo controle: 1,25 ml/min  $\pm$  0,48;  $p=0,9$ ). Isto é importante na medida em que um grupo com débito maior que o outro poderia levar a uma menor exposição à solução salina levando a erro de aferição.

Em relação às outras variáveis principais (helmintos, giardíase, alta carga de helmintos) também não houve diferença em relação ao VEF1 basal e ao débito gerado pelo nebulizador entre os grupos.

Ao todo, 17 (17,5% das crianças testadas) apresentaram queda maior que 15% nos valores de VEF1 basais após a nebulização com solução salina hipertônica, sendo 10 do grupo de sibilantes. Nenhuma das crianças submetidas ao teste necessitou de suporte ventilatório ou qualquer outro recurso além de medicação broncodilatadora via inalatória durante ou após o exame.

Os grupos apresentaram percentuais semelhantes de VEF1 após o teste: 91,0% ( $\pm 7,68$ ) nos sibilantes e 92,8% ( $\pm 6,73$ ) nos não-sibilantes. Abaixo, as curvas de resposta de todas as crianças, divididos por grupos.

---

Figura 1- Curvas de tempo e resposta nas crianças sem história de sibilância nos últimos doze meses (n=48).

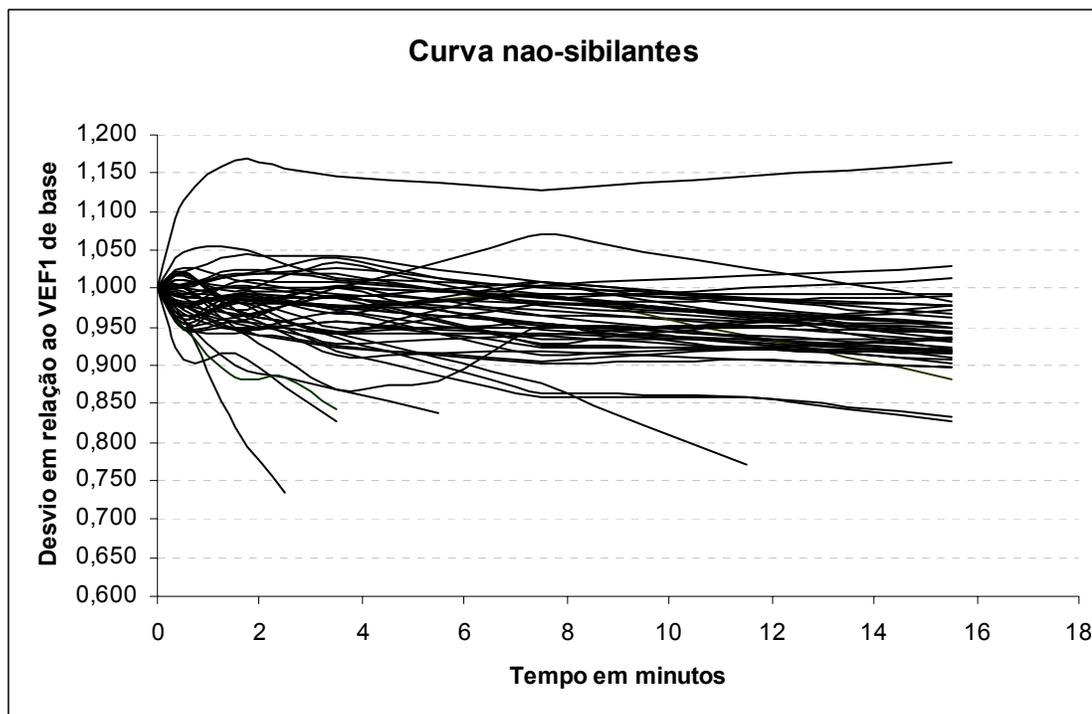
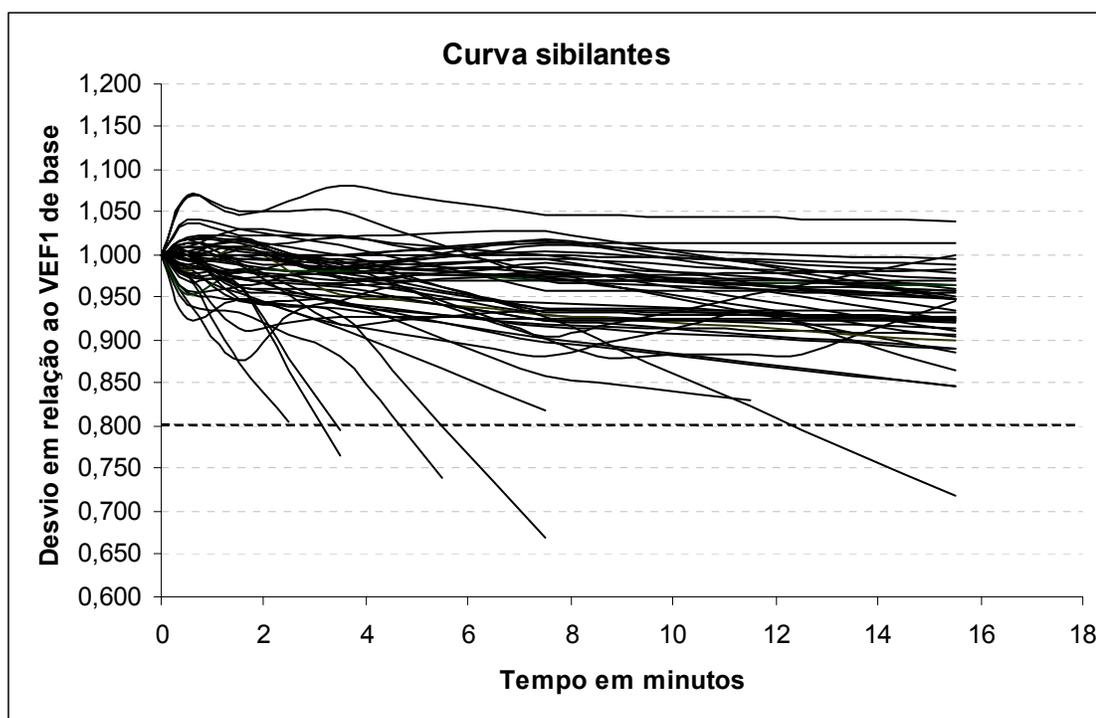


Figura 2- Curvas de tempo e resposta nas crianças com história de sibilância nos últimos doze meses (n=49).



A tabela 2 mostra a relação do teste de broncoprovocação com solução salina hipertônica com as variáveis testadas.

**Tabela 2- Características das crianças com resposta positiva à broncoprovocação com solução salina hipertônica ( $\geq 15\%$  de queda do VEF1)\*.**

Variáveis de interesse		n/N	%	OR (IC 95%)	p
Gênero	Masc	12/52	23,1	0,41 (0,1 – 1,3)	0,2
	Fem	5/45	11,1		
História Materna de asma	Não	15/87	17,2	1,3 (0,2 – 7,2)	0,7
	Sim	2/9	22,2		
Bronquiolite < 2 anos	Não	14/90	15,6	4,0 (0,8 – 20,2)	0,1
	Sim	3/7	42,9		
Escolaridade materna $\geq 8$ anos	Não	16/81	19,8	0,2 (0,03 – 2,2)	0,2
	Sim	1/16	6,3		
Tabagismo materno	Não	14/71	19,7	0,5 (0,1 – 2,0)	0,3
	Sim	3/26	11,5		
Prematuridade	Não	12/78	15,4	0,9 (0,2 – 4,6)	0,6
	Sim	2/14	14,3		
Mora em bairro pobre	Não	1/4	25	0,6 (0,06 – 6,3)	0,7
	Sim	16/93	17,2		
Sibilância nos últimos 12 meses	Não	7/48	14,6	1,5 (0,5 – 4,3)	0,4
	Sim	10/49	20,4		
Asma atual	Não	13/80	16,3	1,5 (0,4 – 5,6)	0,4
	Sim	4/17	23,5		
Teste cutâneo positivo	Não	13/82	15,9	2,1 (0,5 – 7,8)	0,2
	Sim	4/14	28,6		
Parasitose	Não	8/49	16,3	1,0 (0,3 – 3,0)	0,9
	Sim	8/47	17		
Helmintíase	Não	11/73	15,1	1,5 (0,4 – 5,0)	0,4
	Sim	5/23	21,7		
Giardíase	Não	16/83	19,2	0,8 (0,7 – 0,9)	0,08
	Sim	0/13	0		
Carga alta de helmintos**	Não	12/87	13,8	5,0 (1,1 – 21,3)	0,02
	Sim	4/9	44,4		

\* Há variáveis onde faltaram algumas informações.

\*\* Carga alta de helmintos é definida como a presença de mais de 100 ovos por campo no exame parasitológico de fezes com o método de Kato-Katz.

## DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que a associação entre sibilância nos últimos doze meses e HRB, medida por teste de provocação com solução hipertônica, não foi estaticamente significativa na população de escolares estudada em Uruguaiana. Outros fatores de risco, como infecção por helmintos, principalmente quando com carga alta, apresentaram associação positiva com sibilância. Inversamente, crianças que apresentaram infecção intestinal por *Giardia lamblia*, estavam "protegidas" de apresentar HRB medida com solução salina hipertônica.

Embora o desenho do estudo seja de um caso controle, com um grupo de casos constituído de crianças que apresentavam sibilos nos últimos 12 meses (independentemente de teste cutâneo positivo, i.e. atopia), e outro grupo com crianças que nunca sibilaram ou tiveram diagnóstico de asma não foi observada diferença significativa da prevalência de HRB positiva. A proporção encontrada de escolares com teste positivo (17,5%) foi semelhante à apresentada em outros estudos. Riedler e colaboradores, encontraram uma prevalência de HRB em 20,4% das crianças estudadas na cidade de Melbourne na Austrália <sup>27</sup>. Outro estudo realizado na Turquia também mostrou 21,8% de prevalência de HRB com o uso de solução salina hipertônica <sup>28</sup>. Vários outros estudos demonstram prevalências diferentes, mas, destes, poucos aplicaram metodologia idêntica, o que compromete a comparação de seus resultados.

---

---

Quando usado o protocolo de broncoprovocação com solução salina a 4,5% proposto pelo estudo ISAAC, os valores não parecem diferir significativamente. Embora a prevalência absoluta de HRB em nosso estudo possa não ser representativa da população em geral (uma vez que a amostra foi selecionada entre sibilantes e não-sibilantes), pela ausência de associação entre HRB e sibilância é possível que na população geral a prevalência não apresente grande diferença em relação ao encontrado nesta amostra mais reduzida.

Nosso estudo mostrou baixa relação entre sibilância recente e HRB, considerada um marcador clássico de asma. Alguns estudos epidemiológicos sobre a asma fazem a análise da prevalência de asma baseados na maioria das vezes somente em questionários, sem considerar métodos diagnósticos objetivos associados a um diagnóstico de maior certeza para asma, como são a atopia ou a HRB. Esta escolha metodológica pode induzir a uma sobre-estimação do diagnóstico de asma em uma população, uma vez que considera indivíduos sintomáticos (sibilantes, por diagnóstico baseado somente em questionário) como se fossem asmáticos. Outra maneira de interpretar a falta de associação entre HRB e sibilância recente é que a maioria das crianças com estes sintomas na amostra testada apresentava teste cutâneo negativo e portanto talvez sejam portadores de um fenótipo de asma não atópico, mais leve, e assim, menos propenso a hiper-reatividade brônquica. A necessidade de validar os dados de questionários já foi levantada anteriormente na literatura <sup>29</sup> e o presente estudo ao não mostrar associação entre HRB e dados de sibilância parece também corroborar esta hipótese.

---

---

A população estudada foi bastante representativa em relação à comunidade de Uruguaiana. Chama a atenção o fato de menos de 15% dos testes cutâneos aplicados ao total da população estudada (n=1199) apresentarem resultado positivo (dados não publicados, dissertação de mestrado Dra. Marilyn Pereira, 2004), apesar de uma alta prevalência de sibilância nos últimos 12 meses, com 25,7% de crianças com resposta positiva. Este dado sugere que esta população de baixa renda apresente um fenótipo de sibilância mais atenuado em relação ao fenótipo clássico, mediado por atopia. É possível que nesta população as agressões do meio ambiente, através de infecções que ocorrem com grande frequência desde os primeiros anos de vida, ou de fatores associados ao baixo desenvolvimento sócio-econômico, modulem a resposta imune significativamente, a ponto de atenuar a associação com atopia e, portanto, inibindo o aparecimento de um fenótipo mais grave de asma. Em uma população de características sócio-econômicas semelhantes, em uma favela da cidade de Lima no Peru, Penny e colaboradores também não encontraram associação entre atopia e HRB<sup>14</sup>. Outra possibilidade para a não concordância das prevalências de sibilância recente, atopia e HRB é a de que os familiares possam caracterizar outros eventos de vias aéreas como sendo sibilância, possibilidade que já foi demonstrada por Cane e colaboradores<sup>30</sup>.

Outras variáveis, além da atopia, como história de bronquiolite nos primeiros anos de vida, tabagismo materno e a história materna de asma, fatores reconhecidos como predisponentes à asma, não estavam associados à HRB.

---

---

Na análise da relação entre parasitoses e HRB, não houve diferença entre os dois grupos considerando apenas a infecção por helmintos ou mesmo qualquer parasitose. No entanto, houve uma associação estatisticamente significativa entre os pacientes infectados por uma carga alta de helmintos (>100 ovos/g) e HRB. As crianças infectadas por alta carga de helmintos apresentaram risco cinco vezes maior de HRB do que pacientes sem parasitose ou com baixa carga de helmintos. Há muito se reconhece o ciclo pulmonar de geohelmintos como sendo causa importante de sintomatologia pulmonar causando sinais e sintomas semelhantes à asma<sup>31</sup>. No entanto, pouco se sabe sobre a relação da HRB e helmintíase em humanos. Se, por um lado vários estudos já demonstraram a associação de helmintíase com HRB em modelos animais<sup>32,33</sup>, chama a atenção a quase inexistência de trabalhos publicados relacionando HRB em humanos ao ciclo pulmonar de helmintos como o *Ascaris lumbricoides*, o *Strongyloides stercoralis* e o *Ancilostoma duodenalis*, embora existam estudos mostrando associação de atopia e parasitose<sup>34</sup>. Apenas no caso da Eosinofilia Pulmonar Tropical, causado pelo aprisionamento de filárias na microvasculatura pulmonar, encontra-se relato de HRB documentada e sintomatologia característica de asma<sup>35</sup>.

Um estudo recente realizado na China avaliou crianças de alto risco para desenvolver asma, usando broncoprovocação com metacolina e avaliando, além dos exames parasitológicos, também história positiva de parasitose<sup>36</sup>. Este estudo, porém, tem desenho muito diferente do que foi usado em Uruguaiana, com diferenças metodológicas significativas, pois na China foi

---

usado um método de broncoprovocação direto (metacolina), menos recomendável para a avaliação de inflamação de via aérea que a solução salina hipertônica (indireto), além do que, a prevalência geral de asma naquele país foi de 5%, bem inferior ao levantado no RS. Também naquele estudo, a avaliação de parasitose foi feita através de exames de fezes ou através de resposta positiva a questionário.

Também é importante notar que a diferença encontrada só se mostra significativa naqueles escolares com alta taxa de infecção por helmintos, o que poderia sugerir que a nossa amostra era pequena e somente uma variável com maior poder discriminatório teria força suficiente para demonstrar uma associação. Alternativamente, somente sujeitos com um maior grau de infecção (e portanto maior chance de inflamação desencadeada pelo ciclo pulmonar dos helmintos) apresentariam risco maior de HRB.

Estes achados sugerem que, apesar de a infecção por helmintos provocar inibição da manifestação da atopia na pele provocada por alérgenos ambientais comuns, em nível pulmonar as manifestações de HRB desencadeiam sintomas de sibilância, semelhantes aos encontrados na asma. Achados recentes indicam que há desfechos distintos em relação a alergia quando os sujeitos são infectados crônica ou agudamente por geohelmintos. A estimulação persistente e maciça levaria a um estado de adaptação e inibição da resposta inflamatória atópica em nível pulmonar, enquanto que agressões agudas ou sazonais (bem documentadas em áreas de flutuação climática

---

---

importante, como em populações de melhor nível sócio-econômico) poderiam responder com um aumento do fenótipo atópico <sup>34</sup>. Este estudo não foi desenhado para verificar a frequência das infecções parasitárias nas crianças. Dados recentes de literatura indicam haver diferenças significativas na modulação de respostas imunes para infecções agudas ou crônicas. A infecção aguda ou sazonal por parasitas com ciclo pulmonar induz, além de inflamação eosinofílica direta pulmonar, uma reação exacerbada a antígenos não oriundos dos parasitas, como alérgenos aéreos. Nestes casos, a produção aumentada de IL-4 e IL-13 parece aumentar a síntese de IgE específica a alérgenos aéreos e provocar a sensibilização de mastócitos em vários tecidos, como a pele, resultando em aumento da resposta cutânea<sup>34</sup>.

A infecção parasitária crônica ou maciça reduz a resposta imune específica aos parasitas e alérgenos através de vários mecanismos. A secreção de alérgenos diretamente pelos geohelminthos produz IgE policlonal em grandes quantidades, saturando assim receptores de mastócitos<sup>37</sup>. Também a ativação policlonal de IgG4 pelos helmintos provoca a saturação de epitopos de alérgenos aéreos que de outra forma reagiriam com IgE. Além disso, a produção maciça de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10, por células-T estimuladas por antígenos de parasitas, produz uma supressão passiva das respostas imunes a alérgenos aéreos<sup>38</sup>. De acordo com estes achados, é possível que o aumento de HRB verificado em escolares altamente infectados ocorra em função de reação direta do ciclo pulmonar dos helmintos mesmo havendo atenuação do estado atópico sistêmico provocado pela parasitose

---

---

maciça. Como a prevalência de atópicos em nosso estudo foi baixa, não foi possível conclusão definitiva neste sentido.

Quanto ao achado de associação negativa entre giardíase e HRB não encontramos praticamente nenhum estudo na literatura. Trata-se de descoberta nova e intrigante, gerando possibilidades de investigações no futuro acerca do papel da regulação imunológica sistêmica gerada pela infecção intestinal através da *Giardia lamblia*. A infecção por Giardia está relacionada a um desencadeamento da resposta imune inata e adquirida, sendo que os dois braços do sistema têm um papel significativo no controle da infecção. Os anticorpos específicos de IgM, IgA e IgG têm papel fundamental, assim como sub-classes de células T, macrófagos e neutrófilos. Componentes acessórios do sistema imune, como o complemento também exercem um impacto no bloqueio da infecção. Há poucos estudos que definam melhor a importância de citocinas <sup>39</sup>. Um trabalho recentemente publicado sugere que pacientes não-atópicos infectados por Giárdia apresentam uma resposta imune do tipo Th1, com aumento de TNF- $\alpha$  e sIL-2R (receptor de Interleucina 2 solúvel) <sup>40</sup>. Também é interessante notar que o cálculo de tamanho amostral não foi feito originariamente para demonstrar efeitos em relação à alta taxa de helmintos e giardíase e que, mesmo assim, foram demonstradas associações (positiva e negativa respectivamente), o que torna os achados ainda mais significativos.

Do mesmo modo, a inexistência de diferença entre pacientes com história de bronquiolite, tabagismo materno, prematuridade pode apenas

---

representar um tamanho amostral insuficiente, posto que o cálculo foi feito sobre a presença ou ausência de sibilância nos últimos doze meses, servindo aquelas de variáveis secundárias. Contudo, a demonstração da praticidade e baixo custo da execução dos testes de broncoprovocação com solução salina hipertônica, aliados aos achados deste estudo, levam à possibilidade de investigarmos futuramente estas e outras associações e que possam tornar mais claro o entendimento da asma em populações mais carentes.

---

---

**REFERÊNCIAS:**

1. Stein RT, Holberg CJ, Morgan WJ, Wright AL, Lombardi E, Taussig L, Martinez FD. Peak flow variability, methacholine responsiveness and atopy as markers for detecting different wheezing phenotypes in childhood. *Thorax* 1997;52(11):946-952.
  2. Kerstjens HA, Overbeek SE, Schouten JP, Brand PL, Postma DS. Airways hyperresponsiveness, bronchodilator response, allergy and smoking predict improvement in FEV1 during long-term inhaled corticosteroid treatment. Dutch CNSLD Study Group. *Eur Respir J* 1993;6(6):868-876.
  3. Djukanovic R. Airway inflammation in asthma and its consequences: implications for treatment in children and adults. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109(6 Suppl):S539-548.
  4. von Mutius E, Martinez FD, Fritsch C, Nicolai T, Reitmeir P, Thiemann HH. Skin test reactivity and number of siblings. *Bmj* 1994;308(6930):692-695.
  5. Bjorksten B, Kjellman NI. Perinatal environmental factors influencing the development of allergy. *Clin Exp Allergy* 1990;20 Suppl 3:3-8.
  6. Diaz-Sanchez D, Dotson AR, Takenaka H, Saxon A. Diesel exhaust particles induce local IgE production in vivo and alter the pattern of IgE messenger RNA isoforms. *J Clin Invest* 1994;94(4):1417-1425.
  7. Yazdanbakhsh M, Kremsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 2002;296(5567):490-494.
  8. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(5):1501-1507.
  9. Lemanske RF, Jr. Issues in understanding pediatric asthma: epidemiology and genetics. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109(6 Suppl):S521-524.
  10. Kelly YJ, Brabin BJ, Milligan P, Heaf DP, Reid J, Pearson MG. Maternal asthma, premature birth, and the risk of respiratory morbidity in schoolchildren in Merseyside. *Thorax* 1995;50(5):525-530.
-

11. Werneck G, Ruiz S, Hart R, White M, Romieu I. Prevalence of asthma and other childhood allergies in Brazilian schoolchildren. *J Asthma* 1999;36(8):677-690.
  12. Chatkin MN, Menezes AM. [Prevalence and risk factors for asthma in schoolchildren in southern Brazil]. *J Pediatr (Rio J)* 2005;81(5):411-416.
  13. Pearce N, Weiland S, Keil U et al. Self-reported prevalence of asthma symptoms in children in Australia, England, Germany and New Zealand: an international comparison using the ISAAC protocol. *Eur Respir J* 1993(6):1455-1461.
  14. Penny ME, Murad S, Madrid SS, Herrera TS, Pineiro A, Caceres DE, Lanata CF. Respiratory symptoms, asthma, exercise test spirometry, and atopy in schoolchildren from a Lima shanty town. *Thorax* 2001;56(8):607-612.
  15. Nyan OA, Walraven GE, Banya WA, Milligan P, Van Der Sande M, Ceesay SM, Del Prete G, McAdam KP. Atopy, intestinal helminth infection and total serum IgE in rural and urban adult Gambian communities. *Clin Exp Allergy* 2001;31(11):1672-1678.
  16. Lynch NR, Hagel I, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Alvarez N. Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92(3):404-411.
  17. Pauwels R, Joos G, Van der Straeten M. Bronchial hyperresponsiveness is not bronchial hyperresponsiveness is not bronchial asthma. *Clin Allergy* 1988;18(4):317-321.
  18. Hofstra WB, Neijens HJ, Duiverman EJ, Kouwenberg JM, Mulder PG, Kuethe MC, Sterk PJ. Dose-responses over time to inhaled fluticasone propionate treatment of exercise- and methacholine-induced bronchoconstriction in children with asthma. *Pediatr Pulmonol* 2000;29(6):415-423.
  19. Castilho VL, Franca IL, Monteiro CJ, Amato Neto V, Campos R, Moreira AA. [Comparative study of Faust et al. and Ritchie methods for parasitological examinations of feces]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1980;22(6):319-322.
  20. Graeff-Teixeira C, Medeiros E, Zanini GM, Brasil CA, Cardozo BL, Dalpiaz MG, Bisol LW. Inexpensive alternative material for the isolation of larvae with the Baermann method. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997;92(3):399-400.
-

21. Odongo-Aginya EI, Taylor MG, Sturrock RF, Ackers JP, Doehring E. Field evaluation of an improved Kato-Katz thick smear technique for quantitative determination of helminth eggs in faeces. *Trop Med Parasitol* 1995;46(4):275-277.
  22. Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1972;14(6):397-400.
  23. Weiland SK, Bjorksten B, Brunekreef B, Cookson WO, von Mutius E, Strachan DP. Phase II of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC II): rationale and methods. *Eur Respir J* 2004;24(3):406-412.
  24. Polgar C. Standard values. In: Saunders W, editor. *Pulmonary function testing in children: techniques and standards*. Philadelphia; 1971. p 87-122.
  25. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, Hankinson JL, Irvin CG, MacIntyre NR, McKay RT, Wanger JS, Anderson SD, Cockcroft DW, Fish JE, Sterk PJ. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(1):309-329.
  26. Joos GF, O'Connor B, Anderson SD, Chung F, Cockcroft DW, Dahlen B, DiMaria G, Foresi A, Hargreave FE, Holgate ST, Inman M, Lotvall J, Magnussen H, Polosa R, Postma DS, Riedler J. Indirect airway challenges. *Eur Respir J* 2003;21(6):1050-1068.
  27. Riedler J, Reade T, Dalton M, Holst D, Robertson C. Hypertonic saline challenge in an epidemiologic survey of asthma in children. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150(6 Pt 1):1632-1639.
  28. Saraclar Y, Kuyucu S, Tuncer A, Sekerel B, Sackesen C, Kocabas C. Prevalence of asthmatic phenotypes and bronchial hyperresponsiveness in Turkish schoolchildren: an International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase 2 study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;91(5):477-484.
  29. Pearce N, Beasley R, Pekkanen J. Role of bronchial responsiveness testing in asthma prevalence surveys. *Thorax* 2000;55(5):352-354.
  30. Cane RS, Ranganathan SC, McKenzie SA. What do parents of wheezy children understand by "wheeze"? *Arch Dis Child* 2000;82(4):327-332.
-

31. Loffler W. Transient lung infiltrations with blood eosinophilia. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1956;8(1-2):54-59.
  32. Silveira MR, Nunes KP, Cara DC, Souza DG, Correa A, Jr., Teixeira MM, Negrao-Correa D. Infection with *Strongyloides venezuelensis* induces transient airway eosinophilic inflammation, an increase in immunoglobulin E, and hyperresponsiveness in rats. *Infect Immun* 2002;70(11):6263-6272.
  33. Shibata Y, Kamata T, Kimura M, Yamashita M, Wang CR, Murata K, Miyazaki M, Taniguchi M, Watanabe N, Nakayama T. Ras activation in T cells determines the development of antigen-induced airway hyperresponsiveness and eosinophilic inflammation. *J Immunol* 2002;169(4):2134-2140.
  34. Cooper PJ. Can intestinal helminth infections (geohelminths) affect the development and expression of asthma and allergic disease? *Clin Exp Immunol* 2002;128(3):398-404.
  35. Hall LR, Mehlotra RK, Higgins AW, Haxhiu MA, Pearlman E. An essential role for interleukin-5 and eosinophils in helminth-induced airway hyperresponsiveness. *Infect Immun* 1998;66(9):4425-4430.
  36. Palmer LJ, Celedon JC, Weiss ST, Wang B, Fang Z, Xu X. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(11):1489-1493.
  37. Lynch NR, Lopez RI, Di Prisco-Fuenmayor MC, Hagel I, Medouze L, Viana G, Ortega C, Prato G. Allergic reactivity and socio-economic level in a tropical environment. *Clin Allergy* 1987;17(3):199-207.
  38. van den Biggelaar AH, van Ree R, Rodrigues LC, Lell B, Deelder AM, Kremsner PG, Yazdanbakhsh M. Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet* 2000;356(9243):1723-1727.
  39. Faubert G. Immune response to *Giardia duodenalis*. *Clin Microbiol Rev* 2000;13(1):35-54, table of contents.
  40. Bayraktar MR, Mehmet N, Durmaz R. Serum cytokine changes in Turkish children infected with *Giardia lamblia* with and without allergy: Effect of metronidazole treatment. *Acta Trop* 2005;95(2):116-122.
-

---

## **CONCLUSÕES**

---

## CONCLUSÕES

1. Não há associação entre sibilância nos últimos doze meses e HRB em escolares de Uruguaiana/RS;
  2. Há importante associação entre parasitose com altas cargas de helmintos e HRB, mas o mesmo efeito não se verifica em escolares com baixa carga ou mesmo não parasitados;
  3. Não há associação entre atopia e HRB nesta população;
  4. A infecção por *Giardia lamblia* parece conferir proteção em relação à HRB;
  5. Nestes pacientes é necessária a busca de mecanismos imunopatológicos que venham a explicar essa relação, através do estudo da celularidade e de mediadores de inflamação em vias aéreas e sangue;
  6. Há necessidade de explorar mais as demais relações estudadas, talvez com o aumento dos tamanhos amostrais visando diferenças entre variáveis específicas;
  7. É importante o desenvolvimento de modelos experimentais que permitam estudar a HRB em animais associando a pesquisa com outros tipos de parasitas além dos já pesquisados.
-

---

## **ANEXOS**

---

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

As doenças alérgicas, como asma, rinite e dermatite atópica (alergia de pele) são mais comuns hoje em dia do que eram antigamente. Sabemos muito pouco do porque do aumento dessas doenças que são muito incômodas, principalmente para as crianças. Nesta pesquisa queremos saber quantas crianças entre 9 e 12 anos, na cidade de Uruguaiiana e arredores, apresentam asma, rinite (alergia de nariz) ou dermatite atópica (alergia de pele). Queremos também saber informações sobre a família, a criança e seu meio ambiente para podermos ter idéia de quais são os fatores de risco associados a estas doenças.

Se você concordar que seu(sua) filho(a) participe desta pesquisa, marque as avaliações que ele(a) poderá realizar:

( ) A mãe ou responsável legal deverá responder a um questionário sobre a criança, sua família e seu meio ambiente, realizado por um entrevistador;

( ) Exame físico da criança, para investigar dermatite atópica (alergia de pele) na criança;

( ) Coleta de fezes, para avaliar verminoses;

( ) Teste cutâneo, para ver se a criança é alérgica. O teste consiste em uma pequenas picadas no antebraço para ver se a criança tem alergia às substâncias colocadas em gotinhas sobre a pele. Caso a criança seja alérgica a alguma das substâncias (ácaros do pó, pelo de gato, pelo de cachorro, grama, fungos) uma pequena reação na pele acontece. Os possíveis desconfortos causados pelo exame são: vermelhidão e coceira no local da aplicação do teste cutâneo. Para evitar maior desconforto, será fornecido, se necessário, imediatamente após o exame, medicamento (pomada) que diminua a irritação;

( ) Coleta de sangue para estudo de alergias, e de sangue para avaliação genética (para ver características familiares das doenças). Serão coletados 5ml de sangue, através de punção com agulha;

( ) Teste de capacidade pulmonar (espirometria). A criança deverá soprar através de um bocal para medir sua capacidade pulmonar. O primeiro teste será feito antes e após o uso de uma medicação bronco-dilatadora (salbutamol) muito segura e usada sem problemas por crianças, mesmo em suas casas. Os efeitos colaterais mais comuns são de taquicardia e tremor, mas quando presentes, não oferecem qualquer perigo. Uma segunda testagem será feita antes a após um período de corrida de alguns minutos.

Todos os dados da pesquisa são confidenciais, e o abandono da pesquisa, por parte do escolar, pode ser feito a qualquer momento, sem que haja qualquer forma de prejuízo. Os pesquisadores garantem o direito a perguntas ou esclarecimentos específicos sobre os procedimentos realizados, ou sobre os resultados obtidos.

As informações obtidas neste estudo são muito importantes para que se possa conhecer mais sobre doenças alérgicas em Uruguaiiana e poder se estudar suas possíveis causas em outros centros de pesquisa, portanto a participação de seu filho(a) é muito valiosa.

Eu, \_\_\_\_\_, fui informado(a) dos objetivos desta pesquisa de forma clara e detalhada. Recebi informações sobre todos os procedimentos que serão feitos e os possíveis desconfortos, riscos e benefícios associados. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas, e sei que poderei solicitar novas informações a qualquer momento. Além disso, sei que as informações obtidas durante o estudo são confidenciais e privadas, e que poderei retirar meu filho(a) do estudo a qualquer momento.

Caso necessite, poderei chamar a coordenadora da pesquisa em Uruguaiiana, Dra. Marilyn Urrutia Pereira pelo telefone 55-4114822.

Declaro que recebi cópia do presente consentimento, ficando outra cópia sob os cuidados do pesquisador responsável.

Nome do responsável: \_\_\_\_\_ Ass: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
Nome do entrevistador: \_\_\_\_\_ Ass.: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**ADENDO AO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO**

O teste de inalação de solução salina hipertônica é comumente usado em laboratórios de pneumologia pediátrica para detectar asma em crianças e adultos e não envolve a inalação de produtos químicos ou medicamentos. Seu filho será solicitado a realizar uma nebulização com soro fisiológico concentrado, semelhante à água do mar. Todo o teste será supervisionado por um dos médicos da equipe do Laboratório de Pneumologia Pediátrica da PUCRS. Durante os testes, serão feitos testes respiratórios, a fim de detectar qualquer mudança na capacidade pulmonar. O teste será considerado positivo quando ocorrer uma pequena redução no teste de respiração. Esta queda não é suficiente para causar sintomas e retorna ao normal após alguns minutos do fim do teste.

As informações obtidas com este teste irão complementar os procedimentos já realizados com as crianças, como os questionários, exames de fezes e testes de alergia (de pele), fornecendo dados muito importantes para que possamos compreender melhor as doenças respiratórias em Uruguaiana. Entendendo melhor a asma e a alergia, esperamos poder tratar melhor as doenças respiratórias em comunidades com as mesmas características.

*Eu, \_\_\_\_\_, fui informado(a) dos objetivos desta pesquisa de forma clara e detalhada. Recebi informações sobre todos os procedimentos que serão feitos e os possíveis desconfortos, riscos e benefícios associados. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas, e sei que poderei solicitar novas informações a qualquer momento. Além disso, sei que as informações obtidas durante o estudo são confidenciais e privadas, e que poderei retirar meu filho(a) do estudo a qualquer momento.*

Caso necessite, poderei chamar a coordenadora da pesquisa em Uruguaiana, Dra. Marilyn Urrutia Pereira pelo telefone 55-34114822.ou o Dr. Emerson Rodrigues da Silva pelo telefone 51-3320.3000.

Declaro que recebi cópia do presente consentimento, ficando outra cópia sob os cuidados do pesquisador responsável.

Nome do responsável: \_\_\_\_\_ Ass: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Nome do entrevistador: \_\_\_\_\_ Ass.: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

---