

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

**LUCIANA APARECIDA ROCHA DE SOUZA ALBUQUERQUE**

**Sibilância no lactente e desenvolvimento de asma na idade escolar: aplicação do *Asthma Predictive Index (API)* em região de clima subtropical.**

**Ribeirão Preto - SP**

**2014**

**LUCIANA APARECIDA ROCHA DE SOUZA ALBUQUERQUE**

**Sibilância no lactente e desenvolvimento de asma na idade escolar:  
aplicação do *Asthma Predictive Index (API)* em região de clima  
subtropical.**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de  
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo  
para obtenção do título de Doutor.

Área de Concentração: Saúde da Criança e do  
Adolescente

Orientadora: Prof. Dra. Virgínia Paes Leme  
Ferriani

**Ribeirão Preto - SP**

**2014**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação  
Serviço de Documentação Pediátrica  
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Albuquerque, Luciana Aparecida Rocha de Souza.

Sibilância no lactente e desenvolvimento de asma na idade escolar: aplicação do *Asthma Predictive Index (API)* em região de clima subtropical;- Ribeirão Preto, 2014.

82 f. : il.

Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2014.

Orientadora: Ferriani, Virgínia Paes Leme.

1. Asma 2. Sibilância 3. Sensibilização 4. Índice preditivo 5. Criança

## Dedicatória

*Este trabalho é dedicado à minha família: meus amores, meu alicerce, minha vida!*

*Aos meus pais Carlos e Marlene, pelo amor incondicional, por dedicarem suas vidas à concretização dos meus sonhos e por serem base sólida na minha formação como profissional e como pessoa.*

*Ao meu amado, Leonardo. Esposo, namorado, pai exemplar, amigo fiel e companheiro. Sem dúvidas, meu maior incentivador durante a construção deste trabalho. Amor puro e genuíno. Aquele com quem compartilho meus dias e noites, com suas dores e seus sabores. Aquele que me ama como sou, que luta com unhas e dentes pra me ver feliz. Nosso encontro, definitivamente, não foi um acaso. Desejo sempre te fazer feliz como você me faz e viver sempre ao seu lado. A você, todo meu amor.*

*À Mariana, olhar mais terno e sorriso mais doce desse mundo, por ter me permitido vivenciar a maior e melhor experiência que um ser humano pode imaginar: ser mãe. Carregar-lhe no ventre, dar à luz, poder acompanhar o seu crescimento e sentir este amor latejante foi e é a melhor parte da minha existência. Agradeço a Deus e a seu pai pelo presente que é a sua vida.*

*À Marlene, por fazer parte da nossa família e cuidar de mim como filha e de Mariana como neta.*

*Ao Eike, meu cãozinho, por seu amor tão altruísta.*

## Agradecimentos

*A Deus pelo dom da vida e da Medicina e por me manter firme na fé, acreditando que estamos aqui para sermos e fazermos felizes.*

*Meu agradecimento especial à Prof. Dra. Virgínia Paes Leme Ferriani, minha querida orientadora, que desde os meus primeiros passos na Pediatria, tem sido minha mentora, incentivadora e amiga. Como costumo dizer, ela é meu ídolo! Com sua simplicidade e humildade, é exemplo de profissional e mestra, sempre muito responsável e comprometida com seus pacientes e alunos, é também um exemplo de mulher, daquelas em quem nos espelhamos sempre. Meu muito obrigada de coração... por ter acreditado e confiado em mim mais do que eu mesma.*

*À Profa. Dra. Karla Arruda, À Profa. Dra. Heloísa Bettiol, Ao Prof. Dr. José Dirceu e ao Prof. Dr. Antonio Carlos Pastorino por terem aceitado participar da banca examinadora e por gentilmente terem contribuído tanto com a elaboração deste trabalho.*

*À Dra. Jorgete Maria e Silva. Sem sua ajuda incondicional, orientação e amizade não teria sido possível concretizar este trabalho.*

*Ao Prof. Dr. Élcio Vianna, por ter me acolhido no Serviço de Pneumologia do HCFMRP-USP e por sua valiosa contribuição para o desenvolvimento desta tese.*

*Às senhoras Luciana Roberti e Elizabet Sobrani (Lu e Betinha), por seus ensinamentos, amizade e pela cooperação na execução dos testes cutâneos e testes de broncoprovocação.*

*Aos meus pequenos pacientes e aos seus pais que mesmo perante as dificuldades, participaram desta pesquisa com o intuito de ajudar outras pessoas. Sem eles, nada disso seria possível.*

*A todos os grandes amigos que fiz no HCFMRP/USP, em especial à minha eterna “duplinha” Janaína Melo, com quem partilho momentos desde o dia da prova de Residência Médica e que me acompanhou até a pós-graduação.*

*Em Ribeirão construí a melhor e mais importante fase da minha vida. O crescimento profissional e pessoal são incontestáveis e já fazem parte das minhas raízes. Mas além disso, aqui conheci o amor e a amizade. Na maioria das vezes eles surgiram nas dificuldades... a distância de casa, a dura realidade do exercício da Medicina, mas também através de muitos sonhos idealizados juntos.*

*Esse amor e essa amizade tem nomes: Leonardo, Pedro, Paulo, Décio, Gustavo, Fernanda Morandin, Júlio, Fernanda Marchini, Ellen, Sabrina, Flávia, Cíntia, Carol, Jucá, Renata, Marcelo, Luciana, Sanny, Coelho, Janaína, Kledione, Soraia, Guilherme, José Milton, Edemir, Seila (e a turma da corrida...), Bira, Rachel e tantos outros que não caberiam aqui... A saudade do convívio diário me consome, mas a certeza da amizade de vocês me consola.*

*Enfim, obrigada a todos que me permitiram fazer parte de suas vidas.*

*“Não sei se a vida é curta ou longa para nós, mas sei que nada do que vivemos tem sentido, se não tocarmos o coração das pessoas. Muitas vezes basta ser: colo que acolhe, braço que envolve, palavra que conforta, silêncio que respeita, alegria que contagia, lágrima que corre, olhar que acarícia, desejo que sacia, amor que promove. E isso não é coisa de outro mundo, é o que dá sentido à vida. É o que faz com que ela não seja nem curta, nem longa demais, mas que seja intensa, verdadeira, pura enquanto durar. Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”*

*Cora Coralina*

## RESUMO

**Introdução:** É de grande importância prever se lactentes sibilantes serão escolares asmáticos. Para auxiliar na identificação precoce desses pacientes, foram desenvolvidos escores clínicos de asma, a exemplo do *Asthma Predictive Index (API)*. No entanto, para avaliar a utilidade de tais escores no nosso meio, é necessária a sua aplicação em crianças brasileiras. **Objetivo:** No presente estudo avaliamos o desenvolvimento de asma na idade escolar em lactentes de Ribeirão Preto/SP que foram atendidos em serviço de emergência por apresentar episódio de chiado entre zero e dois anos de vida, e determinamos as propriedades discriminativas do *API* para prever o desenvolvimento de asma nesse grupo de crianças. **Métodos:** Sessenta e uma de 76 crianças anteriormente atendidas em Serviço de Emergência por episódio de chiado entre 6-24m foram reavaliadas entre 8 e 12 anos e seus pais preencheram um questionário para avaliação de sintomas respiratórios. Destas, 52 foram submetidas a teste cutâneo de hipersensibilidade imediata para alérgenos de alimentos e inalantes e 48 realizaram espirometria e teste de broncoprovocação com metacolina. Foram consideradas asmáticas as crianças que tinham diagnóstico médico de asma prévio ou pelo menos um dos seguintes sintomas nos últimos 12 meses: episódio de chiado, tosse durante exercício físico ou tosse seca sem resfriados, acompanhado de hiper-responsividade brônquica, detectado por broncoprovocação com metacolina com  $PC_{20} < 4\text{mg/ml}$ . *API* positivo (pelo menos um critério maior: diagnóstico médico de dermatite atópica ou asma em pelo menos 1 dos pais e/ou 2 dos 3 critérios menores: diagnóstico médico de rinite alérgica, sibilância fora de resfriado ou eosinofilia  $>4\%$ ) foi definido com base em informações coletadas quando as crianças tinham entre 2 e 4 anos de idade. Foram calculados sensibilidade, especificidade, valores preditivos, razões de verossimilhança e seus respectivos intervalos de confiança para o diagnóstico de asma entre 8 e 12 anos. **Resultados:** A média de idade das crianças quando da inclusão nesse estudo foi de 9 anos e 9 meses. Vinte das 48 crianças (41,7%) avaliadas na idade escolar foram diagnosticadas como asmáticas. Treze delas (65%) tinham *API* positivo entre 2 e 4 anos de idade. Das 28 crianças que não desenvolveram asma, apenas 9 (32,1%) tinham *API* positivo. A sensibilidade e especificidade do *API* foram, respectivamente, 65% (IC=40.8-84.6) e 67.9% (47.7-84.1). Os valores preditivos positivo e negativo e razões de verossimilhança positiva e negativa foram, respectivamente, 59,1 (IC=38,7-79,7); 73,1 (IC=53,9-86,3); 2,02 (IC=1,5-2,73) e 0,51 (IC=0,37-0,72). **Conclusão:** Quase metade dos lactentes que procuraram serviço de emergência por apresentar crise de chiado desenvolveram asma na idade escolar. O uso de parâmetros simples, como os incluídos no índice *API*, permitiu prever de forma razoavelmente segura o desenvolvimento de asma nesse grupo de crianças.

## ABSTRACT

**Background:** Knowing if wheezing babies will develop asthma at school age is very important. Different clinical scores, including the Asthma Predictive Index (API) were developed to identify those babies. However, in order to determine if the API is useful in our country, it is necessary to apply the API in Brazilian young children with wheezing episodes. **Objective:** In the present study, we have evaluated the development of asthma in 8-12 year-old-children after an index wheezing episode in infancy, and determined the discriminative properties of the API for the diagnosis of asthma in this group of children. **Methods:** Sixty one of 76 children who had been seen at the Emergency Room for an episode of wheezing in infancy (6-24m) were included and their parents completed a questionnaire on respiratory symptoms. 52 of them underwent skin prick testing to inhalant and food allergens and 48 of those performed methacholine challenge tests. Children were considered asthmatic if they presented previous physician-diagnosed asthma, or at least one of the following symptoms in the past 12 months: wheezing, cough or chest tightness with exercise, or dry cough without colds, accompanied by bronchial hyperresponsiveness, as detected by a PC20 <4mg/ml on methacholine challenge test. A positive API score (at least one major criteria: physician-diagnosed eczema or parental asthma; or 2 of 3 minor criteria: physician-diagnosed allergic rhinitis, wheezing without colds or peripheral eosinophilia  $\geq 4\%$ ) was defined based on information collected when the children were between 2 and 4 years old. Sensitivity, specificity, predictive values, likelihood ratios and confidence intervals (CI) of the API index for the diagnosis of asthma at 8-ed12y were calculated. **Results:** Among the 48 children evaluated at school age, 20 (41.7%) were diagnosed with asthma; 13 of them (65%) had positive API index at the time of the index wheezing episode. Of the 28 wheezing babies that did not develop asthma at 9-11y, only 9 (32.1%) had positive API. Sensitivity and specificity of the API index were 65% (IC=40.8-84.6) and 67.9% (47.7-84.1), respectively. Positive and negative predictive values and positive and negative likelihood ratios were, respectively, 59,1 (IC=38,7-79,7); 73,1 (IC=53,9-86,3); 2,02 (IC=1,5-2,73) and 0,51 (IC=0,37-0,72). **Conclusions:** Nearly half of the wheezing infants seen in emergency units because of wheezing episodes will developed asthma at school age. Using simple parameters as proposed by the API index, the development of asthma could be reasonably predicted in this group of children.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
1.1 Asma .....	11
1.1.1 Definição .....	11
1.1.2 Epidemiologia .....	12
1.1.3 Fisiopatologia.....	15
1.1.4 Etiologia.....	18
1.1.4.1 Fatores de risco para desenvolvimento de asma.....	20
1.2 Escores clínicos preditivos de asma .....	26
1.2.1 API ( <i>Asthma Predictive Index</i> ) .....	26
1.2.2 PIAMA (Prevention and incidence of asthma and mite allergy) .....	27
1.2.3 Outros escores .....	28
<b>2 HIPÓTESE</b> .....	<b>30</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>31</b>
<b>4 CASUÍSTICA E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
4.1 Modelo do estudo .....	32
4.2 População de estudo .....	32
4.3 Critérios de inclusão.....	32
4.4 Critérios de não inclusão.....	32
4.5 Desenho do estudo.....	33
4.6 Métodos .....	36
4.7 Definições clínicas .....	37
4.8 Identificação de crianças com <i>Asthma Predictive Index</i> (API) positivo .....	38
4.9 Análise estatística .....	38
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>40</b>
5.1 Características clínicas da população em estudo.....	40
5.2 Evolução clínica dos pacientes.....	41
5.3 Aplicação do <i>Asthma Predictive Index</i> .....	43

<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>54</b>
<b>9 ANEXOS .....</b>	<b>69</b>
ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO .....	69
ANEXO 2 - QUESTIONÁRIO .....	71
ANEXO 3 - PUBLICAÇÃO .....	73

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Asma

### 1.1.1 Definição

Desde a antiguidade, documentos históricos que datam de 2600 a.C. já descreviam sintomas e métodos terapêuticos utilizados para o controle das crises de asma (1, 2). Contudo, a definição de asma ou asma brônquica ainda continua controversa. Esse impasse se deve, em grande parte, à sua etiologia multifatorial que envolve fatores genéticos e ambientais, e à variabilidade de apresentações clínicas e respostas terapêuticas. Existem também discordâncias a respeito da fisiopatologia da asma e por isso há uma grande dificuldade na definição desta doença em novos estudos (3).

De acordo com a *American Thoracic Society*, a asma é uma doença caracterizada por obstrução variável e reversível das vias aéreas e hiper-reatividade brônquica (HRB)- descrita como resposta excessiva de broncoconstrição a estímulos específicos, além de sintomas como dispneia, sibilos ou tosse de intensidade variável. Essa definição de 1962 foi atualizada em 1991 (4) e vem sendo utilizada em estudos recentes publicados por esta instituição(5).

No Brasil, as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o Manejo da Asma - 2012, utilizaram a mesma definição do *Global Initiative for asthma (GINA)* 2010, que foi atualizada recentemente em 2012(6):

“Asma é um distúrbio inflamatório crônico das vias aéreas no qual muitas células e elementos celulares desempenham uma função. A inflamação crônica em associação com o aumento da reatividade das vias aéreas leva a episódios recorrentes de chiado, falta de ar, aperto no peito e tosse, particularmente à noite e/ou no início da manhã. Esses sintomas estão usualmente associados a uma limitação do fluxo de ar, difusa e/ou variável, que é reversível espontaneamente ou com tratamento”.

Esse conceito parece ser o mais adequado, pois além de mais atualizado, leva em conta o resultado que o processo inflamatório pode causar na função das vias aéreas.

Bousquet e colaboradores avaliaram a importância dos estudos do tipo coorte para a asma e outras doenças alérgicas e constataram que os autores dos diferentes estudos frequentemente utilizam definições desenvolvidas pelo

*International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)*(7) e alguns adotam ainda os conceitos do *Global Allergy and Asthma European Network (GA<sup>2</sup>LEN)* (8) e do *Mechanisms of Development of Allergy (MeDALL)*(9, 10), programa europeu de desenvolvimento de pesquisa e tecnologia (11).

Em alguns estudos, as definições combinam ainda a presença de sintomas de asma com provas de função pulmonar e testes de hiper-responsividade das vias aéreas para aumentar a sua validade (12).

### 1.1.2 Epidemiologia

Apesar dos novos conhecimentos a respeito da fisiopatologia e dos avanços na terapêutica da asma, as taxas de prevalência, a necessidade de internações para seu controle e a mortalidade associada a quadros graves continuam apresentando índices relevantes(13, 14).

Mundialmente, estima-se que 300 milhões de indivíduos são afetados pela asma. Mesmo com a dificuldade de se encontrar uma definição precisa e universal para a doença, tornando problemática uma comparação confiável entre os índices de prevalência de diferentes partes do mundo, estudos baseados na aplicação de métodos padronizados mostram que a prevalência global gira em torno de 1 a 18% entre as populações de diversos países (13, 15).

Há evidências de que a prevalência da asma vem aumentando em alguns países (16-19), mas que esses índices estão estabilizando em outras regiões (20-22). A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 15 milhões de *DALY* (*disability-adjusted life years*) são perdidos anualmente devido à asma, representando 1% do total global de impacto das doenças em geral. Só nos Estados Unidos foram gastos 18 bilhões de dólares por ano no tratamento de pacientes adultos asmáticos entre 2003 e 2005, sendo que o tratamento medicamentoso foi responsável por 75% destes custos(14, 23). Em todo mundo, anualmente, são estimadas 250 mil mortes por asma e a prevalência da doença em uma região parece não ter grande correlação com os índices de mortalidade (15).

Dentre os estudos de prevalência de asma que mostram a sua importância ao redor do mundo e ao longo dos anos destacam-se o *European community Respiratory Health Survey (ECRHS)*, em adultos; e o *International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)*, em crianças. Esses dois grandes estudos

contribuíram para a expansão da utilização de questionários, facilitando a uniformização de informações sobre a doença (24, 25).

Na Fase I do estudo *ISAAC*, que foi dividido em três fases, os pesquisadores analisaram a prevalência de asma, rinite alérgica e eczema atópico em crianças de múltiplos centros, em diversos países, permitindo comparações internacionais (7). Foram avaliados dois grupos etários: 257.800 crianças entre 6 e 7 anos (de 91 centros, em 38 países) e 463.801 crianças entre 13 e 14 anos de idade (de 155 centros em 56 países). Os resultados mostraram prevalência alta de sintomas de asma nos países de língua inglesa (como Grã Bretanha, Estados Unidos e Canadá) bem como em países da América Latina. Entre os países europeus, as prevalências mais altas foram identificadas na Europa Ocidental. Já em países da África e Ásia, a prevalência foi relativamente mais baixa, principalmente nos países em desenvolvimento (como China e Indonésia) quando em comparação com países mais ricos (como Japão e Cingapura) (26).

A Fase III do estudo avaliou as tendências temporais da doença e acrescentou algumas questões sobre fatores de risco para asma (como exposição ao tabaco e dieta) à mesma metodologia utilizada na Fase I. O intervalo mínimo entre a Fase I e a Fase III em cada centro foi de cinco anos.

Observou-se que, na maioria dos países com alta prevalência da doença na Fase I (principalmente os de língua inglesa), houve uma estabilização ou até mesmo queda destes índices na Fase III. Outros países, como os da América Latina, classificados como de prevalência intermediária ou alta, apresentaram aumento significativo das taxas na Fase III. Em relação aos países com baixa prevalência de sintomas de asma na Fase I, com exceção da Índia, todos apresentaram aumento dos índices na fase III, muito embora só a China e a Indonésia apresentaram resultados com significância estatística (figura 1). Os achados mostram que as diferenças internacionais de prevalência de sintomas de asma estão diminuindo, particularmente no grupo de crianças entre 13 e 14 anos (27).

O Brasil foi representado no estudo *ISAAC* pelas seguintes cidades brasileiras: São Paulo, Curitiba, Porto Alegre, Recife, Salvador, Itabira e Uberlândia, sendo que as duas últimas não participaram da Fase III do estudo (28).

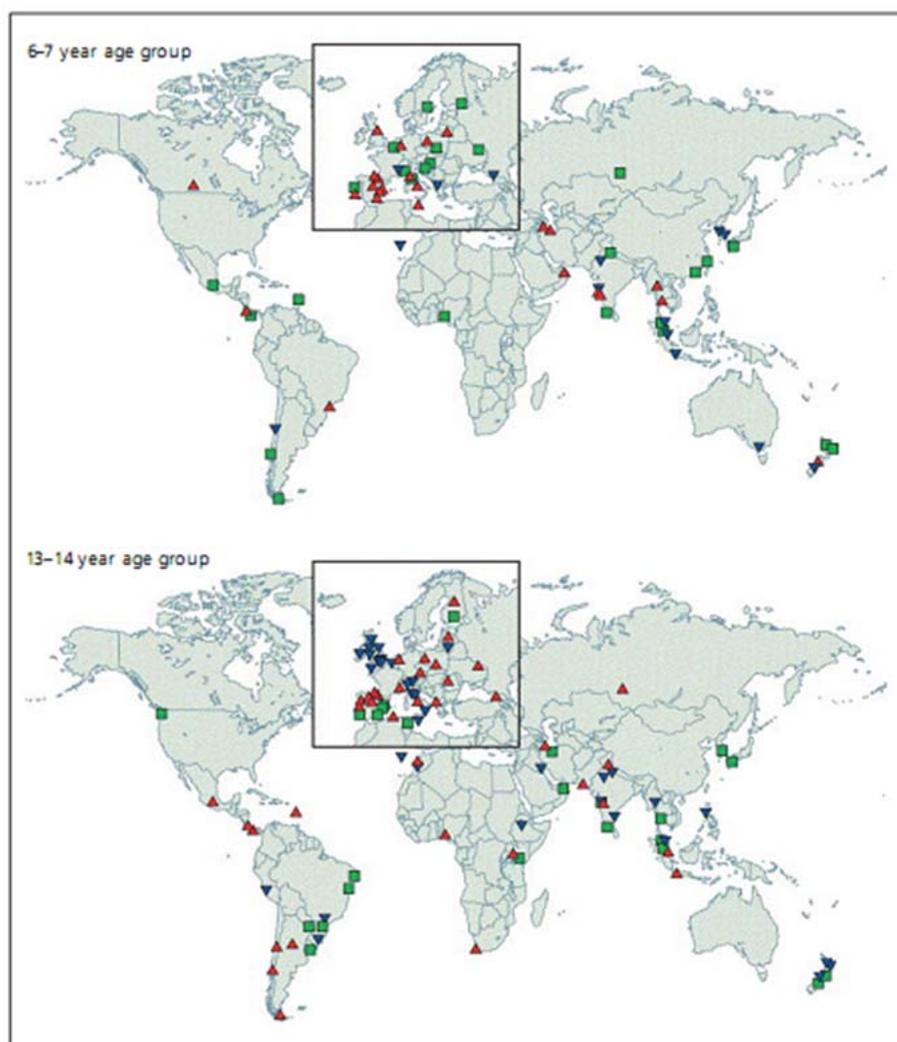
Na Fase I, o Brasil teve uma das mais altas prevalências de sintomas de asma da América Latina e ficou localizado no oitavo lugar entre os países com maiores índices da doença (29). Na Fase III do estudo (após intervalo de sete anos)

observou-se que em crianças entre 6 e 7 anos houve uma tendência ao aumento da prevalência de sintomas de asma, enquanto que no grupo entre 13 e 14 anos esses números permaneceram estáveis, ou até diminuíram em algumas regiões (30).

Ainda no Brasil, Solé *et al* constataram que a prevalência de asma diagnosticada por médico foi significativamente inferior à de "chiado nos últimos 12 meses", reforçando a ideia de subdiagnóstico se aquele critério for utilizado. Também chamou a atenção dos pesquisadores não ser a gravidade da asma dependente da sua prevalência, visto que a maioria dos casos graves foi registrada na cidade de Itabira/MG, cujos índices de prevalência de asma (16,1%) não foram tão elevados se comparados a outros municípios do Brasil (27,2% em Recife e Porto Alegre) (29).

Em estudo recente, Valle e colaboradores entrevistaram 3216 crianças do Rio de Janeiro entre 6 e 7 anos de idade, utilizando o questionário do estudo ISAAC e concluíram que a prevalência de "episódio de chiado alguma vez na vida" foi 52,2% e a prevalência de "episódio de chiado nos últimos 12 meses" foi 20,9%, revelando índices elevados para esta população(31).

Em Ribeirão Preto/SP, 22,5% dos escolares entre 7-8 anos de idade e 16,7% daqueles entre 13-14 anos, relataram ter tido episódios de chiado nos últimos 12 meses (32).



**Figura 1:** Evolução anual da prevalência de sintomas de asma em crianças de 6 a 7 anos e de 13 a 14 anos de idade após seguimento de 7 anos da fase I do ISAAC.

- Triângulos azuis – prevalência reduziu pelo menos 1 desvio padrão por ano.
- Quadrados verdes – pouca mudança na prevalência de asma (menos de 1 desvio padrão por ano).
- Triângulos vermelhos – aumento da prevalência de asma de pelo menos 1 desvio padrão por ano (30).

### 1.1.3 Fisiopatologia

Apesar de sua complexidade, várias características podem ser identificadas no estudo da fisiopatologia da asma:

#### **Inflamação das vias aéreas**

A asma é uma doença crônica das vias aéreas que envolve várias células e mediadores inflamatórios em sua fisiopatologia (33), e a descoberta da inflamação como um dos componentes da doença foi possível através da avaliação de

necropsias de pacientes vítimas de asma fatal. Nessas amostras, havia presença de infiltração de neutrófilos, eosinófilos e mástócitos nas vias aéreas, além de perda da integridade epitelial, hiperplasia de células caliciformes, hipertrofia e hiperplasia da musculatura lisa brônquica. Posteriormente, até mesmo pacientes com asma leve apresentaram inflamação das vias aéreas em biópsias brônquicas (34).

Em relação à topografia, a inflamação afeta as vias aéreas como um todo, incluindo, em alguns pacientes, o trato respiratório superior e a mucosa nasal; mas, geralmente, os brônquios de médio calibre são os mais afetados (35).

No que diz respeito à histopatologia, a inflamação tem início com a alteração do fluxo sanguíneo e do calibre dos pequenos vasos. Em seguida, há um aumento da permeabilidade vascular resultando em edema, além da passagem de leucócitos para o espaço extravascular e migração de granulócitos, monócitos, macrófagos e eosinófilos para o exsudato pela ação de moléculas de adesão que regulam o fluxo dessas células. Essas alterações podem resultar em hipersecreção de muco e descamação epitelial(36, 37).

Diferentes padrões de resposta inflamatória são observados na asma, resultando num espectro clínico bastante variável. Além disso, a inflamação das vias aéreas é uma característica marcante e persistente desta patologia, embora os sintomas possam ser esporádicos e a relação entre a gravidade da asma e a intensidade da inflamação não esteja bem estabelecida (38).

### **Remodelamento das vias aéreas**

Em pacientes asmáticos, além da resposta inflamatória, ocorrem alterações estruturais descritas como remodelamento das vias aéreas ou remodelamento brônquico. Esse fenômeno parece ser uma tentativa de reparo à resposta inflamatória crônica através de um processo cicatricial (caracterizado por deposição de matriz extracelular na membrana basal, hipertrofia da musculatura lisa, hiperplasia de células caliciformes e formação de novos vasos). Algumas dessas alterações estão relacionadas à gravidade da doença e podem resultar em diferentes graus de obstrução irreversível das vias aéreas (39-42).

### **Hiper-reatividade brônquica (HRB)**

A HRB resulta na obstrução das vias aéreas em resposta a estímulos que podem ser inócuos a pessoas sem a doença. Essa obstrução leva à limitação

variável do fluxo aéreo e sintomas intermitentes. A HRB é uma das características da asma e está incluída em algumas definições da doença, podendo contribuir para seu diagnóstico(12).

A HRB a diferentes estímulos está relacionada tanto com a presença de inflamação quanto com o remodelamento das vias aéreas e pode sofrer variações, aumentando nas exacerbações e podendo ser reversível ao tratamento. Os mecanismos envolvidos nesse processo não são totalmente esclarecidos destacando-se: contração excessiva da musculatura lisa das vias aéreas (43), obstrução resultante de edema e alterações estruturais na parede da via aérea por resposta a reação inflamatória (44), além do estímulo de terminações nervosas por mediadores inflamatórios, causando broncoconstrição (45).

Os estímulos que causam HRB e consequente broncoconstrição têm sido classificados de acordo com o mecanismo dominante de limitação ao fluxo aéreo após a estimulação. Dessa forma, podem ser divididos em estímulos diretos ou indiretos, sendo que alguns estímulos têm atividade tanto direta como indireta (46).

Os estímulos diretos, como a metacolina, agem nas células efetoras (células do músculo liso, endoteliais vasculares brônquicas e células produtoras de muco), causando limitação ao fluxo aéreo. Entre os estímulos diretos encontramos a acetilcolina, metacolina, carbacol, histamina prostaglandinas e leucotrienos. Já os estímulos indiretos, que podem ser físicos ou farmacológicos, atuam nas células inflamatórias e neuronais, que irão interagir posteriormente com as células efetoras. Os estímulos farmacológicos incluem a adenosina 5' monofosfato, bradicinina, dióxido sulfúrico, metabissulfito de sódio, aspirina e propranolol. Dentre os estímulos físicos destacam-se o exercício, solução salina hipo ou hipertônica, manitol, água destilada e hiperventilação isocápnica (47, 48)

Na utilização de agentes farmacológicos, em pacientes com via aérea hiperreativa, quanto menor a quantidade de droga necessária para limitar o fluxo aéreo, maior é a reatividade da via aérea(49).

Consensos sobre asma recomendam que a medida da função pulmonar deva ser realizada na confirmação ou elucidação de hipóteses diagnósticas e no acompanhamento de doenças pulmonares como a asma(50, 51). Dessa forma, a espirometria tem provado ser uma preciosa ferramenta para avaliação dos pulmões e o mais frequente teste de função pulmonar obtido por médicos que tratam de doenças respiratórias na infância, além do que os consensos mais atuais

recomendam a realização de pelo menos uma espirometria anual em crianças portadoras de asma (52).

Os testes de medida de reatividade brônquica, quando alterados e associados a quadros clínicos sugestivos, são determinantes no diagnóstico de asma de pacientes que apresentam espirometria normal; além de serem úteis na avaliação da resposta terapêutica. Dentre esses testes, a broncoprovocação por metacolina é o método diagnóstico e científico mais utilizado para a medida da reatividade brônquica, através da realização de prova de função pulmonar antes e depois do estímulo. Em seguida podem ser avaliados dois parâmetros: a concentração que causou queda de 20% do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1), denominada PC20, ou a dose que causou esta queda (PD20). Nestes casos, quanto menor a PC20 ou a PD20, mais hiper-reativa é a via aérea. A exclusão do diagnóstico de HRB também é importante, pois nos auxilia a descartar o diagnóstico de asma tanto na prática clínica quanto em estudos científicos (53). O ponto de corte para diferenciar indivíduos normais de asmáticos tem variado na literatura. Alguns autores utilizam  $PC20 \leq 2,0$  mg/ml como ponto de corte ideal para definir hiper-reatividade em crianças(12, 54). O teste de provocação feito com metacolina tem se mostrado seguro em crianças (55) e considerado por muitos autores o padrão ouro para o diagnóstico de asma(50, 51).

A diminuição do calibre das vias aéreas na infância já foi citada como fator de risco para chiado transitório, provavelmente relacionado à exposição ao fumo, mas também está associado ao aumento da hiper-responsividade brônquica e persistência de chiado. Vários estudos sugerem que déficit da função pulmonar nas primeiras semanas de vida já estaria relacionado à asma futura. Crianças que evoluíram para diagnóstico de asma já apresentavam alterações da função pulmonar antes mesmo dos 7 ou 9 anos de idade (56, 57).

#### **1.1.4 Etiologia**

Apesar de sua relevância, ainda há muito a ser esclarecido no que diz respeito à etiologia e à heterogeneidade dos diferentes fenótipos de asma. Dessa forma, avaliar os fatores de risco envolvidos neste processo é imprescindível ao estudo dessa patologia e tem despertado o interesse de muitos pesquisadores.

Ao longo dos anos, várias teorias tem sido levantadas com o objetivo de tentar explicar a etiologia de várias doenças crônicas não transmissíveis no adulto. Destacam-se entre elas, a teoria da programação de *Barker* e a dos eventos ambientais ao longo da vida, proposta por *Kuh & Ben-Shlomo*. Segundo *Barker*, a doença crônica seria biologicamente programada no útero ou no início do primeiro ano de vida e foi denominado *programming* o processo em que o estímulo ou a agressão, em períodos críticos de desenvolvimento, teria repercussão na estrutura ou na função de órgãos, tecidos e sistemas orgânicos (58).

Já *Kuh & Ben-Shlomo* oferecem uma proposta que seria complementar à hipótese de *Barker* e colaboradores, considerando que são importantes não apenas os estímulos ou agressões ocorridos na vida intra-uterina ou no primeiro ano de vida, mas sim o acúmulo de riscos durante o curso da vida. Esta concepção de risco seria diferente do *programming* por que não requer a existência de período crítico, ou seja, alguma condição desfavorável que tenha ocorrido em momentos específicos na vida intra-uterina ou na infância precoce. Mais ênfase é dada a uma variedade de experiências biológicas e sociais na infância, adolescência e na vida adulta precoce, do que no estilo de vida e nos modelos *programming* (59).

A teoria da higiene também sugere hipóteses para explicar a etiologia das doenças alérgicas nos países desenvolvidos. Acredita-se que a diminuição da exposição a produtos microbianos através de melhora das condições de higiene, utilização de vacinas e uso de antibióticos, diminua a chance de quadros de infecções nos primeiros anos de vida, favorecendo um aumento de resposta do tipo Th2 (60, 61).

A Fase II do ISAAC tinha diferentes metodologias e objetivos em relação às Fases I e III (62). Entre os objetivos estava o estudo da etiologia da asma e dos fatores de risco relacionados à doença. O estudo incluiu 30 centros, em 22 países e avaliou crianças entre 10 e 12 anos. Os resultados revelaram pouca evidência de fatores genéticos na asma e que a maioria dos casos de asma, rinoconjuntivite e eczema têm uma base não alérgica, principalmente em países em desenvolvimento (63-65).

Em relação às diversas situações relacionadas ao desenvolvimento de asma sabe-se, por exemplo, que a predisposição genética é um dos fatores de risco associados à doença; no entanto, fatores relacionados à interação genético-

ambiental parecem explicar as variações na distribuição geográfica e populacional da doença (66-68).

Descreveremos a seguir, alguns dos fatores de risco citados e discutidos na literatura.

#### 1.1.4.1 Fatores de risco para desenvolvimento de asma

##### Fatores Genéticos

A predisposição genética tem sido relacionada às doenças alérgicas como fator preditor(69, 70). Crianças com história familiar positiva para alergia, particularmente presença de asma, rinite ou dermatite atópica entre os membros da família imediata (pais e/ou irmãos), têm maior risco para desenvolvimento de doenças alérgicas (71). O diagnóstico médico de asma em pelo menos um dos pais foi utilizado como critério maior para considerar uma criança como tendo alto risco para desenvolvimento de asma, segundo o estudo que deu origem ao *API* (72).

Camelo-Nunes et al.(1997) também encontraram associação entre crianças com asma, história familiar de doença alérgica e asma materna (73).

Para tentar identificar componentes envolvidos na patogênese da asma, desde o início do século XX, pesquisadores tentaram identificar fatores genéticos associados à doença através do modelo Mendeliano de hereditariedade (74). Posteriormente, estudos realizados com gêmeos homozigóticos demonstraram a importância da hereditariedade na asma (75).

Litonjua *et al.* (1998) mostraram que a chance de uma criança ter asma é três vezes maior quando um dos pais é asmático e seis vezes maior quando os dois pais são asmáticos quando comparadas com famílias onde apenas um dos pais tem alergia a inalantes, mas não asma (76).

Ronmark *et al.* referiram que história familiar de asma positiva foi fator de risco significativo para presença de chiado e diagnóstico de asma em um grupo de escolares entre 7 e 8 anos de idade (77). Um estudo de coorte longitudinal, avaliando crianças desde o nascimento até a idade de 6 anos, encontrou forte associação entre diagnóstico de asma aos 6 anos e presença de asma materna (78).

Sarinho *et al.* (1995) constataram que filhos de mães asmáticas apresentam risco relativo 6,95 vezes maior de desenvolver sintomas de asma. Segundo os

autores, o organismo materno pode funcionar como apresentador de antígenos, durante a vida fetal, o que tornaria a história materna de asma mais significativa do que a paterna (79). Além disso, a coorte de Tucson, no Arizona, também mostrou que filhos de mães asmáticas apresentaram maior risco de persistência de chiado (56).

No entanto, um estudo que comparou crianças do leste e oeste da Alemanha (que possuem histórico genético muito semelhante), observou que as crianças do oeste tinham mais asma do que as crianças do leste, quando se avaliava a prevalência de asma, HRB e teste de hipersensibilidade imediata (80). Resultados como estes levam a crer que, apesar das evidências do caráter hereditário da doença, nem todos os indivíduos com antecedentes familiares positivos para alergia apresentam asma, sugerindo que a hereditariedade é apenas um dos muitos componentes envolvidos na etiologia asma (81) e dentre eles, os fatores ambientais também estão fortemente relacionados às diferentes prevalências de asma ao redor do mundo (82).

### **Gênero**

Quando se avalia o gênero como fator de risco para desenvolvimento de asma, observa-se uma diferença entre os grupos etários (83, 84). Enquanto que em crianças a asma parece ser mais prevalente em meninos do que em meninas, na adolescência e nos adultos jovens, a incidência é mais elevada em mulheres (85-87). Alguns estudos mostram que a prevalência de asma pode ser até duas vezes maior entre os meninos menores de 14 anos (88-92).

Associado a isso, pacientes asmáticos do sexo feminino parecem sofrer com maior morbidade da doença do que pacientes do sexo masculino (93). No entanto, não há um consenso entre os achados das pesquisas já realizadas. Alguns estudos que observaram grupos de meninos e meninas com asma, não encontraram diferenças com significância estatística (94, 95).

### **Aleitamento Materno**

A influência do aleitamento materno no desenvolvimento de atopia e asma na infância continua gerando controvérsias na literatura. Vários são os possíveis mecanismos biológicos pelos quais o leite materno pode atuar sobre o desenvolvimento de doenças alérgicas, dentre eles têm sido relatados a imunoglobulina A (IgA) secretória, citocinas, quimiocinas e antígenos (96). Alguns

estudos mostram efeito protetor (97, 98), enquanto outros relatam maiores índices de alergia e asma em crianças que foram amamentadas (99, 100).

Um estudo de metanálise (101) e vários estudos individuais (98, 102, 103) mostraram que aleitamento materno exclusivo até pelo menos 3 meses de vida esteve associado a menores índices de asma entre 2 e 5 anos de idade, com melhores resultados em crianças que tinham história familiar de atopia. Outra revisão de literatura sobre associação entre o aleitamento materno e risco de doenças alérgicas concluiu que o aleitamento materno parece ser um fator de proteção para o desenvolvimento de doenças atópicas, principalmente naquelas com história familiar positiva (104).

Silva et al (2005), em estudo prospectivo realizado em Ribeirão Preto/SP, concluíram que o aleitamento materno exclusivo durante o primeiro mês de vida foi fator de proteção para sibilos persistentes (105).

Já em outros estudos de coorte longitudinal o aleitamento esteve associado a maior risco de asma na infância, com maior influência em crianças com história materna de asma (83, 99, 100).

### **Exposição ao Tabaco**

Analisando os fatores de risco relacionados ao período pré- natal, destaca-se a exposição ao tabaco. O tabagismo durante a gestação está associado a episódios de chiado durante a infância (106, 107) e existe uma relação dose-resposta entre exposição ao tabaco e diminuição do calibre das vias aéreas (108-110). Além disso, estudos recentes têm mostrado que os efeitos prejudiciais do cigarro aumentam quando a exposição continua no período pós-natal (67).

Sabe-se que a exposição e os efeitos do tabagismo passivo podem perdurar durante a vida da criança e contribuir para o desenvolvimento de diversas doenças, principalmente as respiratórias (111).

Em estudo prospectivo realizado em Tucson, Arizona, Martinez et al concluiu que filhos de mulheres tabagistas apresentaram maior chance de desenvolver episódios de chiado antes dos 3 anos (chiado transitório) e função pulmonar alterada no primeiro e sexto ano de vida do que filhos de mulheres que não fumavam (56).

Vários estudos confirmam a associação entre asma e tabagismo materno (112, 113) e essa associação foi mais forte com a variável tabagismo na gestação do que com a variável tabagismo materno no domicílio (114).

## **Infecções**

Avaliando o papel das infecções no desenvolvimento de episódios de sibilância observa-se que, em uma fração significativa das crianças, os vírus são os responsáveis por essas manifestações (115-117). Esses sintomas tendem a desaparecer após a resolução do processo inflamatório próprio da doença. Todavia, algumas dessas crianças apresentam recorrência desses episódios e muitas evoluem para quadros de manifestações alérgicas respiratórias de diferentes graus de intensidade (118).

O verdadeiro papel das infecções virais na etiologia da asma também é controverso. Alguns estudos mostram que em algumas crianças as infecções virais parecem ter papel protetor, já em outros parecem associar-se a maior risco de desenvolvimento da asma (115, 119).

As hipóteses para explicar a relação entre infecção viral, persistência do chiado, sensibilização a aeroalérgenos e asma propõem que infecções virais poderiam alterar a resposta imune aos alérgenos, promovendo sensibilização, ou induzir resposta inflamatória típica da asma alérgica (120).

A infecção viral estimula a liberação de citocinas pró-inflamatórias e o recrutamento de células como eosinófilos, neutrófilos e macrófagos, produzindo inflamação no tecido pulmonar, podendo levar à hiper-reatividade das vias aéreas (121). Esses mecanismos poderiam ser os responsáveis pela persistência do chiado até a idade escolar (122).

As infecções de vias aéreas inferiores em crianças geneticamente susceptíveis e sensibilizadas a aeroalérgenos podem levar a um desvio da resposta imune para o padrão Th2 e dessa forma promover o desenvolvimento de asma (117, 123).

Esse efeito pode ser vírus-específico ou atuar em sinergia com a exposição à aeroalérgenos. Infecções graves por certos vírus como o vírus sincicial respiratório (VSR) (119, 122) e o rinovírus (124) parecem exercer importante papel na persistência de chiado.

Em Ribeirão Preto, Câmara et al. (2001) (71) observaram que a detecção de vírus respiratórios em lavado nasal foi fator de risco independente para ocorrência de chiado em crianças abaixo de 2 anos de idade. Das 80 crianças estudadas, 38,4% apresentou positividade para VRS.

Em crianças que apresentam chiado nos primeiros anos de vida, os fatores que determinarão a persistência de episódios de chiado e o desenvolvimento de asma não são completamente conhecidos. Sabe-se, no entanto, que as infecções virais podem desencadear episódios de chiado e acarretar sequelas pulmonares, portanto, maior atenção deve ser dada ao seguimento dos pacientes desde o primeiro episódio de chiado na tentativa de realizar diagnóstico e tratamento precoces caso haja desenvolvimento de doença respiratória crônica em idade mais avançada(122) .

### **Sensibilização Alérgica**

O aumento da exposição a alérgenos no interior do domicílio como consequência da urbanização, mudanças de estilo de vida para hábitos mais sedentários e alterações na dieta, também seriam responsáveis pelo aumento na prevalência das doenças alérgicas (125).

No que diz respeito à sensibilização alérgica, estudos encontraram associação de níveis elevados de IgE ao nascimento e maior incidência de sensibilidade a aeroalérgenos, mas não sintomas de doença alérgica, ou asma (126).

Tem sido demonstrado que há uma relação entre exposição a alérgenos, principalmente os aeroalérgenos intradomiciliares, sensibilização e asma. Para alérgenos de ácaros e baratas, observa-se uma relação dose-resposta entre exposição e sensibilização de forma que, quanto mais elevada a exposição (avaliada pela quantificação dos alérgenos principais em amostras de poeira domiciliar) maior a frequência de testes cutâneos de hipersensibilidade imediata positivos. Por outro lado, estudos indicam que a exposição a altos níveis de alérgenos de animais como gato e cachorro tem papel protetor para o desenvolvimento de sensibilização e de asma, causando tolerância imunológica ou induzindo uma resposta Th2 modificada com produção de anticorpos IgG4 ao invés de IgE(127) (128).

Níveis de alérgenos de ácaros e baratas são elevados em domicílios e em locais públicos como escolas e creches (129). Em contrapartida, níveis de alérgenos de gato e cachorro são muito baixos e a sensibilização a esses alérgenos é encontrada em baixa frequência em nosso meio. Em pacientes já sensibilizados e geneticamente predispostos a apresentar níveis altos de IgE sérica, a presença de níveis elevados de alérgenos de ácaros ou baratas na poeira domiciliar pode ser um fator determinante de episódios de asma ou chiado(130, 131).

Estudo prospectivo em grupo de crianças de Ribeirão Preto demonstrou a importância da sensibilização alérgica nos dois primeiros anos para a persistência de episódios de chiados durante a idade pré-escolar. Para este grupo de crianças, os alérgenos de ácaros foram os mais frequentemente associados à sensibilização alérgica (105). Estudos sobre exposição aos alérgenos da poeira domiciliar, principalmente ácaros, têm demonstrado uma relação direta e intensa entre sensibilização alérgica e desenvolvimento de asma (132).

Um estudo multicêntrico na Alemanha encontrou associação entre sensibilização alérgica aos aeroalérgenos intradomiciliares com chiado persistente, asma e hiper-responsividade brônquica (133).

Inúmeros fatores domiciliares importantes como aumento da temperatura, uso de carpetes, maior aglomeração (maior número de pessoas em casas menores), menor ventilação, aumentaram as condições para o crescimento de ácaros da poeira, acarretando maior chance de sensibilização alérgica aos expostos a esses ambiente. Recomendações para diminuir a exposição a esses alérgenos podem levar a melhora dos sintomas e da qualidade de vida nesses pacientes (134).

Muitos têm sido os esforços para melhor identificar as partículas ativamente imunogênicas dos alérgenos ambientais e o mecanismo de sensibilização dos mesmos. Estudos tem se direcionado na pesquisa de resposta das células T aos aeroalérgenos e da relação dose-resposta entre exposição e sensibilização alérgica para determinação dos sintomas de asma e hiper-reatividade brônquica(127, 135).

### **Microbioma**

Em relação à exposição a microrganismos, estudos atuais apontam que índices elevados de endotoxinas presentes no domicílio de ambientes rurais protegem contra a sensibilização alérgica(135, 136). Além disso, viver em ambiente rural pode promover efeito protetor para o desenvolvimento de asma, e este efeito é mais importante quando ocorre intraútero e durante a infância. Tais resultados podem estar associados à diversidade microbiológica própria do ambiente rural.(137, 138).

O microbioma dos tratos gastrintestinal e respiratório, da pele e do ambiente tem recebido mais atenção, mas os estudos de coorte ainda são poucos e estão mais relacionados à associação com o desenvolvimento de dermatite atópica.(139, 140)

## 1.2 Escores clínicos preditivos de asma

As crises de chiado constituem uma das possíveis manifestações clínicas da asma e sabe-se que este é um sintoma comumente encontrado na infância. Entre os pacientes que desenvolvem sintomas crônicos de asma quando adultos, a maioria tem história de episódio de chiado e hiper-reatividade brônquica quando crianças (141). No entanto, apesar de 50% das crianças em idade pré-escolar apresentarem episódios de chiado, apenas 10 a 15% tem confirmação do diagnóstico de asma quando atingem a idade escolar(142).

Estudos de coorte prospectivos identificaram diferentes tipos de evolução possíveis para crianças que chiram nos primeiros anos de vida: os chiadores transitórios (crianças que chiram antes dos 3 anos, mas não apresentaram novos episódios aos 5-6 anos), os chiadores de início tardio (aqueles que apresentaram episódios de chiado apenas aos 5-6 anos) e os chiadores persistentes (os que iniciaram episódios de chiado antes dos 3 anos e permaneceram com sintomas aos 5-6 anos) (56, 57).

Na coorte de Manchester, Lowe e colaboradores analisaram em 2005 diferentes fenótipos de asma em 496 crianças e observaram que apresentar função pulmonar diminuída aos 3 anos de idade foi fator de risco para persistência dos sintomas em crianças que iniciaram os episódios de chiado antes dos 3 anos; no entanto, não houve associação entre alterações da função pulmonar aos 3 anos e chiado de início tardio (57).

Portanto, a identificação de lactentes sibilantes com maior risco de desenvolver asma na idade escolar é de grande importância para a introdução precoce de medidas que possam minimizar o impacto da asma sobre a morbidade e mortalidade. Para auxiliar na identificação desses pacientes, foram desenvolvidos escores clínicos preditivos de asma, como por exemplo o API (*Asthma Predictive Index*) e o PIAMA (*Prevention and incidence of asthma and mite allergy*).

### 1.2.1 API (*Asthma Predictive Index*)

A partir dos estudos de coorte de Tucson, Arizona, foi possível definir critérios clínicos associados ao maior risco de asma em lactentes chiadores, com o desenvolvimento do API, ou índice preditivo de asma (57).

Por meio de análise univariada, os autores identificaram dois critérios maiores: diagnóstico médico de asma em pelo menos um dos pais e diagnóstico de dermatite atópica na criança; e três critérios menores: diagnóstico de rinite alérgica na criança, presença de pelo menos um episódio de chiado sem resfriados (entre dois e três anos de vida) e eosinofilia  $\geq 4\%$  (no primeiro ano de vida).

Nesse estudo, crianças que apresentaram sibilância precoce recorrente (valor  $\geq 3$ , numa escala de frequência de sintomas que ia de 1 a 5) e pelo menos 1 dos 2 critérios maiores, ou 2 dos 3 critérios menores foram classificadas como tendo o *API stringent index* (*S-API*) positivo. Por outro lado, crianças que apresentaram valor  $< 3$  nesta mesma escala e pelo menos 1 dos 2 critérios maiores ou 2 dos 3 critérios menores descritos acima foram classificadas como tendo o *API Loose index* positivo (*L-API*).

Quando avaliadas entre 6 e 13 anos de idade, 76% das crianças com *S-API* positivo e 59% daquelas com *L-API* positivo apresentavam asma em atividade (definida como diagnóstico médico de asma e pelo menos um episódio de chiado no ano anterior, ou mais de 3 episódios de chiado no ano anterior, independentemente do diagnóstico médico de asma) em pelo menos uma das avaliações.

Lactentes chiadores positivos para o *L-API* apresentam 2,6 a 5,5 mais chance de desenvolver asma na idade escolar, quando comparados ao lactentes com *L-API* negativo (72).

Em 2004, após estudo envolvendo 285 crianças, realizado pelo mesmo grupo, foi desenvolvido o *API<sub>m</sub>* (*API* modificado). Neste índice, foi incluída a sensibilização alérgica a um ou mais aeroalérgenos como critério maior. Além disso, a sensibilização a alimentos (leite, ovo ou amendoim) foi inserida como critério menor, substituindo o diagnóstico médico de rinite alérgica, presente no estudo original (143).

Castro-Rodriguez recentemente reforçou a importância e simplicidade da aplicação do *API*, em comparação a outros escores preditivos de asma (144-146).

### **1.2.2 PIAMA (Prevention and incidence of asthma and mite allergy)**

Em 2009, uma coorte da Holanda (*PIAMA – Prevention and incidence of asthma and mite allergy*) utilizou dados de 3963 crianças, acompanhadas por 5 anos, para o desenvolvimento de outro escore. Foram avaliados possíveis fatores

preditores de asma aos 7-8 anos em um subgrupo de 2171 crianças com relato de sibilância ou tosse noturna sem resfriado antes dos 4 anos. Sexo masculino, nascimento pós-termo, nível de educação dos pais, uso de medicação inalada, sibilância recorrente, sibilância ou dispnéia sem resfriados, infecções do trato respiratório, e eczema foram fatores preditores de asma, independentemente. A partir daí, o escore utilizou esses 8 parâmetros clínicos e considerou crianças de risco as que apresentavam escore maior ou igual a 20.(147)

Estudo realizado na Colômbia, aplicou o *API* e o *PIAMA* em crianças entre 1 e 3 anos e avaliou o diagnóstico de asma aos 5-6 anos. Os autores concluíram que os dois índices podiam ser usados para predizer asma em pré-escolares daquela região.(148)

### 1.2.3 Outros escores

Estudo da Noruega, após observação de 449 crianças, atribuiu pontos relacionados ao número de episódios de chiado e às hospitalizações provocadas por sibilância e desenvolveu um escore com escala de 1 a 12, onde considerava crianças com escore maior que 5, aos dois anos de vida, como de maior risco para desenvolvimento de asma aos 10 anos.(149)

Uma coorte de 1456 crianças nascidas na Ilha de Wight, na Inglaterra, foi utilizada para desenvolver um outro escore que envolve 4 principais itens como preditores de alto risco de chiado persistente aos 10 anos de vida: história familiar de asma, infecções respiratórias no segundo ano de vida, sensibilização atópica aos 4 anos e ausência de sintomas recorrentes nasais. (150)

Leonardi e colaboradores estudaram 1954 crianças da coorte de Leicester (Reino Unido) para comparar com os resultados encontrados na coorte de Tucson. Os pacientes foram acompanhados desde 1 até 10 anos de vida. Os resultados encontrados em Leicester foram semelhantes aos de Tucson no que diz respeito à capacidade do *API* de predizer asma em escolares(151).

Visto a diversidade de fatores envolvidos na etiologia e fisiopatologia da asma e a dificuldade na identificação precoce de lactentes sibilantes com maior risco de desenvolver asma na idade escolar, o presente estudo pretende avaliar o desenvolvimento de asma na idade escolar em um grupo de lactentes de Ribeirão

Preto/SP que foi atendido em serviço de emergência por apresentar episódio de chiado entre zero e dois anos de vida .

Pretende ainda determinar as propriedades discriminativas do *API* para o desenvolvimento de asma na idade escolar nesse grupo de pacientes.

Dentre tantos escores clínicos preditivos de asma, optamos pela avaliação do *API* neste grupo de pacientes, visto que diversos estudos longitudinais continuam usando este escore pela praticidade e custo e também porque a sensibilização a diferentes alérgenos varia conforme a região. O *API* combina parâmetros clínicos e laboratoriais de medida simples e também de fácil aplicação (152, 153).

Devemos considerar que a população americana estudada durante o desenvolvimento do *API* vive realidade diferente do Brasil no que diz respeito a aspectos geográficos, populacionais e socioeconômicos, podendo a aplicação deste escore ser válida ou não em nosso meio.

## 2 HIPÓTESE

A aplicação do *Asthma Predictive Index (API)* em lactentes brasileiros que foram atendidos em serviço de emergência por episódio de chiado é útil para identificar crianças com maior risco para o desenvolvimento de asma na idade escolar.

### 3 OBJETIVOS

Avaliar o desenvolvimento de asma na idade escolar em lactentes de Ribeirão Preto/SP que foram atendidos em serviço de emergência por apresentar episódio de chiado entre zero e dois anos de vida .

Determinar as propriedades discriminativas do *Asthma Predictive Index (API)* para o desenvolvimento de asma na idade escolar nesse grupo de pacientes.

## **4 CASUÍSTICA E MÉTODOS**

### **4.1 Modelo do estudo**

É um estudo analítico observacional longitudinal prospectivo (estudo do tipo coorte prospectiva).

### **4.2 População de estudo**

Pacientes atendidos com crise aguda de chiado, entre zero e vinte e quatro meses de idade, nas unidades de emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – HCFMRP-USP (setor público) e do Hospital Santa Lydia (setor público e privado) em Ribeirão Preto, no período entre janeiro de 1999 a junho de 2000.

Os pacientes incluídos no presente estudo participaram de dois estudos prévios sobre fatores de risco para crise aguda de chiado em crianças de 0 a 12 anos (71) e fatores de risco para persistência de chiado em crianças entre 2-4 anos de idade que chiaram nos dois primeiros anos de vida (105).

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP (Processo n° 10542/2007) e os responsáveis pelas crianças assinaram termo de consentimento após explicação detalhada do estudo (anexo 1).

### **4.3 Critérios de inclusão**

Foram selecionadas para o estudo, crianças entre zero e vinte e quatro meses de idade que apresentaram crise aguda de chiado, necessitando do uso de  $\beta_2$  agonista por via inalatória para seu tratamento, a julgar pelo critério do médico assistente.

### **4.4 Critérios de não inclusão**

Crianças que apresentassem doenças respiratórias crônicas como bronquiectasias, imunodeficiências com pneumonias de repetição, fibrose cística,

história sugestiva de displasia broncopulmonar, que relataram uso de corticosteroide sistêmico ou tópico nas últimas quatro semanas, que não residiam em Ribeirão Preto ou que os pais não consentiram não participaram do estudo. Também não foram incluídas as crianças que pela gravidade do quadro clínico apresentaram alterações do nível de consciência ou que necessitaram de assistência ventilatória mecânica.

#### 4.5 Desenho do estudo

Para a realização do presente estudo (tempo T4), crianças que participaram de dois estudos anteriores sobre fatores de risco para crise e persistência de chiado (71, 105), foram reconvocadas para realizar nova avaliação clínica e exames laboratoriais. Neste momento as crianças tinham entre 8 e 12 anos de idade e foram entrevistadas e submetidas ao teste cutâneo de hipersensibilidade imediata para alérgenos inalantes e alimentares, além de dosagem de IgE sérica total e espirometria para avaliação da função pulmonar e confirmação do diagnóstico de asma.

As crianças com espirometria normal para idade, sexo e estatura foram submetidas ao teste de broncoprovocação com metacolina para avaliação de hiper-responsividade brônquica.

Na entrevista, foram coletadas informações sobre a evolução clínica das crianças através de questionário baseado em perguntas utilizadas durante a coleta de dados do *International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)*, conforme anexo 2. As perguntas foram respondidas pelos pais ou responsáveis com a colaboração dos próprios pacientes e as respostas foram utilizadas para a determinação do diagnóstico de asma, juntamente com o resultado das provas de espirometria e de broncoprovocação com metacolina.

Nas fases anteriores do estudo, após o atendimento inicial no serviço de urgência por episódio de chiado (tempo T1), as crianças selecionadas foram avaliadas em duas visitas subsequentes: aos 12 ( $\pm 3$ ) meses (tempo T2) e 24 ( $\pm 3$ ) meses (tempo T3) após o primeiro atendimento. A idade mediana nestas ocasiões foi de 17,5 (T2) e 32 (T3) meses, respectivamente.

Em T1, momento da seleção do grupo, as crianças que tinham entre 0 e 24 meses de vida foram avaliadas clinicamente, e os pais ou responsáveis forneceram

informações para preenchimento de questionário incluindo história da doença atual e sua evolução, antecedentes alérgicos da criança (incluindo dermatite atópica e/ou rinite alérgica) e de seus familiares (diagnóstico médico de asma materna e/ou paterna), tempo de amamentação e presença de fumantes no domicílio. Além disso, foram coletadas amostras de sangue periférico para realização de hemograma (identificação de eosinofilia), dosagens de IgE total e anticorpos IgE específicos para inalantes (ácaros, barata, gato, cachorro) e alimentos (ovo, leite de vaca, trigo, soja, amendoim e peixe) no soro. Também foi realizada análise do lavado nasal para detecção de vírus respiratórios (vírus respiratório sincicial- VRS, rinovírus, coronavírus, adenovírus, vírus influenza e parainfluenza) para caracterizar episódio de chiado sem resfriado. Neste momento, foram utilizados os seguintes dados para aplicação do *API*: o diagnóstico médico de asma em pelo menos um dos pais, diagnóstico médico de dermatite atópica na criança e eosinofilia  $\geq 4\%$ .

Em intervalo de até três semanas após a primeira avaliação, foi realizada visita domiciliar para coleta de poeira de diversas partes da casa e, a partir destas amostras, foram quantificados os níveis de alérgenos principais de ácaros, barata, epitélios de gato e cachorro, com o objetivo de avaliar a exposição alérgica intradomiciliar. Amostras de fezes foram colhidas para análise protoparasitológica no momento da primeira avaliação ou por ocasião da visita domiciliar.

Em T2, após aproximadamente 12 meses da primeira avaliação, foram realizados avaliação clínica e preenchimento de questionário sobre sintomas nasais, chiado e manifestações cutâneas de dermatite atópica. Foi entregue à mãe ou responsável um questionário para ser preenchido durante os 12 meses subsequentes, sobre sintomas respiratórios presentes durante as crises. Nesta etapa não foram realizados exames laboratoriais.

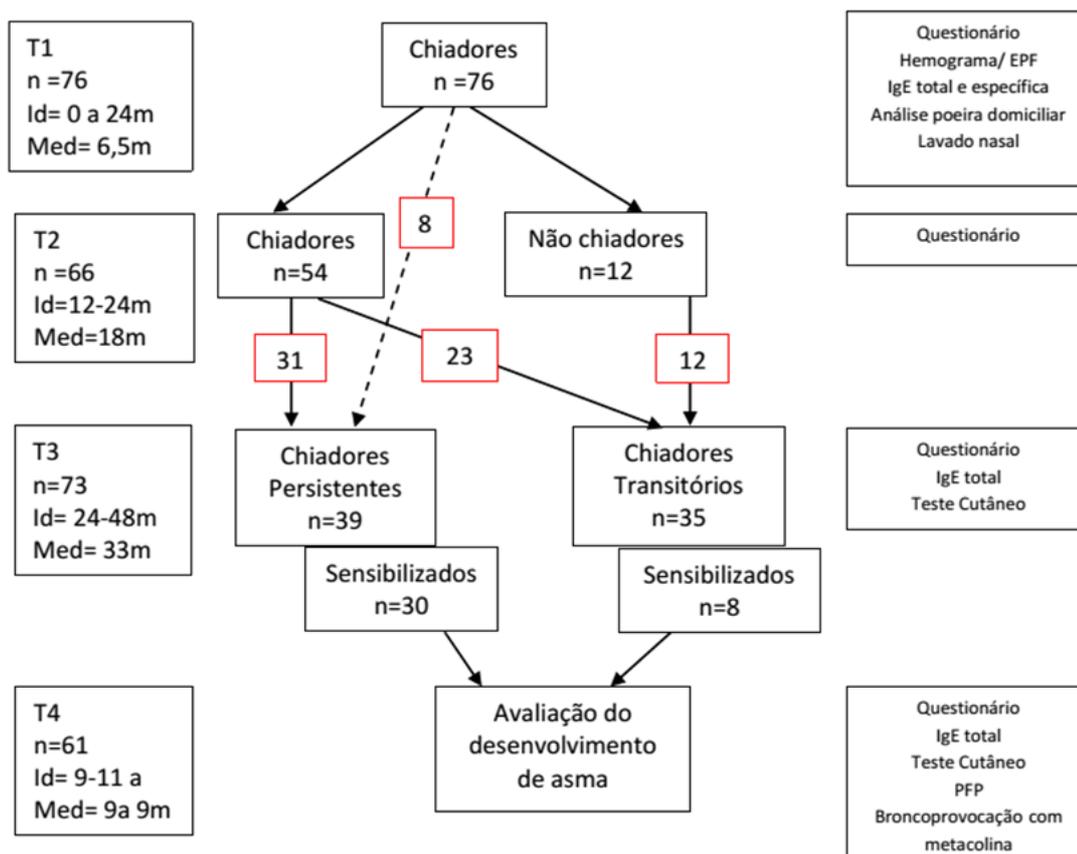
Em T3, após aproximadamente 24 meses da primeira avaliação, além de novo questionário e reavaliação clínica, foram realizados testes cutâneos de hipersensibilidade imediata para inalantes e alimentos, e dosagens de IgE total e anticorpos IgE específicos para inalantes no soro.

Foram consideradas sensibilizadas todas as crianças que apresentaram teste cutâneo de hipersensibilidade imediata e/ou IgE específica positivos ao final dos dois anos de estudo. Neste momento foi determinado o diagnóstico de rinite alérgica na criança, e a presença de pelo menos um episódio de chiado sem resfriados (entre o segundo e terceiro ano de vida), parâmetros utilizados para a aplicação do *API*.

Além disso foi avaliada a frequência de episódios de chiado, o que permitiu definir a classificação em *L-API* ou *S-API*. Nesta fase, as crianças que haviam apresentado 3 ou mais episódios de chiado nos últimos 12 meses foram classificadas como chiadores persistentes e aquelas que apresentaram menos de 3 episódios foram classificadas como chiadores transitórios.

Em resumo, foram utilizados dados coletados em T1 e T3 para definirmos o *API* na etapa em que as crianças tinham idade entre 24 e 48 meses. Dados coletados em T4 permitiram classificar as crianças em asmáticas ou não, quando tinham entre 8-12 anos.

A figura 2 ilustra as avaliações realizadas nesse grupo de crianças desde os dois primeiros anos de vida até a etapa atual.



**Figura 2.** Fluxograma das avaliações realizadas em 76 crianças que chiaram nos dois primeiros anos de vida.

## 4.6 Métodos

**Testes cutâneos de hipersensibilidade imediata** - Os testes cutâneos de hipersensibilidade imediata (testes de punctura ou “*prick tests*”) foram realizados por profissional técnico habilitado (biomédica, Sra. Luciana Roberti), no antebraço, após assepsia com álcool 70%, usando lanceta para punctura (*BAYER, Spokane, USA*). Todos os pacientes foram testados para os extratos de ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus* 30.000 AU/mL, *D. farinae* 30.000 AU/mL, *Blomia tropicalis* 30.000AU/ml ), baratas (*Blattella germanica* 1:10 p:v, *Periplaneta americana* 1:10 p:v), epitélio de gato 10,000 BAU/mL, epitélio de cachorro 1:10 p:v, e alimentos (ovo 1:10 p:v, leite de vaca 1:20 p:v, trigo 1:10 p:v, soja 1:10 p:v, amendoim 1:10 p:v, e peixe 1;20 p:v) (*BAYER, USA*). As reações foram consideradas positivas quando ocorreu a formação de pápula com diâmetro > 3 mm, acompanhada de eritema, dentro de 15 minutos após a aplicação do extrato. Em todos os testes foram utilizados controle positivo (10mg/mL de histamina dihidroclorídrica, *BAYER*) e controle negativo (solução salina-albumina estéril com fenol, *BAYER*).

**Determinação da concentração de IgE total** - As medidas de IgE total foram realizadas através de ensaio fluoroenzimático automatizado (sistema *Uni-CAP, Pharmacia*), de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em kU/L e considerados elevados quando os valores eram superiores a 100 kU/ L.

**Espirometria** – As provas foram realizadas pela própria pesquisadora, em aparelho próprio (*Koko spirometry*), com as técnicas recomendadas pelo fabricante, e considerando-se para a análise, a realização de três curvas aceitáveis e reprodutíveis após esforço máximo, sem tosse ou vazamento.

Foi feita a análise dos volumes e capacidade pulmonar, definindo-se o padrão obstrutivo para diagnóstico de asma, quando havia diminuição do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) e/ou da relação VEF1/CVF (capacidade vital forçada) para valores  $\leq 80\%$ , quando comparados ao previsto para cada paciente de acordo com idade, sexo e estatura.

**Teste de broncoprovocação com metacolina** - Para a realização dos testes de broncoprovocação, foram seguidas normas divulgadas nas Diretrizes Para Testes de Função Pulmonar (Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, 2002). Os testes foram realizados no Serviço de Pneumologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, pelo próprio pesquisador. O teste foi realizado com a inalação da metacolina (em concentrações crescentes, começando em 0,06 mg/ml e aumentando gradativamente para 0,125 mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5 mg/ml, 1,0 mg/ml, 2,0 mg/ml, 4,0 mg/ml e 8,0 mg/ml) durante dois minutos, seguida da realização de espirometria, antes de cada aumento de concentração, até que houvesse queda de 20% do VEF1 basal ou até que o paciente apresentasse sintomas de tosse seca persistente, falta de ar, aperto no peito ou sibilos que o impedisse de continuar o exame. Nessas duas condições, o teste era considerado positivo.

#### 4.7 Definições clínicas

**Rinite atual**- Presença de sintomas de espirros e/ou prurido nasal e/ou coriza e/ou obstrução nasal sem relação com episódios de infecção viral de vias aéreas e associados a teste cutâneo de hipersensibilidade imediata positivo para um ou mais dos alérgenos testados.

**Asma** – Paciente com hiper-reatividade brônquica (PC20 menor do que 4,0 mg/ml) ou espirometria alterada e diagnóstico médico prévio de asma brônquica; ou paciente com hiper-reatividade brônquica (PC20 menor do que 4,0 mg/ml) ou espirometria alterada e pelo menos um dos seguintes sintomas respiratórios: sibilos (chiado no peito) nos últimos 12 meses; sibilos (chiado),tosse ou aperto no peito ao realizar atividade física nos últimos 12 meses; tosse seca sem estar gripado ou resfriado nos últimos 12 meses.

**História familiar positiva para alergia** - Definida como a presença de rinite alérgica e/ou asma e/ou dermatite atópica em mãe e/ou pai e/ou irmãos, diagnosticada por médico.

**Sensibilização alérgica** - Definida pela presença de teste cutâneo de hipersensibilidade imediata positivo para pelo menos um dos alérgenos testados.

#### 4.8 Identificação de crianças com *Asthma Predictive Index (API)* positivo

Crianças que apresentaram um dos critérios maiores e/ou 2 dos 3 critérios menores descritos abaixo foram identificadas como *API* positivas, sendo classificadas em *S-API* ou *L-API* (*Stringent* ou *Loose Asthma Predictive Index*) se foram chiadores persistentes ou chiadores transitórios em T3, respectivamente (Figura 2).

##### **Crítérios Maiores**

- 1- diagnóstico médico de asma em pelo menos um dos pais.
- 2- diagnóstico médico de dermatite atópica na criança.

##### **Crítérios Menores**

- 1- diagnóstico de rinite alérgica na criança.
- 2- presença de pelo menos um episódio de chiado sem resfriados (entre o segundo e terceiro ano de vida).
- 3- eosinofilia  $\geq 4\%$ .

#### 4.9 Análise estatística

Para variáveis contínuas foram calculadas médias e desvios-padrão ou medianas e quartis. Variáveis categóricas foram expressas como porcentagens. Diferenças das variáveis categóricas entre as crianças asmáticas e não asmáticas aos 8-12 anos foram analisadas usando teste do Qui-quadrado ou Fisher. Diferenças das variáveis contínuas entre os dois grupos de pacientes foram analisadas usando o teste T não pareado ou teste de Wilcoxon.

As seguintes propriedades discriminativas do índice *API* aplicado nas crianças entre 2-4 anos de idade (T3) em relação ao diagnóstico de asma entre 8-12 anos (T4) foram calculadas:

- Sensibilidade – proporção de pacientes com *API* positivo que desenvolveram asma.

- Especificidade –proporção de pacientes com *API* negativo que não desenvolveram asma.
- Valor preditivo positivo – proporção de pacientes asmáticos que tinham *API* positivo.
- Valor preditivo negativo – proporção de pacientes não asmáticos que tinham *API* negativo.
- Razões de verossimilhança (positiva e negativa)– indica quantas vezes é mais (ou menos) provável que pacientes com *API* positivo desenvolvam asma.

Para cada resultado foi determinado um intervalo de confiança de 95%.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Características clínicas da população em estudo

Durante a atual avaliação clínica dos pacientes, foram entrevistados 61 (80,3%) dos 76 pacientes inicialmente incluídos no estudo. Desses, 52 (68,4%) foram submetidos também ao teste cutâneo e 50 (65,8%) realizaram a investigação completa, sendo que 2 desses 50 pacientes submetidos à prova de função pulmonar não conseguiram finalizar o exame por dificuldades em realizar a técnica adequada. Ou seja, um total de 48 (63,1%) pacientes realizaram a avaliação completa: entrevista com aplicação do questionário (anexo 2), teste cutâneo de hipersensibilidade imediata, prova de função pulmonar com broncoprovocação e coleta de amostra de sangue para dosagem de IgE total.

Não conseguimos localizar 10 pacientes e 5 não concordaram em participar da continuação da pesquisa, por motivos pessoais.

A média de idade dos pacientes em T1 foi de 6,5 meses; em T2, 18 meses; em T3, 33 meses. Na fase atual da pesquisa a média de idade é de 9 anos e 9 meses, variando entre 8 anos e 5 meses e 12 anos e 2 meses.

Na Tabela 1, a seguir, estão descritas algumas características da população em estudo em T1 e T4.

Podemos destacar que em 80% das crianças havia sido identificado algum vírus respiratório quando do episódio inicial de chiado. Além disso, a maioria das crianças (72%) tinha história familiar de alergia, 44,2% eram sensibilizadas a algum alérgeno, 37% tinham rinite alérgica e 36% relatavam pelo menos uma crise de chiado nos últimos 12 meses.

Tabela 1 - Características clínicas de um grupo de escolares entre 8 e 12 anos, de Ribeirão Preto/SP, que apresentaram episódio de chiado entre 0 e 24 meses de idade.

<b>Características</b>	<b>% (n)*</b>
Sexo masculino	65,6 (40/61)
Aleitamento materno exclusivo até 1 mês	83,3(50/60)
Mães fumantes durante a gestação (T1)	34,5(20/58)
Identificação de vírus (T1)	80(48/60)
Identificação de VRS (T1)	39(23/59)
História familiar de alergia (T4)	72 (44/61)
Mães fumantes (T4)	29,5 (18/61)
Fumantes no domicílio (T4)	59 (36/61)
IgE total > 100UI/L (T4)	50(26/52)
Sensibilização alérgica (T4)	44,2(23/52)
Rinite Alérgica (T4)	37(19/52)
Crise de sibilância**	36 (22/61)
Sibilos em atividades físicas***	21 (13/61)
Tosse sem gripe ou resfriado*	46 (28/61)

\* valores de n diferentes por informações ignoradas

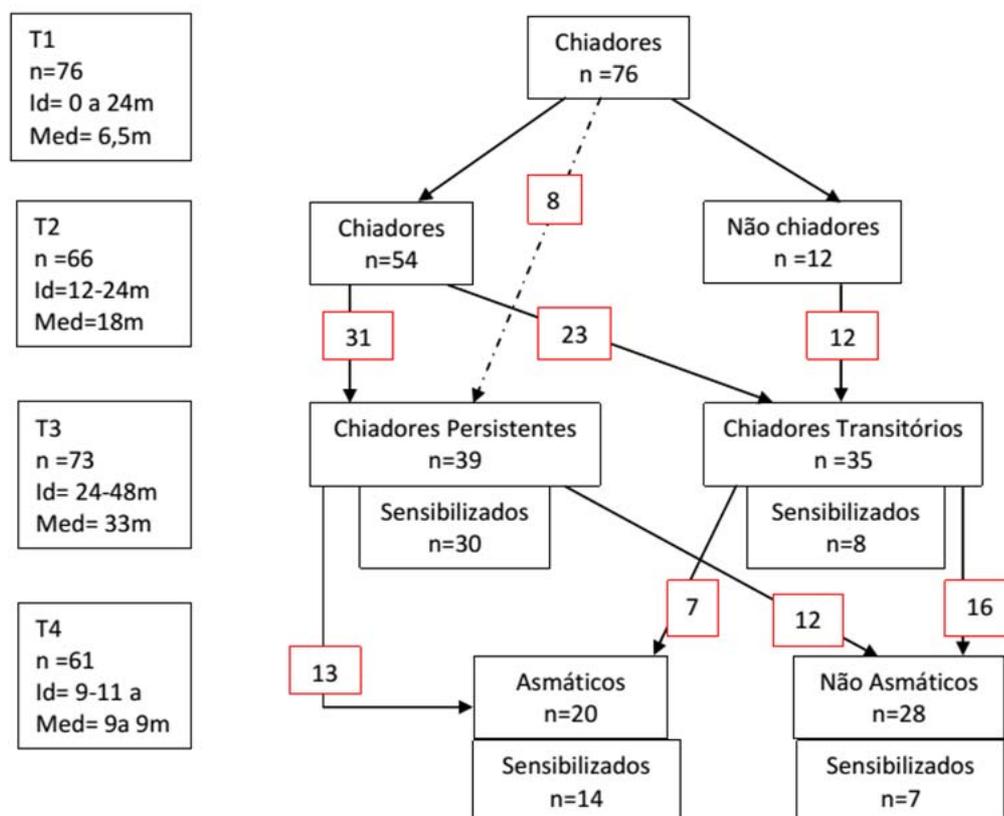
\*\*nos últimos 12 meses

## 5.2 Evolução clínica dos pacientes

### Diagnóstico de Asma

O fluxograma abaixo, representado pela Figura 3, ilustra a ocorrência de chiado persistente (3 ou mais episódios por ano) ou transitório (menos que 3 episódios por ano), o desenvolvimento de asma e a presença de sensibilização alérgica nas diferentes fases do estudo. Entre as 48 crianças avaliadas na etapa atual (T4), 32/48 (66,7%) tinham espirometria ou teste de provocação com metacolina alterados e 20/48 (41,7%) foram identificadas como asmáticas.

Treze de 24 (54%) crianças anteriormente classificadas como chiadores persistentes entre 2 e 4 anos (T3) e 7 de 23 (30,4%) crianças classificadas como chiadores transitórios evoluíram para o diagnóstico de asma.



**Figura 3.** Fluxograma da evolução clínica e sensibilização alérgica de 76 crianças, que apresentaram episódio de chiado entre 0 e 24 meses.

A tabela 2 mostra que a maioria das crianças asmáticas (14/20; 70%) eram sensibilizadas a pelo menos um alérgeno enquanto que, entre as crianças não asmáticas o número de sensibilizadas é menor (n=7/28; 25%). Essa diferença foi significativa (teste qui quadrado;  $p=0,005$ ).

Tabela 2 - Presença de sensibilização alérgica de acordo com o diagnóstico de asma em escolares de Ribeirão Preto/SP.

	Asmáticos (%)	Não asmáticos (%)
Sensibilização alérgica positiva (T4)	14 (70)	7 (25)
Ácaros	13 (65)	7 (25)
Fungos	1 (5)	0
Epitélio de cão	0	0
Epitélio de gato	3 (15)	0
Barata	4 (20)	3 (10,7)
Alimentos	0	0

Em relação ao tratamento medicamentoso da asma, nenhuma criança havia utilizado medicação no período intercrítico, mesmo as que haviam sido diagnosticadas como asmáticas pelos seus médicos. No entanto, 21/61(34,4%) crianças haviam sido tratadas com medicação durante episódio de chiado no último ano. Dezenove (31,1%) haviam usado  $\beta$ 2 de curta duração por via inalatória e 14/61 (30%) haviam utilizado corticoide sistêmico.

Entre os 20 pacientes asmáticos, 13 (65%) haviam usado medicação para crise no último ano e entre os 28 não asmáticos 5 (17,8%) tinham sido medicados (tabela 3).

Tabela 3 - Uso de medicações para controle dos sintomas de acordo com o diagnóstico de asma.

	Asmáticos (%)	Não asmáticos (%)
Uso de medicação para controle de crise	13 (65)	5 (17,8)
$\beta$ 2 curta geração – via inalatória	11 (55)	5 (17,8)
Corticoide sistêmico	7 (35)	4 (14,2)
Uso de medicação no período intercrítico	0	0
Sem medicação nos últimos 12 meses.	7 (35)	23 (82,1)

### 5.3 Aplicação do *Asthma Predictive Index*

A tabela 4 mostra a frequência de pacientes com *S-API* e *L-API* positivos em T3 e a porcentagem de pacientes que desenvolveram asma.

Tabela 4 - Frequência de pacientes asmáticos e não asmáticos, de acordo com a classificação do *API-Asthma Predictive Index*.

		Diagnóstico de Asma	
		Presente n=20 (%)	Ausente n=28 (%)
<b><i>API</i></b>	Positivo	13 (65)	9 (32,1)
	S-API	10 (50)	7 (25)
	L-API	3 (15)	2 (7,1)
	Negativo	7 (35)	19 (67,9)
	S-API	2 (10)	5 (17,9)
	L-API	5 (25)	14 (50)

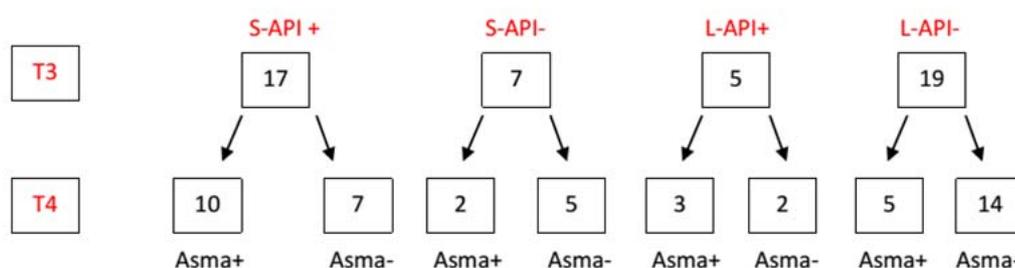
*API* – *Asthma Predictive Index*, *L-API* – *loose index*, *S-API* - *stringent index*.

Aplicando os critérios sugeridos pelo *API* à população estudada e considerando as informações obtidas nas fases anteriores do seguimento, observou-se que dos 20 pacientes com diagnóstico de asma em idade escolar, 13 (65%) apresentaram risco elevado para desenvolvimento de asma quando lactentes, sendo 10 (50%) e 3 (15%) com *S-API* e *L-API* positivos, respectivamente. Por outro lado, o *API* foi negativo em 7/20 pré-escolares (35%) diagnosticados como asmáticos na idade escolar: 2 chiadores persistentes e 5 chiadores transitórios, na avaliação em T3.

Já entre os 28 pacientes classificados como não asmáticos, apenas 9 (32,1%) apresentaram risco aumentado para desenvolvimento de asma entre 2 e 4 anos, enquanto 19 (67,9%) não.

Na figura 4, das 48 crianças avaliadas entre 8-12 anos, 17 (35,4%) eram chiadores persistentes em T3 ( $\geq 3$  episódios chiado/ano) e tinham *S-API* positivo: 10 (58,8%) desenvolveram asma e 7 (41,2%) não. Sete pré-escolares chiadores persistentes tinham *S-API* negativo e 2 deles (28,6%) desenvolveram asma.

Ainda na figura 4, por outro lado, 5 crianças classificadas como chiadores transitórios ( $<3$  episódios chiado/ano) tinham *L-API* positivo e 3 delas desenvolveram asma (60%). Dos 19 pré-escolares com *L-API* negativo 5 (26,3%) desenvolveram asma na idade escolar.



**Figura 4.** Fluxograma da evolução dos pacientes de acordo com a aplicação do *API* em T3 e o desenvolvimento de asma em T4.

### Critérios Maiores

Entre os 48 pacientes avaliados, 19 (39,6%) apresentavam resposta positiva a pelo menos um dos dois critérios maiores: 17 (35,4%) tinham pelo menos um dos

pais com diagnóstico médico de asma, 4 (8,3%) tinham diagnóstico médico de dermatite atópica e 2 deles tinham dois critérios maiores.

### Critérios Menores

Em relação aos critérios menores, 16 (33,3%) pacientes tinham diagnóstico médico de rinite alérgica, 9 (18,7%) apresentaram pelo menos um episódio de chiado sem resfriados entre o primeiro e segundo ano de vida e 14 (29,2%) tinham eosinofilia  $\geq 4\%$ .

Abaixo, na tabela 5, mostramos a frequência das características clínicas utilizadas na aplicação do API de acordo com o diagnóstico de asma.

Tabela 5 - Frequência das diferentes características utilizadas como critérios para aplicação do API-*Asthma Predictive Index*, de acordo com a presença ou ausência de asma em crianças brasileiras em idade escolar.

	Presença de Asma (n=20)	Ausência de Asma (n=28)	Total de crianças (n=48)
Chiado transitório*	7(35%)	16 (57.1%)	23/47(48,9%)
Chiado recorrente**	12 (60%)	12 (42,9%)	24/47 (51,1%)
<b>Diagnóstico médico de asma em pelo menos um dos pais#</b>	<b>11(55%)</b>	<b>6 (21,4%)</b>	<b>17 (35,4%)</b>
Diagnóstico médico de dermatite atópica	1 (5%)	3 (10,7%)	4 (8,3%)
Diagnóstico médico de rinite alérgica	7 (35%)	9 (32,1%)	16 (33,3%)
Presença de chiado sem resfriado	4 (20%)	5 (17,8%)	9 (18,7%)
Eosinofilia $>4\%$	6 (30%)	8 (28,5%)	14 (29,1%)

\* < 3 episódios de chiado/ano

\*\*  $\geq 3$  episódios de chiado/ano # diferença significativa (Teste do qui-quadrado;  $p=0,036$ )

### Sensibilidade, Especificidade, Valores Preditivos e Razões de Verossimilhança

A partir desses dados, foram avaliadas a sensibilidade e a especificidade, valor preditivo positivo e negativo da aplicação do API em pré-escolares brasileiros, com a finalidade de predizer o risco para o desenvolvimento de asma nessas crianças quando em idade escolar.

Quando avaliando o *API* positivo de forma geral, a sensibilidade foi de 65% e a especificidade de 67,9%. O valor preditivo positivo foi de 59,1% e o negativo de 73,1%. Já as razões de verossimilhança positiva e negativa foram de 2,0 e 0,5% respectivamente.

Quando avaliamos os mesmos resultado subdividindo os grupos em *L-API* e *S-API*, os resultados são os descritos na Tabela 6.

Tabela 6 - Sensibilidade, Especificidade, Valores Preditivos, Razões de verossimilhança e seus respectivos Intervalos de Confiança de 95% na aplicação do *API* para diagnóstico de asma em escolares brasileiros.

	<b><i>Stringent API</i></b>	<b><i>Loose API</i></b>	<b><i>API</i></b>
<b>Sensibilidade</b>	83,3 (55,2–95,3)	37,5 (13,7-69,4)	65 (43,3-81,9)
<b>Especificidade</b>	41,7 (19,3-68,1)	87,5 (63,9-96,5)	67,9(49,3-82,1)
<b>VPP</b>	58,9 (36,0-78,4)	60,0 (23,1-88,2)	59,1(38,7-79,7)
<b>VPN</b>	71,4 (35,9-91,8)	73,7 (51,2-88,2)	73,1 (53,9-86,3)
<b>RVP</b>	1,43 (1,04-1,97)	3,0 (0,38-23,8)	2,02 (1,5-2,73)
<b>RVN</b>	0,4 (0,09-1,85)	0,71 (0,47-1,08)	0,51 (0,37-0,72)

*API* – Asthma Predictive Index; ; *S-API* - *stringent index*; *L-API* – *loose index*; VPP – valor preditivo positivo; VPN– valor preditivo negativo; RVP -razão de verossimilhança positiva; RVN - razão de verossimilhança negativa.

Esses resultados mostram que o *S-API* é mais sensível e menos específico que o *L-API* para o diagnóstico de asma nesse grupo de pacientes, enquanto que *API* geral tem sensibilidade e especificidade em torno de 65%. Os valores preditivos foram semelhantes para as três formas de *API*.

A razão de verossimilhança positiva foi de 1,43% no *S-API*, 3% no *L-API*, e 2,02% no *API* geral.

## 6 DISCUSSÃO

O presente estudo mostra que o *Asthma Predictive Index (API)* é útil para prever o diagnóstico de asma na idade escolar quando aplicado em crianças brasileiras que apresentaram episódio de chiado entre 0 e 2 anos. A razão de verossimilhança positiva do *API* para o diagnóstico de asma foi de 2,02%, com sensibilidade de 65% e especificidade de 67,9%.

É importante ressaltar que esta pesquisa acompanhou um grupo de 76 lactentes até a idade entre 8 e 12 anos e conseguiu coletar informações sobre sintomas sugestivos de asma, avaliar a sensibilização a alérgenos, determinar o diagnóstico clínico e funcional de asma, e medir a acurácia do *API* neste grupo de pacientes.

A amostra avaliada sofreu perdas que podem ser justificadas por tratar-se de estudo longitudinal de aproximadamente 10 anos de intervalo entre a primeira e a última avaliação. A localização dos pacientes também foi dificultada devido a mudanças de endereços e telefones.

A escolha do *API* e suas classificações em *S-API* e *L-API* (*stringent* e *loose API*, respectivamente), no presente estudo, é justificada por se tratar de um índice baseado em parâmetros clínicos, de fácil aplicação e que utiliza exames laboratoriais simples para sua interpretação, quando comparado com outros índices. *Karacoc et al* mostraram que a eosinofilia presente até os 11 anos de idade, por exemplo, pode estar associada ao diagnóstico de asma, independentemente da presença de sensibilização alérgica (154).

Para a maioria dos serviços de saúde, a coleta de um simples hemograma para análise de eosinofilia, é bem mais prático, rápido e barato do que determinar a sensibilização alérgica através de teste cutâneo ou coleta de dosagens de IgE específicas, que são exames com custo mais alto, cuja aplicação nem sempre pode ser realizada na primeira avaliação do paciente. Além disso, a sensibilização alérgica pode se desenvolver ao longo da infância, de acordo com a exposição do paciente a alérgenos presentes no ambiente(144).

Em comparação com outros índices, o *PIAMA* utiliza critérios como o “uso de medicação inalatória” e o “nível de educação dos pais” que estão diretamente relacionados a estratégias públicas de saúde e a oportunidades sociais(144). Tais parâmetros podem apresentar grandes diferenças devido à realidade

socioeconômica e cultural de cada região estudada. Além disso, sabemos que, escores com pesos diferentes entre diversos fatores analisados apresentam difícil aplicação na prática clínica agitada e peculiar do serviço de emergência, necessitando de mecanismos complexos pra sua realização e validação(144). O gênero também é um critério que pode gerar problemas na interpretação do índice, visto que a prevalência de asma de acordo com o sexo varia com a idade e também há diferenças no que se refere à experiência de sintomas, no diagnóstico e no uso de medicações para asma de acordo com o sexo(84).

Em contrapartida, o *S-API*, por exemplo, em estudos anteriores, apresentou a melhor combinação entre sensibilidade (apesar de baixa), especificidade e valores preditivos quando comparado com outros índices como o *PIAMA* ou o *Isle of Wight* (145). O *S-API* é o índice preditivo mais usado nos estudos recentes (152, 153, 155, 156) e nos consensos mais atuais sobre o estudo da asma como o *GINA* 2012. Quando é positivo aos 3 anos de idade está associado a 77% de chance de desenvolvimento de asma entre 6 e 13 anos. Crianças com *API* negativo aos 3 anos, tem 3% chance de desenvolver asma na idade escolar(144).

Foi utilizado o questionamento sobre o número de episódios de chiado no último ano para a classificação em *S-API* ou *L-API*, porque quantificar o número de crises parece ser uma forma mais objetiva de questionar se as crises são raras ou frequentes, visto que cada indivíduo pode ter uma percepção diferente frente à evolução apresentada. Essa informação foi registrada à época que as crianças tinham entre 2 e 4 anos de idade (105).

Sabe-se que a maioria dos casos de asma se iniciam durante os 3 primeiros anos de vida (72). No Brasil, a realidade da prática clínica diária tem mostrado que o primeiro contato do lactente chiador com o serviço médico é através do setor de emergência de hospitais públicos e privados, por isso, disponibilizar métodos rápidos e simples de identificação do paciente com risco elevado para o desenvolvimento de asma pode acelerar o processo de encaminhamento destes pacientes para serviços que disponham de profissional capacitado para seguimento, diagnóstico e tratamento precoces, visando minimizar a morbidade e mortalidade desta doença que é um importante problema de saúde pública também em países como o nosso (29).

Tendo em vista a dificuldade enfrentada pelos autores para definir asma e a diversidade de conceitos encontrados na literatura (157), optamos por estabelecer

uma definição de asma que levasse em conta parâmetros clínicos amplamente utilizados em estudos longitudinais prévios (30), bem como parâmetros funcionais, como o teste da metacolina, para confirmação da existência de hiper-reatividade brônquica (12). Dessa forma, foi possível minimizar a confusão gerada quando o termo “chiado” é questionado aos pais de uma criança que apresenta sintomas respiratórios frequentes e que muitas vezes interpreta sintomas desencadeados por infecções virais das vias aéreas, tão comuns nessa faixa etária, como sintomas alérgicos (148).

No presente estudo, 41,7% das crianças foram identificadas como asmáticas, porcentagem maior do que a encontrada por Rodriguez-Martinez e colaboradores (22,5%) em estudo realizado na Colômbia, mesmo tendo eles utilizado apenas critérios clínicos para a definição de asma(148).

Avaliando a evolução clínica dos pacientes percebe-se que a maioria dos pacientes asmáticos eram chiadores persistentes e a maioria dos pacientes não asmáticos eram considerados chiadores transitórios em T3, concordando com estudos prospectivos anteriores, também realizados no Brasil (31).

Outra observação relevante é que a maioria das crianças asmáticas mostraram-se sensibilizadas a pelo menos um alérgeno quando comparadas a crianças não asmáticas, e essa diferença foi significativa. Estudos anteriores semelhantes, que utilizaram o *API* como índice preditivo para o desenvolvimento de asma, não avaliaram a sensibilização alérgica dessas populações. No entanto, Silva e colaboradores já haviam observado que, nesta mesma população, a sensibilização alérgica entre 0 e 2 anos de idade foi fator de risco independente para a persistência dos episódios de chiado entre 2 e 4 anos (105).

Além disso, analisando a frequência das diferentes características utilizadas como critérios para aplicação do *API*, observou-se que o número de crianças com diagnóstico de asma é maior entre as que tinham pelo menos um dos pais com diagnóstico médico de asma, quando comparadas com as que não tinham pais asmáticos.

No que se refere às propriedades discriminativas do *API*, de acordo com o nosso estudo, percebemos que a aplicação do *API* de forma geral, ou seja, sem classificar os pacientes em *S-API* ou *L-API* positivo (de acordo com a persistência do chiado), seria mais útil na prática clínica para a avaliação de crianças brasileiras que

deram entrada em unidade de emergência por episódio de chiado nos dois primeiros anos de vida (Tabela 4).

Primeiro, por não ser necessário classificar o paciente como chiador persistente ou transitório, o que evitaria viés de memória. Segundo, porque os resultados obtidos na aplicação do *API*, quando comparados ao *S-API* e *L-API*, revelaram intervalos de confiança menores, o que se justifica pelo maior número de crianças incluídas, sugerindo assim, que sua utilização seria mais confiável.

Apresentamos nas tabelas a seguir, a comparação entre os nossos resultados e os obtidos por dois outros estudos anteriores. O primeiro deu origem ao artigo original de descrição do *API* que foi desenvolvido por Castro-Rodriguez e colaboradores em 2000. Trata-se de um estudo epidemiológico que analisou dados de uma coorte de nascimento dos Estados Unidos que acompanhou 1246 crianças através do *Tucson Children's Respiratory Study* (145). O segundo é também um estudo epidemiológico realizado na Colômbia por Rodriguez-Martinez et al em 2011, onde 130 crianças foram acompanhadas até os 5-6 anos de idade (148).

É importante ressaltar que a análise dos resultados de cada estudo deve levar em conta as diferenças no tamanho das amostras, nos critérios de inclusão dos indivíduos, bem como os conceitos para definição de asma. Além disso a realidade brasileira pode se assemelhar à colombiana em alguns aspectos, porém algumas características clínicas da população estudada podem ser semelhantes às da coorte de Tucson.

Tabela 7 - Sensibilidade, Especificidade, Valores Preditivos, Razão de verossimilhança positiva e seus respectivos Intervalos de Confiança de 95% na aplicação do *L-API* para diagnóstico de asma em diferentes populações.

	Brasil	EUA <sup>(72)</sup>	Colômbia <sup>(148)</sup>
Sensibilidade	37,5 (13,7-69,4)	41,6(37,8-45,4)	71,4(50,0-86,2)
Especificidade	87,5 (63,9-96,5)	84,7(81,9-87,5)	33,3(23,5-44,8)
VPP	60,0 (23,1-88,2)	59,1(55,3-62,9)	23,8(15,0-35,6)
VPN	73,7 (51,2-88,2)	73,2(69,8-76,6)	80(62,7-90,5)
RVP	3,0 (0,38-23,8)	3,9(2,7-5,7)	1,07(0,78-1,47)

*L-API* – *loose index*; VPP – valor preditivo positivo; VPN– valor preditivo negativo; RVP -razão de verossimilhança positiva.

Na tabela 7 podemos destacar que as propriedades discriminativas do *L-API* para o diagnóstico de asma encontradas no grupo de crianças brasileiras foram mais semelhantes às encontradas no estudo original do *API*, desenvolvido nos Estados Unidos do que as encontradas em estudo semelhante desenvolvido na Colômbia.

Tabela 8 - Sensibilidade, Especificidade, Valores Preditivos, Razão de verossimilhança positiva e seus respectivos Intervalos de Confiança de 95% na aplicação do *S-API* para diagnóstico de asma em diferentes populações.

	Brasil	EUA <sup>(72)</sup>	Colômbia <sup>(148)</sup>
Sensibilidade	83,3 (55,2-95,3)	15,7(12,9-18,5)	42,9(24,5-63,5)
Especificidade	41,7 (19,3-68,1)	97,4(96,2-98,6)	79,2(68,4-86,9)
VPP	58,9 (36,0-78,4)	76,6(73,4-79,8)	37,5(21,2-57,3)
VPN	71,4 (35,9-91,8)	68,3(64,7-71,9)	82,6(72,0-89,8)
RVP	1,43 (1,04-1,97)	7,1(3,5-14,1)	2,06(1,05-4,01)

*S-API* – *stringent index*; VPP – valor preditivo positivo; VPN – valor preditivo negativo; RVP – razão de verossimilhança positiva.

A análise da tabela 8 mostra que os resultados encontrados no nosso estudo com crianças brasileiras foram diferentes dos resultados encontrados em crianças americanas, com valores de sensibilidade mais altos e especificidade, VPP e razão de verossimilhança positiva mais baixos. Quando comparado ao estudo colombiano, nossos resultados mostram diferenças mais importantes nos valores de sensibilidade (mais alta) e especificidade (mais baixa).

É interessante notar que as propriedades discriminativas do *L-API* obtidas no nosso estudo são muito semelhantes àquelas do estudo original de descrição do *API*, que foi realizado em crianças americanas incluídas ao nascimento e acompanhadas prospectivamente, sendo que o critério diagnóstico de asma baseou-se apenas em manifestações clínicas como o diagnóstico médico de asma e quantidade de episódios de chiado no último ano.

De maneira geral, a literatura mostra que a aplicação do *API* em pré-escolares que apresentam chiado em diferentes populações contribui para a identificação precoce de crianças com maior risco de desenvolver asma na idade escolar, o que pode beneficiar médicos e pacientes na prática clínica.

Nesse contexto, estudo duplo-cego controlado com placebo, realizado em 2008 nos Estados Unidos com 238 crianças entre 12 e 59 meses, avaliou a utilização de curto período de budesonida inalatória e montelucaste oral em crianças com chiado intermitente e *API* positivo, encontrando benefício na intervenção precoce destes pacientes(155), quando comparados ao grupo controle.

O *GINA* e o *American Guideline* recomendam a aplicação do *S- API* como parâmetro para a decisão de iniciar terapia para o controle de episódios de chiado em crianças entre 0 e 4 anos de idade. O tratamento deve ser iniciado caso a criança apresente pelo menos 4 episódios de chiado no último ano associado ao *S- API* positivo, ou se a criança tiver apresentado duas exacerbações que necessitaram de corticoide sistêmico no período de 6 meses. Essas recomendações parecem diminuir a morbidade em pré-escolares, mas não modificam a evolução natural da asma (158).

Dados do nosso estudo mostram que nenhuma criança utilizava medicação no período intercrítico, mesmo as que foram diagnosticadas como asmáticas. No entanto, 21 crianças haviam sido tratadas com medicação durante episódio de chiado no último ano. Dezenove haviam usado  $\beta 2$  de curta duração por via inalatória e 14 haviam utilizado corticoide sistêmico. Tais resultados sugerem que alguns pacientes asmáticos não haviam sido diagnosticados e não recebiam tratamento e acompanhamento adequados, o que poderia deixa-los suscetíveis à importante morbidade provocada pela asma com controle inadequado.

Portanto, devido a praticidade da aplicação de índices preditivos de asma e os benefícios que podem ser alcançados com o diagnóstico precoce da doença, lactentes brasileiros com episódios de chiado podem ser beneficiados com a utilização precoce do *API* para predizer um possível diagnóstico de asma na idade escolar.

## 7 CONCLUSÃO

O desenvolvimento de asma na idade escolar ocorreu em 41,7% das crianças residentes em Ribeirão Preto/SP que foram atendidas em serviço de emergência por apresentar episódio de chiado entre zero e dois anos de vida

O *Asthma Predictive Index (API)*, quando aplicado esse grupo de crianças, apresentou sensibilidade e especificidade de 65% (IC=40.8-84.6) e 67.9% (IC=47.7-84.1), respectivamente. Os valores preditivo positivo e negativo foram, de 59,1 (IC=38,7-79,7) e 73,1 (IC=53,9-86,3), respectivamente. Já a razão de verossimilhança positiva foi de 2,02 (IC=1,5-2,73).

A partir desses resultados, podemos concluir que lactentes brasileiros atendidos em serviço de emergência por apresentar episódio de chiado entre zero e dois anos tem 2 vezes mais chance de apresentar asma aos 9 anos, quando apresentam *API* positivo.

Portanto, a aplicação do *API* foi útil para identificar crianças com maior risco para o desenvolvimento de asma na idade escolar, neste grupo de pacientes.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Saavedra-Delgado AM, Cohen SG. Huang-Ti, the Yellow Emperor and the Nei Ching: antiquity's earliest reference to asthma. *Allergy Proc.* 1991 May-Jun;12(3):197-8.
2. Cohen SG. Asthma in antiquity: the Ebers Papyrus. *Allergy Proc.* 1992 May-Jun;13(3):147-54.
3. Vianna EO, Garcia CA, Bettiol H, Barbieri MA, Rona RJ. Asthma definitions, relative validity and impact on known risk factors in young Brazilians. *Allergy.* 2007 Oct;62(10):1146-51.
4. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. American Thoracic Society. *Am Rev Respir Dis.* 1991 Nov;144(5):1202-18.
5. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J.* 2014 Feb;43(2):343-73.
6. Boulet LP, FitzGerald JM, Levy ML, Cruz AA, Pedersen S, Haahtela T, et al. A guide to the translation of the Global Initiative for Asthma (GINA) strategy into improved care. *Eur Respir J.* 2012 May;39(5):1220-9.
7. 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 Apr 25;351(9111):1225-32.
8. Keil T, Kulig M, Simpson A, Custovic A, Wickman M, Kull I, et al. European birth cohort studies on asthma and atopic diseases: II. Comparison of outcomes and exposures--a GA2LEN initiative. *Allergy.* 2006 Sep;61(9):1104-11.
9. Anto JM, Pinart M, Akdis M, Auffray C, Bachert C, Basagana X, et al. Understanding the complexity of IgE-related phenotypes from childhood to young adulthood: a Mechanisms of the Development of Allergy (MeDALL) seminar. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Apr;129(4):943-54 e4.
10. Bousquet J, Anto J, Auffray C, Akdis M, Cambon-Thomsen A, Keil T, et al. MeDALL (Mechanisms of the Development of ALLergy): an integrated approach from phenotypes to systems medicine. *Allergy.* 2011 May;66(5):596-604.

11. Bousquet J, Gern JE, Martinez FD, Anto JM, Johnson CC, Holt PG, et al. Birth cohorts in asthma and allergic diseases: Report of a NIAID/NHLBI/MeDALL joint workshop. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Mar 15.
12. Carlsten C, Dimich-Ward H, Ferguson A, Becker A, Dybuncio A, Chan-Yeung M. Airway hyperresponsiveness to methacholine in 7-year-old children: sensitivity and specificity for pediatric allergist-diagnosed asthma. *Pediatr Pulmonol*. 2011 Feb;46(2):175-8.
13. Akinbami LJ, Moorman JE, Bailey C, Zahran HS, King M, Johnson CA, et al. Trends in asthma prevalence, health care use, and mortality in the United States, 2001-2010. *NCHS Data Brief*. 2012 May(94):1-8.
14. Sullivan PW, Ghushchyan VH, Slejko JF, Belozeroff V, Globe DR, Lin SL. The burden of adult asthma in the United States: evidence from the Medical Expenditure Panel Survey. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Feb;127(2):363-9 e1-3.
15. Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy*. 2004 May;59(5):469-78.
16. Yan DC, Ou LS, Tsai TL, Wu WF, Huang JL. Prevalence and severity of symptoms of asthma, rhinitis, and eczema in 13- to 14-year-old children in Taipei, Taiwan. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005 Dec;95(6):579-85.
17. Ko FW, Wang HY, Wong GW, Leung TF, Hui DS, Chan DP, et al. Wheezing in Chinese schoolchildren: disease severity distribution and management practices, a community-based study in Hong Kong and Guangzhou. *Clin Exp Allergy*. 2005 Nov;35(11):1449-56.
18. Carvajal-Uruena I, Garcia-Marcos L, Busquets-Monge R, Morales Suarez-Varela M, Garcia de Andoin N, Batlles-Garrido J, et al. [Geographic variation in the prevalence of asthma symptoms in Spanish children and adolescents. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase 3, Spain]. *Arch Bronconeumol*. 2005 Dec;41(12):659-66.
19. Eder W, Ege MJ, von Mutius E. The asthma epidemic. *N Engl J Med*. 2006 Nov 23;355(21):2226-35.
20. Teeratakulpisarn J, Wiangnon S, Kosalaraksa P, Heng S. Surveying the prevalence of asthma, allergic rhinitis and eczema in school-children in Khon Kaen, Northeastern Thailand using the ISAAC questionnaire: phase III. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2004 Dec;22(4):175-81.

21. Garcia-Marcos L, Quiros AB, Hernandez GG, Guillen-Grima F, Diaz CG, Urena IC, et al. Stabilization of asthma prevalence among adolescents and increase among schoolchildren (ISAAC phases I and III) in Spain. *Allergy*. 2004 Dec;59(12):1301-7.
22. Asher I. ISAAC International Study of Asthma and Allergies in Childhood. *Pediatr Pulmonol*. 2007 Jan;42(1):100.
23. Bedouch P, Marra CA, FitzGerald JM, Lynd LD, Sadatsafavi M. Trends in asthma-related direct medical costs from 2002 to 2007 in British Columbia, Canada: a population based-cohort study. *PLoS One*. 2012;7(12):e50949.
24. Burney PG, Luczynska C, Chinn S, Jarvis D. The European Community Respiratory Health Survey. *Eur Respir J*. 1994 May;7(5):954-60.
25. Beasley R, Lai CK, Crane J, Pearce N. The video questionnaire: one approach to the identification of the asthmatic phenotype. *Clin Exp Allergy*. 1998 Apr;28 Suppl 1:8-12; discussion 32-6.
26. Pearce N, Douwes J. The global epidemiology of asthma in children. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006 Feb;10(2):125-32.
27. Pearce N, Ait-Khaled N, Beasley R, Mallof J, Keil U, Mitchell E, et al. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*. 2007 Sep;62(9):758-66.
28. Sole D, Melo KC, Camelo-Nunes IC, Freitas LS, Britto M, Rosario NA, et al. Changes in the prevalence of asthma and allergic diseases among Brazilian schoolchildren (13-14 years old): comparison between ISAAC Phases One and Three. *J Trop Pediatr*. 2007 Feb;53(1):13-21.
29. Sole D, Yamada E, Vana AT, Werneck G, Solano de Freitas L, Sologuren MJ, et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): prevalence of asthma and asthma-related symptoms among Brazilian schoolchildren. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2001;11(2):123-8.
30. Asher MI, Montefort S, Bjorksten B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet*. 2006 Aug 26;368(9537):733-43.
31. Valle SO, Kuschnir FC, Sole D, Silva MA, Silva RI, Caetano S, et al. Prevalence and severity of asthma and related symptoms in 6- to 7-year-old schoolchildren of Rio de Janeiro using of the ISAAC questionnaire by telephone survey. *J Asthma*. 2014 Apr;51(3):227-31.

32. Costa SRR, Ferriani VPL. Prevalence of asthma and related symptoms in children and adolescents from public and private schools an ISAAC study. *J Allergy Clin Immun.* 2002 Jan;109(1):S55-S.
33. Tattersfield AE, Knox AJ, Britton JR, Hall IP. Asthma. *Lancet.* 2002 Oct 26;360(9342):1313-22.
34. Busse WW, Lemanske RF, Jr. Asthma. *N Engl J Med.* 2001 Feb 1;344(5):350-62.
35. Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur Respir J.* 2008 Jan;31(1):143-78.
36. Wadsworth SJ, Sandford AJ. Personalised medicine and asthma diagnostics/management. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013 Feb;13(1):118-29.
37. Holgate ST. Pathophysiology of asthma: what has our current understanding taught us about new therapeutic approaches? *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Sep;128(3):495-505.
38. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:789-815.
39. James A. Airway remodeling in asthma. *Curr Opin Pulm Med.* 2005 Jan;11(1):1-6.
40. Vignola AM, Mirabella F, Costanzo G, Di Giorgi R, Gjomarkaj M, Bellia V, et al. Airway remodeling in asthma. *Chest.* 2003 Mar;123(3 Suppl):417S-22S.
41. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, Vignola AM. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 May;161(5):1720-45.
42. Brightling CE, Gupta S, Gonem S, Siddiqui S. Lung damage and airway remodelling in severe asthma. *Clin Exp Allergy.* 2012 May;42(5):638-49.
43. Black JL. Asthma--more muscle cells or more muscular cells? *Am J Respir Crit Care Med.* 2004 May 1;169(9):980-1.
44. McParland BE, Macklem PT, Pare PD. Airway wall remodeling: friend or foe? *J Appl Physiol.* 2003 Jul;95(1):426-34.

45. Wang L, McParland BE, Pare PD. The functional consequences of structural changes in the airways: implications for airway hyperresponsiveness in asthma. *Chest*. 2003 Mar;123(3 Suppl):356S-62S.
46. Van Schoor J, Joos GF, Pauwels RA. Indirect bronchial hyperresponsiveness in asthma: mechanisms, pharmacology and implications for clinical research. *Eur Respir J*. 2000 Sep;16(3):514-33.
47. Anderson SD, Brannan JD. Methods for "indirect" challenge tests including exercise, eucapnic voluntary hyperpnea, and hypertonic aerosols. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2003 Feb;24(1):27-54.
48. Brannan JD, Koskela H, Anderson SD. Monitoring asthma therapy using indirect bronchial provocation tests. *Clin Respir J*. 2007 Jul;1(1):3-15.
49. Popa V. ATS guidelines for methacholine and exercise challenge testing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Jan;163(1):292-3.
50. National Asthma Education and Prevention Program. Expert Panel Report: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma Update on Selected Topics--2002. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Nov;110(5 Suppl):S141-219.
51. Papadopoulos NG, Arakawa H, Carlsen KH, Custovic A, Gern J, Lemanske R, et al. International consensus on (ICON) pediatric asthma. *Allergy*. 2012 Aug;67(8):976-97.
52. Loeb JS, Blower WC, Feldstein JF, Koch BA, Munlin AL, Hardie WD. Acceptability and repeatability of spirometry in children using updated ATS/ERS criteria. *Pediatr Pulmonol*. 2008 Oct;43(10):1020-4.
53. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, Hankinson JL, Irvin CG, et al. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Jan;161(1):309-29.
54. Liem JJ, Kozyrskyj AL, Cockcroft DW, Becker AB. Diagnosing asthma in children: what is the role for methacholine bronchoprovocation testing? *Pediatr Pulmonol*. 2008 May;43(5):481-9.
55. Covar RA, Colvin R, Shapiro G, Strunk R. Safety of methacholine challenges in a multicenter pediatric asthma study. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Mar;117(3):709-11.

56. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med*. 1995 Jan 19;332(3):133-8.
57. Lowe LA, Simpson A, Woodcock A, Morris J, Murray CS, Custovic A. Wheeze phenotypes and lung function in preschool children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Feb 1;171(3):231-7.
58. Barker DJ. The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ*. 1990 Nov 17;301(6761):1111.
59. Kuh D, Ben-Shlomo Y, Lynch J, Hallqvist J, Power C. Life course epidemiology. *J Epidemiol Community Health*. 2003 Oct;57(10):778-83.
60. Martinez FD, Holt PG. Role of microbial burden in aetiology of allergy and asthma. *Lancet*. 1999 Sep;354 Suppl 2:S112-5.
61. Holt PG. Parasites, atopy, and the hygiene hypothesis: resolution of a paradox? *Lancet*. 2000 Nov 18;356(9243):1699-701.
62. 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 Sep;24(3):406-12.
63. Flohr C, Weiland SK, Weinmayr G, Bjorksten B, Braback L, Brunekreef B, et al. The role of atopic sensitization in flexural eczema: findings from the International Study of Asthma and Allergies in Childhood Phase Two. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Jan;121(1):141-7 e4.
64. Weinmayr G, Weiland SK, Bjorksten B, Brunekreef B, Buchele G, Cookson WO, et al. Atopic sensitization and the international variation of asthma symptom prevalence in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Sep 15;176(6):565-74.
65. Weinmayr G, Forastiere F, Weiland SK, Rzehak P, Abramidze T, Annesi-Maesano I, et al. International variation in prevalence of rhinitis and its relationship with sensitisation to perennial and seasonal allergens. *Eur Respir J*. 2008 Nov;32(5):1250-61.
66. Willemsen G, van Beijsterveldt TC, van Baal CG, Postma D, Boomsma DI. Heritability of self-reported asthma and allergy: a study in adult Dutch twins, siblings and parents. *Twin Res Hum Genet*. 2008 Apr;11(2):132-42.

- 
67. Subbarao P, Mandhane PJ, Sears MR. Asthma: epidemiology, etiology and risk factors. *CMAJ*. 2009 Oct 27;181(9):E181-90.
68. Martinez FD, Vercelli D. Asthma. *Lancet*. 2013 Oct 19;382(9901):1360-72.
69. Paaso EM, Jaakkola MS, Lajunen TK, Hugg TT, Jaakkola JJ. The importance of family history in asthma during the first 27 years of life. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Sep 1;188(5):624-6.
70. Torgerson DG, Capurso D, Mathias RA, Graves PE, Hernandez RD, Beaty TH, et al. Resequencing candidate genes implicates rare variants in asthma susceptibility. *Am J Hum Genet*. 2012 Feb 10;90(2):273-81.
71. Camara AA, Silva JM, Ferriani VP, Tobias KR, Macedo IS, Padovani MA, et al. Risk factors for wheezing in a subtropical environment: role of respiratory viruses and allergen sensitization. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Mar;113(3):551-7.
72. Castro-Rodriguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Oct;162(4 Pt 1):1403-6.
73. Camelo-Nunes IC, Sole D, Naspitz CK. [Risk factors and clinical evolution of asthma in children]. *J Pediatr (Rio J)*. 1997 May-Jun;73(3):151-60.
74. Kumar A, Ghosh B. Genetics of asthma: a molecular biologist perspective. *Clin Mol Allergy*. 2009;7:7.
75. Edfors-Lubs ML. Allergy in 7000 twin pairs. *Acta Allergol*. 1971 Aug;26(4):249-85.
76. Litonjua AA, Carey VJ, Burge HA, Weiss ST, Gold DR. Parental history and the risk for childhood asthma. Does mother confer more risk than father? *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Jul;158(1):176-81.
77. Ronmark E, Jonsson E, Platts-Mills T, Lundback B. Incidence and remission of asthma in schoolchildren: report from the obstructive lung disease in northern Sweden studies. *Pediatrics*. 2001 Mar;107(3):E37.
78. Oddy WH, Peat JK, de Klerk NH. Maternal asthma, infant feeding, and the risk of asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Jul;110(1):65-7.

79. Sarinho ES, Sarinho S, Ferreira OS, Brito WP, Filho AS, Cartaxo CG. [Risk factors for childhood asthma in Fernando de Noronha: a case control study]. *J Pediatr (Rio J)*. 1995 Sep-Oct;71(5):270-2.
80. Duhme H, Weiland SK, Rudolph P, Wienke A, Kramer A, Keil U. Asthma and allergies among children in West and East Germany: a comparison between Munster and Greifswald using the ISAAC phase I protocol. *International Study of Asthma and Allergies in Childhood*. *Eur Respir J*. 1998 Apr;11(4):840-7.
81. Burke W, Fesinmeyer M, Reed K, Hampson L, Carlsten C. Family history as a predictor of asthma risk. *Am J Prev Med*. 2003 Feb;24(2):160-9.
82. Stewart AW, Mitchell EA, Pearce N, Strachan DP, Weiland SK. The relationship of per capita gross national product to the prevalence of symptoms of asthma and other atopic diseases in children (ISAAC). *Int J Epidemiol*. 2001 Feb;30(1):173-9.
83. Mandhane PJ, Greene JM, Cowan JO, Taylor DR, Sears MR. Sex differences in factors associated with childhood- and adolescent-onset wheeze. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Jul 1;172(1):45-54.
84. Wright AL, Stern DA, Kauffmann F, Martinez FD. Factors influencing gender differences in the diagnosis and treatment of asthma in childhood: the Tucson Children's Respiratory Study. *Pediatr Pulmonol*. 2006 Apr;41(4):318-25.
85. Nicolai T, Pereszlenyiova-Bliznakova L, Illi S, Reinhardt D, von Mutius E. Longitudinal follow-up of the changing gender ratio in asthma from childhood to adulthood: role of delayed manifestation in girls. *Pediatr Allergy Immu*. 2003 Aug;14(4):280-3.
86. Sears MR, Greene JM, Willan AR, Wiecek EM, Taylor DR, Flannery EM, et al. A longitudinal, population-based, cohort study of childhood asthma followed to adulthood. *N Engl J Med*. 2003 Oct 9;349(15):1414-22.
87. Toelle BG, Xuan W, Peat JK, Marks GB. Childhood factors that predict asthma in young adulthood. *Eur Respir J*. 2004 Jan;23(1):66-70.
88. Anderson HR, Bailey PA, Cooper JS, Palmer JC, West S. Morbidity and School Absence Caused by Asthma and Wheezing Illness. *Archives of Disease in Childhood*. 1983;58(10):777-84.
89. Morgan WJ, Martinez FD. Risk factors for developing wheezing and asthma in childhood. *Pediatr Clin North Am*. 1992 Dec;39(6):1185-203.

90. Strachan DP, Anderson HR, Limb ES, Oneill A, Wells N. A National Survey of Asthma Prevalence, Severity, and Treatment in Great-Britain. *Archives of Disease in Childhood*. 1994 Mar;70(3):174-8.
91. Chhabra SK, Gupta CK, Chhabra P, Rajpal S. Risk factors for development of bronchial asthma in children in Delhi. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1999 Nov;83(5):385-90.
92. Uyan AP, Uyan C, Ozyurek H. Assessment of right ventricular diastolic filling parameters by Doppler echocardiography. *Pediatrics International*. 2003 Jun;45(3):263-7.
93. Vesterinen E, Kaprio J, Koskenvuo M. Prospective-Study of Asthma in Relation to Smoking-Habits among 14729 Adults. *Thorax*. 1988 Jul;43(7):534-9.
94. Moraes LS, Barros MD, Takano OA, Assami NM. [Risk factors, clinical and laboratory aspects of asthma in children]. *J Pediatr (Rio J)*. 2001 Nov-Dec;77(6):447-54.
95. Maia JG, Marcopito LF, Amaral AN, Tavares Bde F, Santos FA. [Prevalence of asthma and asthma symptoms among 13 and 14-year-old schoolchildren, Brazil]. *Rev Saude Publica*. 2004 Apr;38(2):292-9.
96. Wills-Karp M, Brandt D, Morrow AL. Understanding the origin of asthma and its relationship to breastfeeding. *Adv Exp Med Biol*. 2004;554:171-91.
97. Bergmann RL, Diepgen TL, Kuss O, Bergmann KE, Kujat J, Dudenhausen JW, et al. Breastfeeding duration is a risk factor for atopic eczema. *Clin Exp Allergy*. 2002 Feb;32(2):205-9.
98. Oddy WH. Breastfeeding and asthma in children: findings from a West Australian study. *Breastfeed Rev*. 2000 Mar;8(1):5-11.
99. Sears MR, Greene JM, Willan AR, Taylor DR, Flannery EM, Cowan JO, et al. Long-term relation between breastfeeding and development of atopy and asthma in children and young adults: a longitudinal study. *Lancet*. 2002 Sep 21;360(9337):901-7.
100. Wright AL, Holberg CJ, Taussig LM, Martinez F. Maternal asthma status alters relation of infant feeding to asthma in childhood. *Adv Exp Med Biol*. 2000;478:131-7.
101. Gdalevich M, Mimouni D, Mimouni M. Breast-feeding and the risk of bronchial asthma in childhood: a systematic review with meta-analysis of prospective studies. *J Pediatr*. 2001 Aug;139(2):261-6.

102. Oddy WH. Breastfeeding and asthma in children. A prospective cohort study. *Adv Exp Med Biol.* 2000;478:393-4.

103. Kull I, Almqvist C, Lilja G, Pershagen G, Wickman M. Breast-feeding reduces the risk of asthma during the first 4 years of life. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Oct;114(4):755-60.

104. van Odijk J, Kull I, Borres MP, Brandtzaeg P, Edberg U, Hanson LA, et al. Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1966-2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy.* 2003 Sep;58(9):833-43.

105. Silva JM, Camara AA, Tobias KR, Macedo IS, Cardoso MR, Arruda E, et al. A prospective study of wheezing in young children: the independent effects of cockroach exposure, breast-feeding and allergic sensitization. *Pediatr Allergy Immunol.* 2005 Aug;16(5):393-401.

106. Wu P. Maternal smoking during pregnancy and its effect on childhood asthma: understanding the puzzle. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012 Nov 15;186(10):941-2.

107. Tariq SM, Hakim EA, Matthews SM, Arshad SH. Influence of smoking on asthmatic symptoms and allergen sensitisation in early childhood. *Postgrad Med J.* 2000 Nov;76(901):694-9.

108. Dezateux C, Stocks J, Dundas I, Fletcher ME. Impaired airway function and wheezing in infancy: the influence of maternal smoking and a genetic predisposition to asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Feb;159(2):403-10.

109. Lodrup Carlsen KC. The environment and childhood asthma (ECA) study in Oslo: ECA-1 and ECA-2. *Pediatr Allergy Immunol.* 2002;13 Suppl 15:29-31.

110. Cantani A, Micera M. Immunogenicity of hydrolysate formulas in children (part 1). Analysis of 202 reactions. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2000 Sep-Oct;10(5):261-76.

111. Hawamdeh A, Kasasbeh FA, Ahmad MA. Effects of passive smoking on children's health: a review. *East Mediterr Health J.* 2003 May;9(3):441-7.

112. Larsson ML, Frisk M, Hallstrom J, Kiviloog J, Lundback B. Environmental tobacco smoke exposure during childhood is associated with increased prevalence of asthma in adults. *Chest.* 2001 Sep;120(3):711-7.

113. Neuman A, Hohmann C, Orsini N, Pershagen G, Eller E, Kjaer HF, et al. Maternal smoking in pregnancy and asthma in preschool children: a pooled analysis of eight birth cohorts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Nov 15;186(10):1037-43.
114. Chatkin MN, Menezes AM. [Prevalence and risk factors for asthma in schoolchildren in southern Brazil]. *J Pediatr (Rio J)*. 2005 Sep-Oct;81(5):411-6.
115. Lemanske RF, Jr., Busse WW. 6. Asthma: Factors underlying inception, exacerbation, and disease progression. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Feb;117(2 Suppl Mini-Primer):S456-61.
116. Arruda LK, Sole D, Baena-Cagnani CE, Naspitz CK. Risk factors for asthma and atopy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2005 Apr;5(2):153-9.
117. Friedlander SL, Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Li Z, Roberg KA, et al. Viral infections, cytokine dysregulation and the origins of childhood asthma and allergic diseases. *Pediatr Infect Dis J*. 2005 Nov;24(11 Suppl):S170-6, discussion S4-5.
118. Cantani A, Gagliesi D. Prediction and prevention of allergic disease in at risk children. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 1998 May-Aug;2(3-4):115-25.
119. Sigurs N, Gustafsson PM, Bjamason R, Lundberg F, Schmidt S, Sigurbergsson F, et al. Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Jan 15;171(2):137-41.
120. Lorente F, Laffond E, Moreno E, Davila I. [Viral infection and asthma: immunologic mechanisms]. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2001 May-Jun;29(3):126-33.
121. Pifferi M, Ragazzo V, Caramella D, Baldini G. Eosinophil cationic protein in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis: predictive value for subsequent development of persistent wheezing. *Pediatr Pulmonol*. 2001 Jun;31(6):419-24.
122. Martinez FD. Development of wheezing disorders and asthma in preschool children. *Pediatrics*. 2002 Feb;109(2 Suppl):362-7.
123. Gern JE, Brooks GD, Meyer P, Chang A, Shen K, Evans MD, et al. Bidirectional interactions between viral respiratory illnesses and cytokine responses in the first year of life. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Jan;117(1):72-8.

124. Lemanske RF, Jr., Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Li Z, Shult PA, et al. Rhinovirus illnesses during infancy predict subsequent childhood wheezing. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 Sep;116(3):571-7.
125. Platts-Mills TA, Rakes G, Heymann PW. The relevance of allergen exposure to the development of asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 Feb;105(2 Pt 2):S503-8.
126. Karmaus W, Arshad H, Mattes J. Does the sibling effect have its origin in utero? Investigating birth order, cord blood immunoglobulin E concentration, and allergic sensitization at age 4 years. *Am J Epidemiol*. 2001 Nov 15;154(10):909-15.
127. Matricardi PM, Illi S, Gruber C, Keil T, Nickel R, Wahn U, et al. Wheezing in childhood: incidence, longitudinal patterns and factors predicting persistence. *Eur Respir J*. 2008 Sep;32(3):585-92.
128. Platts-Mills TA, Vervloet D, Thomas WR, Aalberse RC, Chapman MD. Indoor allergens and asthma: report of the Third International Workshop. *J Allergy Clin Immunol*. 1997 Dec;100(6 Pt 1):S2-24.
129. Rullo VE, Rizzo MC, Arruda LK, Sole D, Naspitz CK. Daycare centers and schools as sources of exposure to mites, cockroach, and endotoxin in the city of Sao Paulo, Brazil. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Oct;110(4):582-8.
130. Bufford JD, Reardon CL, Li Z, Roberg KA, DaSilva D, Eggleston PA, et al. Effects of dog ownership in early childhood on immune development and atopic diseases. *Clin Exp Allergy*. 2008 Oct;38(10):1635-43.
131. Ownby DR, Johnson CC, Peterson EL. Exposure to dogs and cats in the first year of life and risk of allergic sensitization at 6 to 7 years of age. *JAMA*. 2002 Aug 28;288(8):963-72.
132. Platts-Mills TA. The role of allergens in the induction of asthma. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2002 Mar;2(2):175-80.
133. Illi S, von Mutius E, Lau S, Niggemann B, Gruber C, Wahn U. Perennial allergen sensitisation early in life and chronic asthma in children: a birth cohort study. *Lancet*. 2006 Aug 26;368(9537):763-70.
134. Eggleston PA, Arruda LK. Ecology and elimination of cockroaches and allergens in the home. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Mar;107(3 Suppl):S422-9.

135. 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 Feb;163(2):322-8.
136. Celedon JC, Milton DK, Ramsey CD, Litonjua AA, Ryan L, Platts-Mills TA, et al. Exposure to dust mite allergen and endotoxin in early life and asthma and atopy in childhood. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Jul;120(1):144-9.
137. Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WO, Braun-Fahrlander C, et al. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med*. 2011 Feb 24;364(8):701-9.
138. Wlasiuk G, Vercelli D. The farm effect, or: when, what and how a farming environment protects from asthma and allergic disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2012 Oct;12(5):461-6.
139. Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Bjorksten B, Engstrand L, Jenmalm MC. Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Feb;129(2):434-40, 40 e1-2.
140. Azad MB, Becker AB, Guttman DS, Sears MR, Scott JA, Kozyrskyj AL. Gut microbiota diversity and atopic disease: does breast-feeding play a role? *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Jan;131(1):247-8.
141. Stern DA, Morgan WJ, Halonen M, Wright AL, Martinez FD. Wheezing and bronchial hyper-responsiveness in early childhood as predictors of newly diagnosed asthma in early adulthood: a longitudinal birth-cohort study. *Lancet*. 2008 Sep 20;372(9643):1058-64.
142. Sears MR, Greene JM, Willan AR, Wiecek EM, Taylor DR, Flannery EM, et al. A longitudinal, population-based, cohort study of childhood asthma followed to adulthood. *New Engl J Med*. 2003 Oct 9;349(15):1414-22.
143. Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Bacharier LB, Boehmer SJ, Krawiec M, et al. Atopic characteristics of children with recurrent wheezing at high risk for the development of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Dec;114(6):1282-7.
144. Castro-Rodriguez JA. The Asthma Predictive Index: early diagnosis of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011 Jun;11(3):157-61.
145. Castro-Rodriguez JA. The Asthma Predictive Index: a very useful tool for predicting asthma in young children. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Aug;126(2):212-6.

146. Castro-Rodriguez JA, Cifuentes L, Rodriguez-Martinez CE. The asthma predictive index remains a useful tool to predict asthma in young children with recurrent wheeze in clinical practice. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Apr;127(4):1082-3.
147. Caudri D, Wijga A, CM AS, Hoekstra M, Postma DS, Koppelman GH, et al. Predicting the long-term prognosis of children with symptoms suggestive of asthma at preschool age. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Nov;124(5):903-10 e1-7.
148. Rodriguez-Martinez CE, Sossa-Briceno MP, Castro-Rodriguez JA. Discriminative properties of two predictive indices for asthma diagnosis in a sample of preschoolers with recurrent wheezing. *Pediatr Pulmonol*. 2011 Dec;46(12):1175-81.
149. Devulapalli CS, Carlsen KC, Haland G, Munthe-Kaas MC, Pettersen M, Mowinckel P, et al. Severity of obstructive airways disease by age 2 years predicts asthma at 10 years of age. *Thorax*. 2008 Jan;63(1):8-13.
150. Kurukulaaratchy RJ, Matthews S, Holgate ST, Arshad SH. Predicting persistent disease among children who wheeze during early life. *Eur Respir J*. 2003 Nov;22(5):767-71.
151. Leonardi NA, Spycher BD, Strippoli MP, Frey U, Silverman M, Kuehni CE. Validation of the Asthma Predictive Index and comparison with simpler clinical prediction rules. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Jun;127(6):1466-72 e6.
152. Moeller A, Diefenbacher C, Lehmann A, Rochat M, Brooks-Wildhaber J, Hall GL, et al. Exhaled nitric oxide distinguishes between subgroups of preschool children with respiratory symptoms. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Mar;121(3):705-9.
153. Beigelman A, Mauger DT, Phillips BR, Zeiger RS, Taussig LM, Strunk RC, et al. Effect of elevated exhaled nitric oxide levels on the risk of respiratory tract illness in preschool-aged children with moderate-to-severe intermittent wheezing. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2009 Aug;103(2):108-13.
154. Karakoc F, Remes ST, Martinez FD, Wright AL. The association between persistent eosinophilia and asthma in childhood is independent of atopic status. *Clin Exp Allergy*. 2002 Jan;32(1):51-6.
155. Bacharier LB, Phillips BR, Zeiger RS, Szeffler SJ, Martinez FD, Lemanske RF, Jr., et al. Episodic use of an inhaled corticosteroid or leukotriene receptor antagonist in preschool children with moderate-to-severe intermittent wheezing. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Dec;122(6):1127-35 e8.

156. Keklikian E, Sanchez-Solis M, Bonina AJ, Meneguzzi A, Pastor-Vivero MD, Mondejar-Lopez P, et al. Do risk factors for persistent asthma modify lung function in infants and young children with recurrent wheeze? *Pediatr Pulmonol*. 2010 Sep;45(9):914-8.

157. Van Wonderen KE, Van Der Mark LB, Mohrs J, Bindels PJ, Van Aalderen WM, Ter Riet G. Different definitions in childhood asthma: how dependable is the dependent variable? *Eur Respir J*. 2010 Jul;36(1):48-56.

158. Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Mauger DT, Boehmer SJ, Szeffler SJ, et al. Long-term inhaled corticosteroids in preschool children at high risk for asthma. *N Engl J Med*. 2006 May 11;354(19):1985-97.

## 9 ANEXOS

### ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (HCFMPR/ USP)  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO - MONTE ALEGRE - CEP: 14.048-900  
FONE: 3602. 1000 / FAX: 3633 1144

#### TERMO DE CONSENTIMENTO ESCLARECIDO

Nome da pesquisa: Fatores de risco para desenvolvimento de asma em crianças entre de 9 e 11 anos de idade: um estudo prospectivo.

Pesquisador: Profa. Dra. Virgínia Paes Leme Ferriani, Dra. Jorgete M. Silva, Luciana Aparecida Rocha de Souza

Local da Pesquisa: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

#### Objetivos e Procedimentos do Trabalho:

Senhores pais ou responsáveis,

Este é um estudo desenvolvido para avaliar a presença de alergia e diagnóstico de asma nas crianças que apresentaram chiado nos dois primeiros anos de vida.

O estudo será feito em duas etapas, a primeira com exame clínico e história clínica com o preenchimento de questionário próprio da pesquisa e, após esta avaliação, se a criança estiver em condições será submetida a três exames laboratoriais:

1-coleta de sangue para realização de hemograma e dosagem de IgE sérica total (já realizado anteriormente neste serviço)

2-realização do teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (já realizado anteriormente neste serviço)

3-prova de função pulmonar e teste de broncoprovocação somente quando a prova de função pulmonar for normal (ainda não realizado pela criança neste serviço)

Estes exames serão todos realizados no Hospital das Clínicas onde as crianças permanecerão em observação e sob cuidados médicos todo o tempo, até que estejam em condições clínicas satisfatórias para serem liberados.

A coleta de sangue não acarreta nenhum problema para a criança. A realização do teste cutâneo de hipersensibilidade, caso a criança já seja alérgica aos seus componentes, pode desencadear reação alérgica com sintomas locais de prurido e vermelhidão na pele e sintomas sistêmicos de tosse, falta de ar, requerendo em algumas situações o tratamento com antialérgicos e broncodilatadores. A prova de função pulmonar também não acarreta nenhum problema para a criança. O teste de broncoprovocação em algumas crianças pode desencadear sintomas de tosse e falta de ar, sendo necessário o tratamento com broncodilatadores para melhora dos sintomas. Todos esses cuidados serão observados e as crianças medicadas e tratadas se necessário.

Todos os dados obtidos das entrevistas com os pacientes ou seus responsáveis ou mesmo a partir dos prontuários de seus filhos, assim como os resultados dos exames realizados não serão identificados ou divulgados de nenhuma forma.

Esperamos com esta pesquisa melhorar nossos conhecimentos a respeito das doenças alérgicas e da asma para manutenção de tratamentos mais adequados e eficazes para o controle dos episódios de chiado de repetição que estas crianças apresentam.

Declaramos ainda que, a qualquer momento, o paciente ou seu responsável, poderão solicitar a retirada do estudo sem que isto acarrete qualquer prejuízo no seu atendimento neste serviço. Caso os responsáveis não sejam os pais, os mesmos assinarão no lugar deles.

---

Pesquisador responsável

Eu, \_\_\_\_\_  
R.G. \_\_\_\_\_, abaixo assinado, tendo recebido as informações acima e ciente de meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar.

- 1 - A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados à pesquisa e o tratamento a que serei submetido.
- 2 - A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar no estudo sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento.
- 3 - A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com a minha privacidade.
- 4 - O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando.

Ribeirão Preto, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

---

ASSINATURA DO PACIENTE OU RESPONSÁVEL

## ANEXO 2 - QUESTIONÁRIO

### Fatores de risco para desenvolvimento de asma em crianças entre de 9 e 11 anos de idade: um estudo prospectivo.

1º avaliação DATA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (seleção)      1º retorno DATA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
 2º retorno DATA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_      3º retorno DATA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
 DATA DE NASCIMENTO: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_      IDADE: \_\_\_anos      PESO: \_\_\_\_\_  
 ESTATURA: \_\_\_\_\_  
 CODIFICAÇÃO: J \_\_\_\_\_      REG.HC: \_\_\_\_\_      SEXO    M    F  
 NOME: \_\_\_\_\_  
 Atualização endereço: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ Fone: \_\_\_\_\_  
 Nome da mãe/responsável: \_\_\_\_\_

#### Avaliação Clínica: asma

Nos últimos 12 meses, quantas crises de sibilos (chiado no peito) seu filho teve?

Nenhuma crise ( ) ; 1 a 3 crises ( ) ; 4 a 12 crises ( ) ; mais de 12 crises ( )

Intervalos entre os chiados: \_\_\_\_\_ Duração dos episódios: \_\_\_\_\_

Internações: sim ( ) não( ) data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Dias internação: \_\_\_\_\_

Diag.Int.: \_\_\_\_\_

Nos últimos 12 meses, com que frequência seu filho teve seu sono perturbado por chiado no peito?

Nunca acordou com chiado( ) Menos de 1 noite por semana( ) Uma ou mais noites por semana( )

Nos últimos 12 meses, seu filho teve tosse,chiado ou aperto no peito após exercícios físicos? ( )Sim ( )Não

Nos últimos 12 meses, seu filho teve tosse seca à noite, sem estar gripado ou com infecção respiratória? ( )Sim ( )Não duração \_\_\_\_\_

Diag.médico de asma: sim( ) não( ) data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Tratamento ambulatorial especializado: sim( ) não( ) data última consulta: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Em que serviço? \_\_\_\_\_

Medicam. controle da crise: beta 2( ) corticóide( ) outros: \_\_\_\_\_

Medicações intercríticas: corticóide inalatório( ) beta 2 ação prolongada + cort.inalado( )

beta 2 ação prolongada( ) teofilinas( ) cetotifeno( ) cromoglicato( ) antileucotrienos( )

#### Avaliação Clínica: rinite

Prurido nasal: sim( ) não( ) Coriza: sim( ) não( ) Obstrução nasal: sim( ) não( )

Espirros em salva: sim( ) não( ) Lacrimejamento ou coceira nos olhos: sim( ) não( )

Diag.médico de rinite: sim( ) não( ) data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Med. Intercrít.: CE tópicos: sim( ) não( ) cromoglicato: sim( ) não( ) anti-H1: sim( ) não( ) outros: \_\_\_\_\_

#### Avaliação de pele: eczema

Seu filho já teve eczema?: sim( ) não( ) diag.médico de eczema/dermatite atópica: sim( ) não( )

Nos últimos 12 meses quantas vezes seu filho teve eczema: nunca( ) 1x( ) 2 x( ) + de 2x( )

#### Profilaxia ambiental:

Fumantes na casa: sim( ) não( ) ( )mãe ( )pai outros( ) Nº cigarros/dia: \_\_\_\_\_

Cão sim não domicílio sim não

Gato sim não domicílio sim não

Outros animais: \_\_\_\_\_

Capas travesseiros: sim( ) não( )      capas colchão: sim( ) não( )

Outras informações profilaxia: \_\_\_\_\_

Diag. Clínico Final: S/Chiado ( )      Mantendo chiado ( )

Outros diagnósticos: \_\_\_\_\_

Tratamento:

Exame físico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

RESULTADOS DE EXAMES (T4):

IgE total : \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Hemograma - \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Teste Cutâneo: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Espirometria Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_:

Broncoprovocação Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_:

Conduta:

Observações

### ANEXO 3 - PUBLICAÇÃO

Wheezing in young children and development of Asthma in school age: use of the Asthma Predictive Index (API) in a subtropical environment.

<sup>1</sup>Departments of Pediatrics and <sup>2</sup>Internal Medicine, Ribeirão Preto School of Medicine, University of São Paulo, Brazil. Avenida Bandeirantes 3900, S/N. Campus Universitário – Vila Monte Alegre, Ribeirão Preto, Brazil, 14049-900. Phone number: 0055-16 36022573. Fax:5516-3602 2700

**Background:** Knowing if wheezing babies will develop asthma at school age is very important. Different clinical scores, including the Asthma Predictive Index (API) were developed to identify those babies. Studies evaluating clinical utility of the API in South America countries are still scarce.

**Objective:** To assess the discriminative properties of API for development of asthma in 8-12 year-old-children after an index wheezing episode in infancy.

**Methods:** Sixty one of 76 children who had been seen at the Emergency Room for an episode of wheezing in infancy (6-24m) were included and their parents completed a questionnaire on respiratory symptoms. 52 of them underwent skin prick testing to inhalant and food allergens and 48 of those performed methacoline challenge tests. Children were considered asthmatic if they presented previous physician-diagnosed asthma, or at least one of the following symptoms in the past 12 months: wheezing, cough or chest tightness with exercise, or dry cough without colds, accompanied by bronchial hyperresponsiveness, as detected by a PC20 <4mg/ml on methacoline challenge test. A positive API score (at least one major criteria: physician-diagnosed eczema or parental asthma; or 2 of 3 minor criteria: physician-diagnosed allergic rhinitis, wheezing without colds or peripheral eosinophilia  $\geq 4\%$ ) was defined based on information collected when the children were between 2 and 4 years old. Sensitivity, specificity, predictive values, likelihood ratios and confidence intervals (CI) of the API index for the diagnosis of asthma at 8-12y were calculated.

**Results:** Among the 48 children evaluated at school age, 20 (41.7%) were diagnosed with asthma; 13 of them (65%) had positive API index at the time of the index wheezing episode. Of the 28 wheezing babies that did not develop asthma at 9-11y, only 9 (32.1%) had positive API. Sensitivity and specificity of the API index were 65% (IC=40.8-84.6) and 67.9% (47.7-84.1), respectively.

Positive and negative predictive values and positive and negative likelihood ratios were, respectively, 59,1 (IC=38,7-79,7); 73,1 (IC=53,9-86,3); 2,02 (IC=1,5-2,73) and 0,51 (IC=0,37-0,72).

**Conclusions:** Using simple parameters as proposed by the API index, the development of asthma can be reasonably predicted in wheezing infants seen in emergency units because of wheezing episodes.

**Key words:** asthma, wheezing, asthma predictive index, children

## INTRODUCTION

Wheezing episodes are very common in infancy, affecting nearly 40-50% of all young children worldwide (1) and most of the time, will disappear by school age. However, 30% of preschoolers with recurrent wheezing develop asthma at 6 years of age (2). Prospective studies have shown that, in most cases of persistent asthma, the initial symptoms occur during the first three years of life (3). A longitudinal study in New Zealand revealed that onset of wheezing at early age was associated with a greater risk for relapse among individuals who presented wheezing in childhood followed by remission during adolescence. Pulmonary function was found to be decreased in individuals with persistent or relapsing symptoms, as compared to those without persistent wheezing (4). In keeping with this, it has been shown that by age 3, children who presented at least one wheezing episode, and particularly those who had wheezed on more than two occasions, had significantly higher plethysmographic measurements of specific airway resistance, indicating poorer lung function, as compared to children who had never wheezed. In addition, children with physician-confirmed wheeze have also been reported to have significantly lower lung function at age 3 than those who reported no wheeze (5). It has been suggested that the fast-growing lung of the child at an early age may be particularly susceptible to the effects of chronic inflammation associated with persistent asthma, leading to loss of lung function in the first years of life (3).

In infants, wheezing episodes are frequently associated with respiratory viral infections, particularly those caused by respiratory syncytial virus (RSV) (6, 7). Studies have pointed to an association of RSV bronchiolitis and other early respiratory tract infections with recurrent wheezing or symptomatic asthma during the first 4-7 years of life (8). Results of a long-term study carried out in Tucson, Arizona, have also demonstrated an association of lower respiratory tract infection caused by RSV early in life with persistent wheezing at 3 and 6 years of age, however, this effect was no longer observed by age 13 (9).

Knowing if wheezing babies will develop asthma at school age is very important and can allow for better targeting of secondary prevention actions and therapeutic strategies for children with higher risk (1). Different clinical scores, including the Asthma Predictive Index (API) were developed to identify those babies. The API, developed by Castro-Rodriguez et al., combines simple and easily measurable clinical and laboratory parameters that can be obtained in any clinical setting. Upon applying this algorithm to a birth cohort (the Tucson Respiratory Study), children with a positive API were 2.6–13 times more likely to have active asthma between ages 6 and 13 than children with a negative API (10). Studies evaluating clinical utility of the API in South America countries are still scarce. (11)

We have previously shown that 52% of children who are seen at Emergency Rooms because of wheezing in the first 2 yr of life will have 3 or more wheezing episodes/year between 2 and 4 yr of age. Allergen sensitization, to house dust mite and cockroach in particular, and early exposure to cockroach allergen were strong and independent risk factors for persistence of wheezing among these children living in a subtropical environment (12). In the present study, we assessed the discriminative properties of API for development of asthma in this same group of Brazilian children, at school age.

## METHODS

### Subjects

Seventy six children 0.5 to 25 months of age who sought ED care for wheezing either at the Clinical Hospital of the University of São Paulo School of Medicine of Ribeirão Preto or Santa Lydia Community Hospital, between January 1999 and June 2000, were enrolled in this prospective study. All children 25 months of age and younger who participated in a previous case-control study on risk factors for acute wheezing among children 0,5 to 12 years of age (18) were invited to participate in the present study. Criteria for inclusion in the case-control study have been previously described. Briefly, patients were selected if they presented wheezing that required therapy with inhaled  $\beta$ 2-agonists as judged by the attending physician. In the previous case-control study, children with chronic respiratory illnesses ( $n = 2$ ) (bronchopulmonary dysplasia), and those who reported therapy with corticosteroids within 4 weeks prior to the ED visit ( $n = 8$ ), were not included (13). All children were residents in the city of Ribeirão Preto.

### Study design

At the beginning of the study (time one – T1), parents or guardians completed a questionnaire that included questions on history of allergic diseases or asthma (in the patients and other family members) and housing conditions. Current and retrospective information was obtained for some environmental factors including breast feeding, pre and post- natal exposure to tobacco smoke. Data on peripheral blood eosinophil counts; serum levels of total IgE and specific IgE antibodies to mites (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae* and *Blomia tropicalis*), cockroach (*Blattella germanica*), cat, dog, and foods (cow's milk, egg, wheat, soy, peanut and fish); detection of viruses in nasal washes; and allergen levels in the homes were available from the initial study (18). Briefly, total and specific IgE were measured using the UniCAP system (Pharmacia). Specific IgE levels  $\geq 0.7$  kU/L (CAP score  $\geq 2$ ) were considered positive. Nasal washings were collected and processed for detection of respiratory viruses as previously described (6). RSV antigen was detected using both a rapid enzyme immunoassay (Test-Pack, Abbott) and indirect immunofluorescence (Chemicon). Human rhinovirus and coronavirus RNA were detected by RT-PCR, influenza and parainfluenza viruses were detected by indirect immunofluorescence. Adenovirus was detected by culture; cytopathic effect was confirmed by immunofluorescence, and typing was carried out by PCR. Dust samples were collected from four sites in each patient's home: bedding, bedroom floor, TV room and kitchen, within 3 weeks of the ED visit. Measurements of major allergens from mites (Group 1 and Group 2), cockroach (Bla g 1), cat (Fel d 1), and dog (Can f 1) in house dust extracts were carried out using monoclonal antibody based ELISA (Indoor Biotechnologies Inc., Charlottesville, VA, USA). High level exposure to mites and cockroach was defined as Group 1 mite allergen levels  $\geq 2$   $\mu$ g/g of dust in bedding, and cockroach allergen Bla g 1  $\geq 2$ U/g of dust in the kitchen, respectively; high level exposure to cat and dog was characterized as at least one dust sample in the house containing concentrations of Fel d 1  $\geq 8$   $\mu$ g/g and Can f 1  $\geq 10$   $\mu$ g/g, respectively.

Children were evaluated in three subsequent visits: after  $12 \pm 3$  months (time 2, T2) from the index episode of wheezing (T1), when children were 12 to 24 months of age;  $24 \pm 3$  months (time 3, T3), when the children were 24 to 48 months of age,

and 10-12 yr (time 4, T4) after the index episode, when children were 8-12yr. The median ages of the children at T2, T3 and T4 were 18 (ranging from 12 to 24), 33 (ranging from 24 to 48) months, and 9y9m (ranging from 8y5m to 12y2m), respectively. At T2, a questionnaire was used to record the presence of wheezing, nasal symptoms and skin disorders. At T3, patients were evaluated by clinical history and physical exam, and blood samples were collected for eosinophil quantitation and measurement of serum levels of total IgE and specific IgE to mites, cockroach, cat and dog. Children were identified at this point as persistent wheezers (PW) if they had had 3 or more doctor-diagnosed wheezing episodes treated with a beta-2 agonist during the past 12 months, and as transient wheezers (TW) if they had had less than 3 wheezing episodes in the same period of time. At this time, the API was calculated for each child.

Children underwent skin prick testing with extracts of *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D farinae*, cat hair, dog dander, *B. germanica*, *P. americana*, and foods (cow's milk, egg, wheat, soy, peanut and fish) (Bayer, Spokane, USA) and *Blomia tropicalis* extract (2 mg/mL, kindly provided by Dr Enrique Fernandez-Caldas, CBF Leti, Spain). Skin prick tests (SPT) were carried out on the back or forearm, using a prick lancetter (Bayer, Spokane, USA). A reaction was considered positive when a mean wheal diameter of at least 3 mm or at least 3 mm greater than the negative saline control was developed) within 15 minutes after application of the extract. The presence of erythema was also an essential criteria for a positive reaction. Positive (10 mg/mL histamine dihydrochloride, Bayer) and negative (sterile albumin-saline with phenol, Bayer) controls were used in all tests.

At the end of the follow-up period (T4), patients were again evaluated by clinical history and physical exam, blood samples were collected for eosinophil quantitation and measurement of serum levels of total IgE and skin prick test for the same allergens previously detailed were performed. At this point, spirometry and methacholine challenge test for diagnosing bronchial hyperresponsiveness (BHR) were also performed.

### **Clinical definitions**

Criteria for the API index (assessed at T3): A positive rhinitis and/or atopic dermatitis diagnosis in the child was defined as a report of physician-diagnosed rhinitis and/or eczema. A parental positive diagnosis of asthma was characterized by the report of asthma diagnosed by a physician in the mother and/or father. Wheezing apart from colds were identified by the questionnaire answered by guardians, and eosinophilia was defined if circulating eosinophils were  $\geq 4\%$  of total white blood cells.

Allergic sensitization was defined as the presence of a positive SPT to at least one allergen.

Children were considered asthmatic if they presented previous physician-diagnosed asthma, or at least one of the following symptoms in the past 12 months: wheezing, cough or chest tightness with exercise, or dry cough without colds, accompanied by bronchial hyperresponsiveness, as detected by a PC20  $< 4\text{mg/ml}$  on methacholine challenge test.

A positive API score (at least one major criteria: physician-diagnosed eczema or parental asthma; or 2 of 3 minor criteria: physician-diagnosed allergic rhinitis,

wheezing without colds or peripheral eosinophilia  $\geq 4\%$ ) was defined based on information collected when the children were between 2 and 4 years old (T3). Children were also classified as having Stringent or Loose Asthma Predictive Index (S-API or L-API) if they were persistent or transient wheezers, respectively (10, 12).

Sensitivity, specificity, predictive values, likelihood ratios and confidence intervals (CI) of the API index for the diagnosis of asthma at 8-12y were calculated.

Seventy-six of the 80 children (95%) initially enrolled in the first phase (T1) of this prospective study were included for the evaluation at school age (T4). Ten children moved to another city, and the mothers of 5 children did not agree to attend the follow-up visits. Sixty one of the 76 included children (80.3%) answered the questionnaire. Fifty-two (68.4%) performed the skin prick test and 48 (63.1%) had the complete evaluation, including spirometry and metacoline challenge test.

The study protocol was approved by the Ethics Committee of both hospitals, and the children's parents or guardians gave written informed consent to participate in the study.

### **Statistical analysis**

Means and standard deviations (SD), or medians and interquartiles intervals were calculated for continuous variables. Categorical variables were expressed as percentages. Differences in categorical variables between asthmatic and non-asthmatic children were assessed by the Chi-square test for proportions. The Fisher exact test was used when the observed frequency of any variable was  $< 5$ . Values of  $p < 0.05$  were considered as significant.

The discriminative properties of the API applied to 2-4y children (at T3) for the diagnosis of asthma in 8-12y children (T4) were defined as follows (ref):

Sensitivity (the probability of a positive API in children with a positive case definition of asthma). Specificity (the probability of a negative API in children with a negative case definition of asthma).

Positive predictive value (the probability of a positive case definition of asthma in children with a positive API asthma. Negative predictive value (the probability of a negative case definition of asthma in children with a negative API).

Likelihood ratio (LR, the probability of a API score in children with a positive case definition of asthma, divided by the probability of a positive API in children with a negative case definition of asthma). For each result, a 95% confidence interval for a binomial proportion was determined.

## **RESULTS**

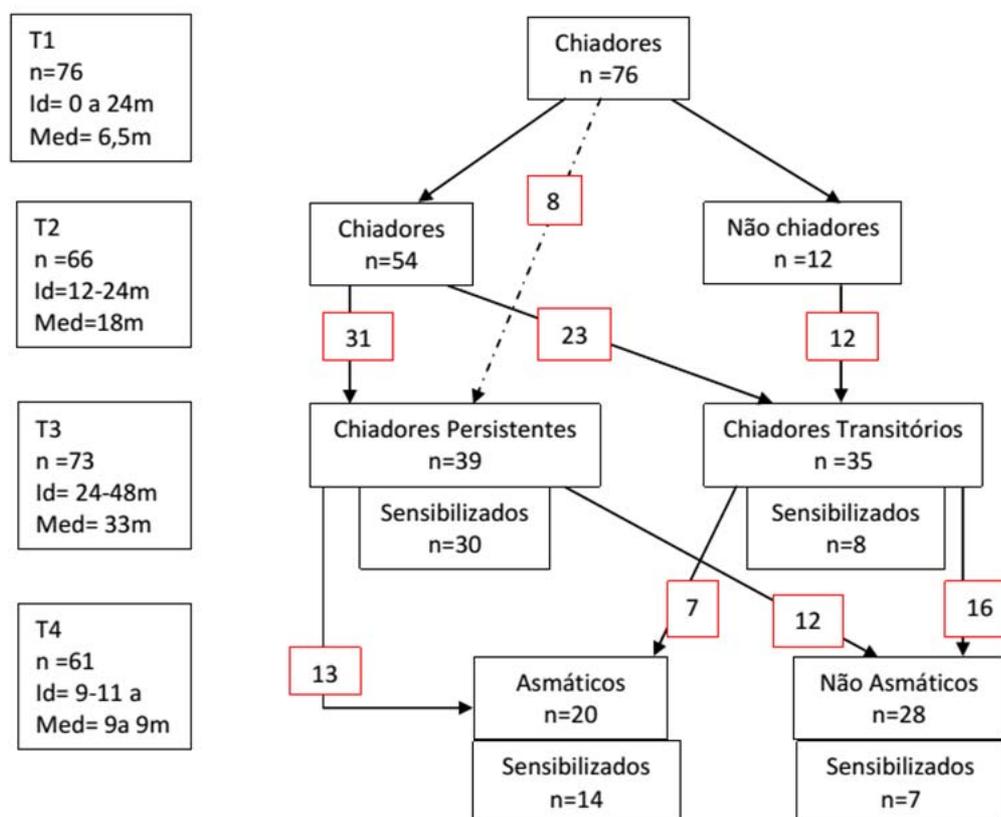
Baseline characteristics of the children are shown on Table 1. There were 40/61 boys (65.6%). Average age at the present evaluation was 9y9m, varying from 8a5m to 12a2m. Nearly half of the children (44.2%) were sensitized to at least one allergen, and 49.2 % had previous diagnosis of asthma made by a physician.

**TABLE 1** – Clinical characteristics of a group of school children from Ribeirão Preto/SP that presented a wheezy episode between 0 e 24 months of age.

Characteristics	% (n)
Boys	65.6 (40/61)
Familiar history of allergy (T4)	72 (44/61)
Exclusive breast milk for at least 1 month	83.3(50/60)
Smokers at home (T4)	59 (36/61)
Mothers smoking during destation (T1)	34.5(20/58)
Smoking mothers (T4)	29.5 (18/61)
Vírus identification (T1)	80(48/60)
SRV identification (T1)	39(23/59)
Total IgE > 100UI/L (T4)	50(26/52)
Allergic sensitization (T4)	44.2(23/52)
Allergic rhinitis (T4)	37(19/52)
Wheezing episodes	36 (22/61)
Wheezing with exercises*	21 (13/61)
Cough without a cold*	46 (28/61)

\* in the last 12 months

Figure 1 shows the evolution of the children since the first evaluation, the development of asthma and the presence of allergic sensitization at the different study phases.



**FIGURE 1.** Clinical evolution and allergic sensitization in 76 children after an index episode of wheezing between 0 and 24 months of age

Among the 48 children who participated in the full evaluation at school age (T4), 20 were identified as having asthma (41.7%): thirteen of 24 children previously classified as persistent wheezers between 2-4y, and 7/23 (30.4%) of children previously identified as transient wheezers. Sensitization to at least one allergen was significantly more frequent among asthmatic (14/20; 70%) as compared to non-asthmatic children (7/28; 25%; chi-square test ;  $p=0.005$ ).

Table 2 shows the frequency of clinical characteristic used to calculate the API. Among the 48 assessed patients, 19 (39.6%) had at least one major API criteria: 17 (35.4%) had at least one parent with physician diagnosed asthma, 4 (8.3%) had MD diagnosis of eczema and 2 had both major criteria. A significantly higher proportion of children with asthma between 8-12y had at least one parent with a previous medical diagnosis of asthma, compared to those without asthma (Table 2).

**TABLE 2**– Frequency of characteristics included in the *Asthma Predictive Index (API)*, according to the diagnosis of asthma at 8-12 years old children

	Asthmatic children (n-20)	Non-Asthmatic children (n-28)	All children (n-48)
Transient wheezer*	7(35%)	16 (57.1%)	23/47(48.9%)
Persistent wheezer**	12 (60%)	12 (42.9%)	24/47 (51.1%)
<b>MD diagnosis of asthma in at least one parent<sup>#</sup></b>	<b>11(55%)</b>	<b>6 (21.4%)</b>	<b>17 (35.4%)</b>
MD diagnosis of eczema	1 (5%)	3 (10.7%)	4 (8.3%)
MD diagnosis of rhinitis	7 (35%)	9 (32.1%)	16 (33.3%)
Wheezing without cold	4 (20%)	5 (17.8%)	9 (18.7%)
Eosinophilia >4%	6 (30%)	8 (28.5%)	14 (29.1%)

\*< 3 wheezing episodes/year \*\*≥ 3 wheezing episodes/year <sup>#</sup> P value =0.036 (chi-square test)

The most frequent minor criteria observed in this group of children was MD diagnosed rhinitis (33.3%), with no significant difference in asthmatics and non-asthmatics.

As a whole, 23(47.9%) of the 48 children included had a positive API score between 2-4y: 22 had a positive S-API and 5 had L-API. Table 3 shows the distribution of S and L-API positive children at 2-4y and the diagnosis of asthma at 8-12y.

**TABLE 3** – Frequency of positive Asthma Predictive Index (API) in 2-4y children according to the development of asthma at 8-12y.

		Diagnosis of Asthma	
		Present n=20	Absent n=28
<b>Asthma Predictive Index</b>	Positive	13 (65%)	9 (32.1%)
	S-API	10 (50%)	7 (25%)
	L-API	3 (15%)	2 (7.1%)
	Negative	7 (35%)	19 (67.9%)
	S-API	2 (10%)	5 (17.9%)
	L-API	5 (25%)	14 (50%)

API – Asthma Predictive Index; L-API – loose index; S-API - stringent index.

Table 4 shows the discriminative properties of API, S-API and L-API for the diagnosis of asthma at school age and the respective 95% confidence intervals. The stringent API showed the highest sensitivity and the loose API yielded the highest specificity. Positive and negative predictive values were similar for stringent and loose API. In general, API positive pre-schoolers had a 2 times higher chance of developing asthma at school age when compared to negative API children.

**TABLE 4** – Sensitivity, Specificity, Predictive values, Likelihood ratios and respective 95% confidence intervals of the Asthma Predictive Index applied to 2-4 year-old children according to the diagnosis of Asthma at 8-12 years of age.

	Stringent API	Loose API	API
<b>Sensitivity</b>	83,3 (55,2–95,3)	37,5 (13,7-69,4)	65 (43,3-81,9)
<b>Specificity</b>	41,7 (19,3-68,1)	87,5 (63,9-96,5)	67,9(49,3-82,1)
<b>PPV</b>	58,9 (36,0-78,4)	60,0 (23,1-88,2)	59,1(38,7-79,7)
<b>NPV</b>	71,4 (35,9-91,8)	73,7 (51,2-88,2)	73,1 (53,9-86,3)
<b>Positive LH</b>	1,43 (1,04-1,97)	3,0 (0,38-23,8)	2,02 (1,5-2,73)
<b>Negative LR</b>	0,4 (0,09-1,85)	0,71 (0,47-1,08)	0,51 (0,37-0,72)

API – Asthma Predictive Index; ; S-API - stringent index; L-API – loose index; PPV –positive predictive value; NPV–negative predictive value; LR-likelihood ratio

## DISCUSSION

The results of this prospective 12-year follow-up study in infants treated in the Emergency Department for acute wheezing showed that 42% of those children, and 50% of the ones reporting 3 or more wheezing episodes per year when they are 2-4 years old, will develop asthma at school age. The API index was able to correctly predict this outcome in 65% of the children, with an specificity of 68%, which suggests that using the API in similar groups of wheezing young children is clinically useful .

When comparing the discriminative properties of the API obtained in the

present study with those reported in the original API study (10), it can be seen that the loose API yielded very similar values, although with wider 95% confidence intervals, certainly related to the small number of children included in each group. However, the performance of the stringent index in our study was very different of the described in the original study, with higher sensibility and lower specificity and positive predictive values, and also lower positive likelihood ratio. It is important to highlight the differences between the two studies, mainly the fact that children included in the API original study were screened from a general birth cohort population while our children were selected at the Emergency room because of a wheezing episode. In addition, the definition of asthma was based in clinical symptoms and medical diagnosis in the original study, and included positive metacoline challenge in the present study.

The discriminative properties of S-API e L-API were studied in a group of Colombian wheezing babies between 1-3year-old who were interviewed for asthma related symptoms when they reached 5-6 years of age (11). In this study, the L-API showed higher sensibility and NPV values and lower specificity, PPV and positive LR when comparing to our results. On the other hand, S-API in the Colombian study yielded lower sensibility and PPV values and higher specificity, NPV and positive LR. We believe those differences can also be understood based on the different inclusion and definition of asthma criteria.

As the number of children included in our study was small, the sub-division for the application of the loose and stringent API could lead to the very wide 95% CI. We believe that the discriminative properties of the API applied to the whole group of children have shown more accurate values.

At present, is well known that using the API in wheezing preschool children from different populations can contribute to the early identification of children at higher risk of developing asthma at school age (1) and we have shown that this is also true for children living in subtropical environment, as previously shown in Colombia (11).

In conclusion, we have found that a high proportion of Brazilian children who are seen in the Emergency Room for a wheezing episode in the first years of life will develop asthma at school age. In this group of children, Asthma Predictive Index was positive in 59% of the asthmatic children and negative in 73% of the children that did not developed asthma. Therefore, considering that the API is very easy to perform and can improve the early identification of infants at high risk of developing asthma, we believe that studies involving a higher number of children from different world regions could confirm the accuracy of the API and serve as basis to recommend the use of the API in every health care setting worldwide.

## REFERENCES

1. Castro-Rodriguez JA. The asthma predictive index: a very useful tool for predicting asthma in young children. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:212-6.
2. Taussig LM, Wright AL, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ, Martinez FD. Tucson Children's Respiratory Study:1980 to present. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:661-75.
3. Martinez FD. Toward asthma prevention – Does all that really matter happen before we learn to read? *New Engl J Med* 2003; 349: 1473-5.
4. Sears MR, Greene JM, Willan AR et al. A longitudinal, population-based, cohort study of childhood asthma followed to adulthood. *N Engl J Medicine* 2003; 349: 1414-22.
5. Lowe L, Murray CS, Martin L et al. Reported versus confirmed wheeze and lung function in early life. *Arch Dis Child* 2004; 89: 540-3.
6. Duff AL, Pomeranz ES, Gelber LE et al. Risk factors for acute wheezing in infants and children: viruses, passive smoke and IgE antibodies to inhalants allergens. *Pediatrics* 1993;92:535-40.
7. Rakes GP, Arruda E, Ingram JM et al. Rhinovirus and respiratory syncytial virus in wheezing children requiring emergency care. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:785-90.
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;161:1501-7.
9. Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy
10. Castro-Rodrigues JA, Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1403-6.
11. Rodriguez-Martinez CE, Sossa-Briceno MP, Castro-Rodriguez JA. *Pediatr Pulmonol* 2011; 46: 1175-81.
12. Silva MM, Camara AA, Tobias KRC, et al. A prospective study of wheezing in young children: the independent effect of cockroach exposure, breast feeding and allergic sensitization. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:393–401. 2005;
13. Camara AA, Silva JM, Ferriani VPL et al. Risk factors for acute wheezing among children in a subtropical environment: role of respiratory viruses, IgE antibodies and allergen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113:551-7.