



Estudo comparativo entre esfregaços de citologia nasal obtidos por cotonete e por escova em pacientes com rinite.

A comparative study between nasal smears obtained by swabs and brushing in patients with rhinitis.

José Elabras Filho¹, Fernanda C. Q. Mello², Omar Lupi R. Santos³
Augusto T. Abe⁴, Alfeu T. França⁵.

Resumo

Introdução: Embora recomendado, o estudo da citologia nasal não é realizado rotineiramente devido à falta de padronização, realização de contagens somente qualitativas, e a escassez de material obtido.

Objetivos: Nosso estudo avaliou a possibilidade de realização de uma leitura quantitativa de esfregaços nasais por cotonete e por escova em pacientes com rinite, e comparou os achados obtidos através das duas técnicas.

Casística e Métodos: Foram selecionados sessenta pacientes apresentando história clínica de rinite. Todos foram submetidos, em uma mesma avaliação, seqüencialmente, a um esfregaço por cotonete na narina esquerda e a um por escova na direita. O esfregaço foi realizado em lâmina de vidro, com análise qualitativa e quantitativa de eosinófilos, neutrófilos e células epiteliais. Os achados foram comparados através do coeficiente de correlação intraclass e do coeficiente Kappa, quando apropriado.

Resultados: Observamos que a análise quantitativa dos esfregaços em lâmina foi possível, porém dificultada por questões associadas à técnica do exame. Qualitativamente não houve diferença do achado dos três tipos celulares entre as duas técnicas, mas sim quantitativo e de forma significativa, sendo maior para o escovado.

Conclusões: Concluímos que ambos os procedimentos são de fácil execução, baixo custo operacional, viáveis para realização ambulatorial, e de boa tolerância.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2005; 28(1):39-43 Cito-diagnóstico, mucosa nasal, rinite, imunologia.

Abstract

Introduction: Cell cytology studies are not customarily conducted due to the lack of standardization, the exclusively qualitative analyses, and the few samples obtained.

Objectives: Our study aimed the assessment of the feasibility of a quantitative analysis of nasal smears with swabs and brushes, among patients with rhinitis, and to compare the results obtained by both techniques.

Patients and Methods: Sixty patients with complaints of rhinitis were selected. All individuals were submitted sequentially to a swab in the left nostril, followed by a brush in the right one, during the same assessment. We performed a qualitative and a quantitative analysis of eosinophils, neutrophils, and epithelial cells onto a glass smear.

Results: Our findings were compared using the interclass correlation coefficient and Kappa coefficient, when appropriate. We observed that a quantitative analysis was possible, however limited by technical aspects. There were no qualitative differences between the techniques, but quantitative significant higher difference for the brush specimens.

Conclusions: It was concluded that both procedures were easily performed, with low operational costs, reliable for realization in outpatient centers/institutions, and well tolerated.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2005; 28(1):39-43 Cytodiagnostic, nasal mucosa, Rhinitis, immunology

1. Professor da FM-UFRJ. Mestre em Imunologia Clínica.

2. Professora da FM-UFRJ. Doutora em Pneumologia.

3. Professor da UERJ. Médico do HUCFF-UFRJ. Doutor em Dermatologia.

4. Professor da FM-UFRJ. Chefe do Serviço de Imunologia Clínica do HUCFF-UFRJ.

5. Professor da FM-UFRJ e da FTESM. Doutor em Imunologia Clínica.

Serviço: Serviço de Imunologia Clínica - HUCFF- FM- UFRJ.

Introdução

Nos últimos anos tem-se evidenciado a enorme participação do processo inflamatório na etiopatogenia das diversas doenças alérgicas do aparelho respiratório, particularmente da asma e das rinites. Por meio de diversos exames laboratoriais, tem sido tentado qualificar e quantificar esse processo^{1,2}.

Com relação ao trato respiratório superior, principalmente no caso das rinites, o estudo da citologia nasal vem

sendo utilizado de longa data na obtenção de informações a respeito da sua patogenia, ou seja, pela avaliação das células inflamatórias e dos seus mediadores. Esse estudo também tem sido útil na caracterização dos subtipos de rinite, principalmente na distinção entre as alérgicas e as não alérgicas, pois as alérgicas geralmente têm preponderância de eosinófilos, e as não alérgicas de neutrófilos. Outra aplicação seria naqueles estudos controlados para a avaliação da eficácia de medicamentos antiinflamatórios, utilizados no seu tratamento³⁻⁶.

O estudo da citologia nasal também vem sendo utilizado na avaliação indireta do processo inflamatório pulmonar da asma, baseando-se nas evidências de um provável processo inflamatório comum, acometendo tanto o nariz como os pulmões. Nesse caso, teria a vantagem de ser pouco invasivo, de ter um custo em muito, inferior aos procedimentos endoscópicos pulmonares e ao escarro induzido, utilizados no estudo da inflamação na asma^{5,6}.

Recentemente a "World Health Organization" publicou um "consenso" mundial sobre rinites e sua estreita associação com a asma e outras doenças alérgicas como as conjuntivites, denominado ARIA (*Allergic Rhinitis and its impact on Asthma*). Esse material enfoca a alergia respiratória como uma doença sistêmica e sugere diretrizes para o seu tratamento. A associação de asma e rinite é valorizada, sendo sugerido que ambas sejam investigadas e tratadas adequadamente⁶. O ARIA, quanto à citologia nasal enfatiza a sua subutilização clínica, e reforça o seu uso na avaliação diferencial de rinites inflamatórias das não inflamatórias, alérgicas das não alérgicas, para seguimento clínico-laboratorial do tratamento e na avaliação da alergia como um todo, ou seja, com avaliação indireta de outros órgãos, em especial dos pulmões⁶.

Embora recomendado pela maioria dos autores, o estudo da citologia nasal, na prática, é pouco realizado no nosso país. Segundo recente revisão sobre o tema, realizada por Cruz e Carvalho, isso se deve à falta de padronização

de coletas e de análises, disponibilidade de estudos somente qualitativos, obtenção de material escasso e não representativo, principalmente quando são utilizados esfregaços com cotonete⁵.

Várias técnicas já foram descritas para o estudo da citologia nasal: biópsia, esfregaço por cotonete, esfregaço por escova, lavado, assoado e curetagem. O padrão-ouro dessa avaliação ainda é considerado a biópsia nasal. Entretanto, por ser um método invasivo, dispendioso e sujeito a complicações, preponderantemente hemorrágicas; estudos mais recentes têm procurado substituí-la pelos demais métodos, principalmente o esfregaço por escova e o lavado^{3,4,13,5-10}. Ainda observamos na literatura, uma enorme heterogeneidade no processamento e quantificação celular das amostras obtidas para o estudo da citologia nasal, muitas vezes com técnicas de alta complexidade e custo elevado^{3-5,8,9}. A tabela 1 resume as técnicas, colorações e métodos de contagem celular, descritos na literatura.

Tabela 1 - Autor, ano, técnica de coleta, colorações e métodos de leitura utilizados para o estudo da citologia nasal

Autor	Ano	Técnica	Coloração	Leitura
Blaski et al ¹¹	1996	lavado (com centrifugação)	Diff-Quick	quantitativa (células por ml)
Chanez et al ¹²	1999	biópsia	Anticorpos monoclonais	quantitativa total em 5 campos
Chapelin et al ¹³	1996	escovado (lavado e centrifugação)	Anticorpos monoclonais	quantitativa em 200 células
Cruz e Carvalho ⁵	1997	lavado (com centrifugação)	Panótico-rápido	quantitativa - percentual
Findlay et al ¹⁴	1992	esfregaço com cotonete	Giemsa	quantitativa - percentual
Godthelp et al ⁸	1996	escovado (lavado e centrifugação)	Giemsa	quantitativa até 500 células - percentual
Graham e Koren ¹⁵	1990	biópsia	Diff-Quick	quantitativa por ml de lavado
Ingels et al ¹⁶	1997	citocentrifugação	HE	qualitativa
Jacobson et al ¹⁷	1999	esfregaço com cotonete	Anticorpos monoclonais	qualitativa
Jean et al ⁹	1996	biópsia		quantitativa até 300 células em 3 campos
Leone et al ¹⁸	1997	escovado (lavado e centrifugação)	Giemsa e Luna	semi-quantitativa por campo em área densa de células
Lim et al ⁷	1995	lavado	Diff-Quick	quantitativa percentual
Lin et al ¹⁰	2001	lavado	Diff-Quick	quantitativa até 100 células
Malberg ¹⁹	1979	escovado (lavado e centrifugação)	Wright-Giemsa	quantitativa em 10 campos
Meltzer et al ²⁰	1994	curetagem	Azul de metileno-eosina	qualitativa
Mullarkey et al ²¹	1980	esfregaço com cotonete	Wright-Giemsa	semi-quantitativa
Nonaka et al ²²	1996	esfregaço com cotonete	Wright	quantitativa percentual
Pastorello et al ²³	1994	escovado (lavado e centrifugação)	Anticorpos monoclonais	qualitativa
Pelikan e Pelikan-Filipek ²⁴	1988	assoado	Giemsa	quantitativa percentual
Prat et al ²⁵	1993	assoado	Giemsa	quantitativa percentual
Purello et al ²⁶	1999	lavado (com centrifugação)	Anticorpos monoclonais e May-Grunwald-Giemsa	quantitativa até 200 células
Sacco et al ²⁷	1999	lavado (com centrifugação)	Papanicolau	quantitativa até 300 células e percentual
Van Benten et al ²⁸	2001	escovado (lavado e centrifugação)	Imunofluorescência para antígenos epiteliais e Diff-Quick	imunofluorescência quantitativa para os antígenos epiteliais e quantitativo até 400 células para neutrófilos e eosinófilos
Veld et al ²⁹	1996	assoado	Hematoxilina de Gill e anticorpos monoclonais	quantitativa até 2000 células e percentual
		escovado (lavado e centrifugação)	Anticorpos monoclonais	eosinófilos contados em percentual do total de células

No Serviço de Imunologia do HUCFF-UFRJ, de longa data vem sendo utilizada a técnica do esfregaço por cotonete, com análise qualitativa, entretanto, não de forma rotineira.

Baseados na importância do exame de citologia nasal para a prática médica e a pesquisa clínica, visando facilitar e difundir o seu uso, e tentando atenuar os diversos transtornos técnicos supra-citados, resolvemos realizar esse estudo. Em pacientes com rinite, testamos a hipótese da superioridade do rendimento do esfregaço por escova, sobre o por cotonete, em relação às análises qualitativas e quantitativas do material celular obtido; avaliamos sua viabilidade para realização ambulatorial; seus custos e a sua tolerância pelos pacientes e também a exequibilidade de um método de contagem quantitativa de análise dos esfregaços celulares obtidos.

Pacientes e Métodos

Realizamos um estudo transversal, com seleção aleatória de pacientes. Foram avaliados pacientes do ambulatório do Serviço de Imunologia do HUCFF, com idade igual ou superior a 18 anos, apresentando história clínica de rinite (prurido nasal, obstrução nasal, espirros em salva, ou coriza hialina). Todos concordaram em participar do estudo, assinando termo de consentimento livre e esclarecido, respondendo um questionário padrão, e sendo submetidos às coletas de material para citologia nasal pelas duas técnicas estudadas. Os pacientes podiam apresentar, ou não, qualquer outra enfermidade associada, salvo desvio septal e pólipos nasais evidentes ao exame clínico, e estar, ou não, em uso de qualquer medicamento.

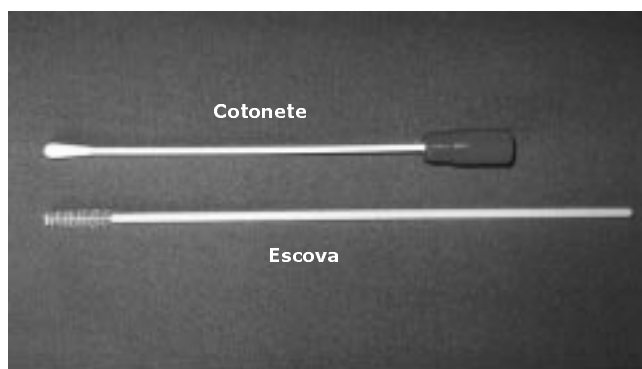
O tamanho amostral foi estimado após a comparação dos resultados iniciais, ou seja, um estudo piloto com 15 pacientes. O mesmo ficou definido em 60 pacientes, após essa análise, pela tabela de cálculo amostral de *Jacob Cohen*³⁰.

Os pacientes inclusos foram submetidos, em uma mesma avaliação e por um único examinador, a preenchimento do questionário padrão e sequencialmente, a um esfregaço por cotonete na narina esquerda e a um por escova na direita. O cotonete e a escova foram introduzidos cerca de 2 cm em cada narina, distância aproximada do corneto nasal inferior, com posterior rotação horária de 720 graus sendo logo a seguir suavemente retirados. Foram utilizados cotonetes estéreis com comprimento de cerca 1,5 cm, e escovas para coleta de material para citologia endocervical uterina da marca Vagispec®, fina e de nylon macio, com cerca de 2 cm de comprimento (figura 1).

O cotonete e a escova foram aplicados por esfregaço em lâminas de vidro, sobre uma área pré-delimitada, com o uso de um lápis demarcador sobre uma lâmina plástica, de 40 mm². Os esfregaços a seguir eram secos em ar ambiente, e cerca de uma hora após, eram corados pela técnica

de Wright-Giemsa. As lâminas obtidas foram submetidas à leitura por microscopia ótica com até 400 x de aumento, com análise quantitativa de eosinófilos, neutrófilos e células epiteliais dentro da área delimitada. Todas as lâminas foram lidas de forma "cega" e independente por dois técnicos experientes do laboratório do Serviço de Imunologia e por um médico patologista do Serviço de Anatomia Patológica do HUCFF-UFRJ., sendo as leituras a *posteriori* avaliadas quanto à sua concordância.

Figura 1 - Cotonetes e escovas utilizados no estudo



Para as comparações estatísticas foram utilizados o coeficiente de correlação interclasse (CCI) e o coeficiente Kappa quando apropriado, sendo considerado como nível de significância um p valor $\leq 0,05$ ^{31,32}.

Esse protocolo foi submetido à apreciação e aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa do HUCFF-UFRJ, de acordo com a resolução 196/96 e suas complementares, sob o número 148/00, e foi aprovado.

Resultados

Os 60 pacientes preencheram os critérios de inclusão e se submeteram ao protocolo da pesquisa; 13 pacientes eram do sexo masculino e 47 do feminino. Suas idades variaram de 18 a 63 anos (média de 39 anos - com DP de 13 anos). Cinquenta e três eram de cor branca ou parda e sete de cor negra; 41 pacientes estavam em uso de medicamentos tópicos ou sistêmicos que poderiam ter ação terapêutica sobre sua rinite.

Não foram observadas reações adversas graves durante as coletas, sendo relatadas apenas reações leves e transitórias (tabela 2). Ambos os procedimentos foram considerados de fácil execução pelo examinador e de baixo custo operacional. O custo unitário estimado, do material de consumo utilizado, se encontra listado na tabela 3.

Tabela 2 - Reações adversas e número de pacientes em que foram observadas, durante a coleta de material para citologia nasal com cotonete e escova

	Prurido local	Lacrimajamento	Espirros e tosse	Dor transitória de leve intensidade
Cotonete	11 pacientes	3 pacientes	2 pacientes	nenhum paciente
Escova	20 pacientes	11 pacientes	2 pacientes	2 pacientes

As leituras dos observadores foram comparadas entre si através do coeficiente de correlação intraclassa para avaliação de fidedignidade, sendo as mesmas altamente concordantes na observação das três células estudadas (ICC próximo a 1, com p < 0,05).

Não houve problemas em relação à identificação dos tipos celulares, ou seja, a descrição de presença ou ausência de células epiteliais, neutrófilos e eosinófilos pelos leitores em cada lâmina. Células semi-destruídas foram incluídas nas contagens quando foi possível detectar um constituinte

celular que a caracterizasse como um tipo específico de célula, caso contrário foram desconsideradas. Quanto a contagem quantitativa de células, todos os leitores relataram os seguintes transtornos:

- grande quantidade de células epiteliais, na maior parte das lâminas, muitas vezes agrupadas, dificultando sua contagem;
- em relação aos neutrófilos, o mesmo ocorreu em doze pacientes; nos demais 46 pacientes em que foram observados neutrófilos, não houve dificuldades na contagem dessas células;
- em relação aos eosinófilos, em quatro pacientes foram observados agrupamentos celulares entremeados por muco que dificultaram sua leitura; nos demais 15 pacientes que apresentaram essas células em seus esfregaços, não houve problemas para a sua contagem.

Tabela 3 - Custo unitário estimado, em reais, do material de consumo utilizado

Material de consumo	Custo estimado (em R\$)
Escovas	50 centavos a unidade
Cotonetes	25 centavos a unidade
Corante	15 centavos por ml
Lâminas de vidro	85 centavos a unidade

Como as leituras dos três observadores não foram estatisticamente distintas, os valores relatados pelo leitor 2 foram aleatoriamente escolhidos, para tratamento estatístico.

A seguir, foram comparados os achados do cotonete e do escovado em termos qualitativos e quantitativos no que tange às células epiteliais, neutrófilos e eosinófilos. As células epiteliais foram encontradas em todos os esfregaços, quer com o cotonete quer com o escovado. Quantitativamente através do estudo do CCI os resultados foram discordantes (CCI de - 0,81 com $p = 0,99$), logo o escovado recuperou uma quantidade significativamente maior de células epiteliais do que o cotonete. Com os neutrófilos, os mesmos estavam presentes de forma freqüente (67% dos casos), tanto nos esfregaços por cotonete como nos escovados, entretanto, numericamente também houve um achado superior do escovado em relação ao cotonete (CCI de 0,12 com $p = 0,18$). Em relação aos eosinófilos observamos essas células em um número pequeno de pacientes ($n = 19$), ou seja, houve um número muito elevado de "zeros". Devido a esse fato foi indicado utilizar o coeficiente Kappa para avaliarmos a concordância ou não dos achados qualitativos, demonstrando não haver diferenças qualitativas para eosinófilos em relação às duas técnicas (K de 0,54 com $p < 0,0001$). Quantitativamente observamos uma diferença com maior celularidade para o escovado (CCI de 0,06 com $p = 0,39$). Em suma, não houve diferença qualitativa para as três células nos dois métodos, mas quantitativa para todas, com uma superioridade numérica do escovado. Nas figuras 2 e 3 observamos um caso típico estudado, com alta celularidade em esfregaço por escova e baixa celularidade no esfregaço por cotonete.

Discussão

Devido às características desse estudo, ou seja, o de uma comparação intra-individual, decidimos pela avaliação de pacientes com rinite independente de sua etiologia, com o uso ou não de medicamentos. A maior parte de nossos pacientes ambulatoriais, mesmo os recém admitidos, já estava em uso de medicamentos anti-inflamatórios para rinite. Tais fatos podem justificar a baixa incidência do achado de eosinófilos no nosso estudo.

Figura 2 - Alta celularidade observada em esfregaço por escova (aumento: 125 x)

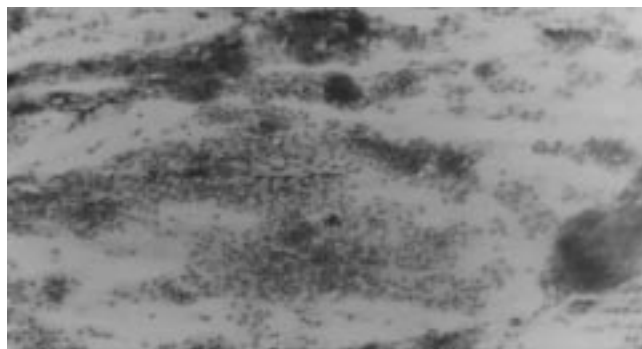


Figura 3 - Esfregaço por cotonete do mesmo paciente acima com baixa celularidade (aumento: 125 x)



Quanto ao sítio do escovado, cinco dos trabalhos levantados o realizaram na altura do corneto inferior^{9,10,17,27,29}, e três na altura do meato médio^{8,13,28}. Interrogamos se a coleta no nível do meato médio poderia aumentar o rendimento do escovado, principalmente em relação à recuperação de eosinófilos.

Adaptamos uma escova de uso ginecológico, conforme realizado em outros trabalhos, pois ainda não existe disponível no mercado brasileiro, escova específica para citologia nasal^{8-10,13,17,22,27-29}. O cotonete e a escova foram submetidos à esfregaço em lâminas de vidro, sobre uma área pré-delimitada de 40 mm². Aventamos a possibilidade de utilização de lâminas milimetradas, tipo Neubauer, só que sua pouca disponibilidade e custo elevado, inviabilizariam seu uso rotineiro posterior. A leitura de determinados campos aleatórios, utilizada por alguns autores, poderia afetar a reprodutibilidade dos resultados^{10,12}.

Nossos achados mostram que, qualitativamente, não houve diferença significativa em prol do escovado. Quantitativamente, houve para os três grupos de células, ou seja, para as epiteliais, neutrófilos, e eosinófilos. Esses resultados são concordantes com a literatura quanto aos achados quantitativos. O melhor rendimento do escovado é justificado por ele atingir mais profundamente o epitélio do que o esfregaço com cotonete. Logo as amostras obtidas pelo escovado seriam mais representativas, o que justificaria o seu uso no lugar do cotonete^{3-8,17,22,29}.

Também tentamos realizar a análise quantitativa dos esfregaços em lâmina, uma das deficiências do estudo da citologia nasal, adaptando um método qualitativo já realizado no nosso hospital. Contudo, a análise quantitativa foi dificultada, devido à presença maciça de células epiteliais nas lâminas de ambas as técnicas, e de alguns grandes agrupamentos celulares inflamatórios neutrofilicos e eosinofílicos, muitas vezes entremeados por muco em alguns pa-

cientes. Esses transtornos provavelmente são inerentes à própria técnica do esfregaço sobre lâmina. Para facilitar futuros estudos e neutralizar o efeito de possíveis erros de contagem em lâminas com grande densidade celular, poderiam ser utilizadas escalas semi-quantitativas similares às de Jean et al⁹ e Lin et al¹⁰. Também poderia ser avaliado o uso de substâncias mucolíticas e filtros apropriados no processamento das amostras, como o realizado no manuseio de escarro induzido, porém isso poderia levar a um aumento da complexidade e custo da técnica do esfregaço^{33,34}.

O custo de material de consumo foi considerado baixo para os dois métodos. O material permanente, no caso um aparelho de microscopia ótica, é facilmente disponível nos laboratórios de hospitais e postos de saúde, sendo assim, uma grande vantagem da técnica de processamento utilizada, que é a sua facilidade de uso, desde em unidades primárias, até terciárias, ou até mesmo em pesquisas epidemiológicas de campo. A literatura levantada em poucas vezes aborda a questão do custo, em nenhum trabalho especificando os valores gastos nos exames^{3,5,8}. Ao nosso ver esse é um aspecto fundamental e nossos resultados, de forma pioneira, justificam a aplicação dessas técnicas.

Não observamos reações adversas graves nas coletas. As publicações também pouco valorizam essa questão. Tal achado poderia permitir o uso de qualquer uma das técnicas em estudos com populações pediátricas, o que já é relatado por alguns autores^{3,5,8,9}.

Conclusões

O rendimento do esfregaço por escova foi estatisticamente superior ao por cotonete em relação à análise quantitativa, mas não em relação à qualitativa, na avaliação de células epiteliais, neutrófilos e eosinófilos.

Uma análise quantitativa padronizada dos esfregaços em lâmina foi exequível, porém dificultada por questões inerentes à técnica do exame.

Ambas as técnicas foram consideradas viáveis para realização ambulatorial, de baixo custo, e de boa tolerância pelos pacientes.

Referências

- Kay AB. Allergy and Allergic Diseases - First of two parts. *N. Engl J Med* 2001; 344:30-7.
- Kay AB. Allergy and Allergic Diseases - Second of two parts. *N. Engl J Med* 2001; 344:109-113
- Pipkorn U, Karlsson G. Methods for obtaining specimens from the nasal mucosa for morphological and biochemical analysis. *Eur Respir J* 1988; 1:856-862.
- Togias A, Naclerio RM, Proud D. Studies on the allergic and nonallergic nasal inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1988;81:782-90.
- Cruz AA, Carvalho EM. Citologia nasal quantitativa simplificada. (CNQ-s) *Rev. bras. alerg. imunopatol.*, 1997; 20(2): 56-74.
- Allergic Rhinitis and its impact on asthma. ARIA workshop report. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108:147-275.
- Lim MC, Taylor RM, Naclerio RM. The histology of allergic rhinitis and its comparison to cellular changes in nasal lavage. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:136-144.
- Godthelp T, Holm AF, Fokkens WJ, Doornenbal P, Mulder PGH, Hoefsmid ECM, et al. Dynamics of nasal eosinophils in response to a nonnatural allergen challenge in patients with allergic rhinitis and control subjects; a biopsy and brush study. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97: 800-11.
- Jean R, Delacourt C, Rufin P, Pfister A, Waernessyckle S, de Blic J, et al. Nasal cytology in rhinitis children: comparison between brushing and blowing the nose. *Allergy* 1996; 51:932-4.
- Lin RY, Nahal A, Lee M, Menikoff H. Cytologic distinctions between clinical groups using curette-probe compared to cytology brush. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 86:226-31.
- Blasky CA, Watt J, Quinn T. Nasal lavage cellularity, grain dust, and airflow obstruction. *Chest* 1996;109:1086-92.
- Chaney P, Vignola AM, Vic P. Comparison between nasal and bronchial inflammation in asthmatic and control subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:588-595.
- Chapelin C, Gilain L, Coste A, e cols. Modified epithelial cell distribution in chronic airways inflammation. *Eur Respir J* 1996; 9:2474-2478.
- Findlay S, Huber F, Garcia J, Huang L. Efficacy of once a day intranasal administration of triancinolone in patients with seasonal allergic rhinitis. *Ann Allergy* 1992; 68:228-32.
- Graham DE, Koren HS. Biomarkers of inflammation in ozone-exposed humans. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:152-6.
- Ingels K, Durdurez JP, Cuvelier C, Cauwenberge PV. Nasal biopsy is superior to nasal smear for finding eosinophils in nonallergic rhinitis. *Allergy* 1997; 52: 338-41.
- Jacobson MR, Juliusson S, Lowhagen O, Balder B, Kay AB, Durham SR. Effect of topical corticosteroids on seasonal increase in epithelial eosinophils and mast cells in allergic rhinitis: a comparison of nasal brush and biopsy methods. *Clinical and Experimental Allergy* 1999; 29:1347-55.
- Leone C, Teodoro C, Pelucchi A, e cols. Bronchial responsiveness and airway inflammation in patients with nonallergic rhinitis with eosinophilia syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100:775-80.
- Malberg H, Holopainen E. Nasal smear as a screening test for immediate-type nasal allergy. *Allergy* 1979;34:331-337.
- Meltzer E, Orgel a, Rogenis PR, e cols. Nasal cytology in patients with allergic rhinitis: effects of intranasal fluticasone propionate. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94:708-15.
- Mullarkey MF, Hill JS, Webb DR. Allergic and nonallergic rhinitis: their characterization with attention to the meaning of nasal eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 1980;65:122-26.
- Nonaka M, Nonaka R, Jordana M, Dolovich J. GM-CSF, IL-1R, TNF-alphaR and HLA-DR in nasal epithelial cells in allergic rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1675-81S.
- Pastorello EA, Galeazzo RS, Incorvaia C e cols. Comparison of rhinomanometry, symptom score, and inflammatory cell counts in assessing the nasal late-phase reaction to allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:85-92.
- Pelikan Z, Filipek MP. Cytologic changes in the nasal secretions during the immediate nasal response. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:1103-12.
- Prat J, Xaubet A, Mullol J, e cols. Immunocytologic analysis of nasal cells obtained by nasal lavage: a comparative study with a standard method of cell identification. *Allergy* 1993; 48:587-91.
- Purello-D'Ambrosio F, Isola S, Ricciardi I, e cols. A controlled study on the effectiveness of loratadine in combination with flunisolide in the treatment of nonallergic rhinitis with eosinophilia. *Clin Experimental Allergy* 1999;29:1143-1147.
- Sacco O, Iantero S, Scarso L. Modulation of HLA-DR antigen and ICAM-1 molecule expression on airway epithelial cells by sodium nedocromil. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 83:49-54.
- Van Bente IJ, Kleinjan HJ, Osterhaus ADM, Fokkens WJ. Prolonged nasal eosinophilia in allergic patients after common cold. *Allergy* 2001;56:949-956.
- Veld CG, Garrelds IM, Koenders S, Van Wijk G. Relationship between nasal hyperreactivity, mediators and eosinophils in patients with perennial allergic rhinitis and controls. *Clin Exp Allergy* 1996;26:903-8.
- Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*: Academic Press, New York and London; 1969. 411p.
- Bartho J J, Carpenter W. On the Methods and Theory of Realiability. *Journal Nervous Mental Diseases* 1976; 63:307-317.
- Sounis E. *Bioestatística*. Brasil: Livraria Atheneu. 1985. 320 p.
- Keatings VM, Evans DJ, O'Connor BJ, Barnes PJ. Cellular profiles in asthmatic airways: a comparison of induced sputum, bronchial washings, and bronchoalveolar lavage fluid. *Thorax* 1997;52:372-4.
- Pavord ID, Pizzichini MMM, Pizzichini E, Hargreave FE. The use of induced sputum to investigate airway inflammation. *Thorax* 1997;52:498-501.

Correspondência:
 José Elabras Filho
 Clínica Derma Rio
 Av. N. S. de Copacabana 1052, gr. 1201 - Copacabana
 22060-000 - Rio de Janeiro - RJ
 Fone: 0XX-21-2522-6346
 E-mail: elabrasfilho@terra.com.br.