

ANALISIS DE LA CITOLOGÍA NASAL EN NIÑOS Y ADOLESCENTES CON RINITIS

ANALYSIS OF NASAL CYTOLOGY IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH RHINITIS

Natalia A. Lozano*, **Ricardo J. Saranz***, **Alejandro Lozano***, **María del Pilar Bovina Martijena***, **Maximiliano Ramírez****, **Marina F. Ponzio*****, **Yanina V. Berardi***, **Ana G. Sosa***, **Eugenia Cónconi***

Resumen

Antecedentes: El examen de la citología nasal es un método simple que permite diferenciar fenotipos de rinitis desde la perspectiva fisiopatogénica y diagnóstica. Existen controversias sobre la relación entre los grados clínicos de la rinitis y los patrones inflamatorios de la citología nasal.

Objetivos: Estudiar los patrones de eosinófilos y neutrófilos en la rinitis alérgica (RA) y no alérgica (RNA) y su relación con los grados clínicos de rinitis establecidos por la guía Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA).

Población y métodos: Estudio observacional, analítico de corte transversal, que incluyó pacientes de ambos sexos, entre 5 y 18 años, con RA y RNA. Se estudió la citología nasal de muestras extraídas de la superficie mucosa del cornete inferior con tinción de hematoxilina-eosina. Se compararon los patrones inflamatorios entre RA y RNA y en relación a los grados clínicos de rinitis establecidos en la guía ARIA.

Resultados: Se incluyeron 231 pacientes. Los pacientes con RA exhibieron mayor porcentaje de eosinófilos en secreción nasal que en RNA ($p=0,0012$) pero no hubo diferencias en el recuento de neutrófilos ($p=0,4011$). No se observaron diferencias en el número de eosinófilos y neutrófilos entre los grados clínicos de RA ($p= 0.7342$ y $p=0.0797$ respectivamente) y RNA ($p=0.1010$ y $p= 0.1422$ respectivamente).

Conclusiones: El recuento de eosinófilos en la citología nasal fue útil para diferenciar la RA de la RNA pero no ayuda, al igual que el recuento de neutrófilos, a distinguir grados clínicos de RA y RNA establecidos por ARIA.

Palabras claves: Rinitis alérgica, rinitis no alérgica, citología nasal, eosinófilo, neutrófilo.

* Universidad Católica de Córdoba. Clínica Universitaria Reina Fabiola, Servicio de Alergia e Inmunología. Facultad de Medicina, Cátedra de Inmunología.

** Universidad Católica de Córdoba. Facultad de Medicina. Cátedra de Histología II y Anatomía Patológica y Fisiopatología.

*** INICSA-CONICET, Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Médicas.

Correspondencia: Ricardo J. Saranz. Servicio de Alergia e Inmunología- Clínica Universitaria Reina Fabiola. Oncativo 1248 -X5004FHP- Córdoba, Argentina. e-mail: rsaranz@arnet.com.ar

Los autores declaran que este trabajo de revisión se realizó con financiación de la Secretaría de Investigación y Vinculación Tecnológica de la Universidad Católica de Córdoba.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar.

Abstract

Background: Nasal cytology is an easy-to-apply method to differentiate rhinitis phenotypes from a pathogenic and diagnostic perspective. There are controversies about the relationship between clinical severity of rhinitis and inflammatory patterns expressed in the nasal cytology.

Objectives: To study the characteristic of the eosinophil and neutrophil patterns in the nasal scraping for Allergic Rhinitis (AR) and Non Allergic Rhinitis (NAR) and its relationship with the clinical grades of rhinitis established by the Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma Guideline (ARIA)

Methods: In an observational, cross-sectional study we included patients aged 5 to 18 years presenting symptoms of either allergic (AR) or non-allergic rhinitis (NAR) without asthma. Cytology was performed by analyzing nasal scraping obtained from the mucosal surface of the inferior turbinate and samples were stained using the hematoxylin and eosin stain procedure. Inflammatory patterns between AR and NAR and between clinical grades of rhinitis classified by ARIA guide were compared.

Results: A total of 231 patients were included. Patients with AR exhibited higher percentage of eosinophils in nasal cytology than those with NAR ($p = 0.0012$) but no differences were observed in neutrophil count ($p = 0.4011$). No differences in the percentage of eosinophils and neutrophils between different grades of AR ($p = 0.7342$ and $p = 0.0797$ respectively) and NAR ($p = 0.1010$ and $p = 0.1422$ respectively) were observed.

Conclusion: Eosinophil count in the nasal cytology was useful to differentiate rhinitis with a positive allergen skin test from rhinitis with negative skin test, but as neutrophils count, does not help to distinguish clinical grades of AR and NAR as classified by ARIA.

Key words: Allergic rhinitis, non-allergic rhinitis, nasal cytology, eosinophil, neutrophil.

Introducción

La rinitis es una de las enfermedades crónicas más frecuentes observada en cualquier edad y representa una carga importante para la salud pública con impacto en la calidad de vida de quienes la padecen⁽¹⁻³⁾. Según su etiología puede clasificarse como rinitis alérgica (RA) y no alérgica (RNA)^(2,4). La condición alérgica resulta de un mecanismo de hipersensibilidad tipo I mediada por inmunoglobulina E (IgE) con inflamación eosinofílica secundaria a la exposición a alérgenos^(5,6). Es menos conocida la fisiopatología del fenotipo no alérgico de rinitis, aunque el eosinófilo no tendría el rol preponderante que presenta en la génesis de la rinitis alérgica⁽⁴⁾. La evaluación del frotis nasal, ha sido utilizada desde antaño como método complementario diagnóstico de la rinitis y para el estudio de su fisiopatología, porque permite valorar en forma simple y rápida el perfil celular inflamatorio existente^(7,8).

Diferentes métodos han sido propuestos para la identificación, recuento y caracterización morfológica de células, particularmente eosinófilos,

neutrófilos, mastocitos y linfocitos que pueden variar según el fenotipo de rinitis^(8,9). Por otro lado, estudios previos han evaluado la celularidad nasal considerando gravedad o frecuencia de síntomas de la rinitis alérgica en adultos^(10,11); sin embargo no hay investigaciones que incluyan su análisis en relación a los cuatro grados establecidos por la guía Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) que abarca conjuntamente la frecuencia y la gravedad de los síntomas en una población pediátrica⁽¹²⁾. Los objetivos de nuestro estudio son estimar las características del perfil celular cuantitativo de eosinófilos y neutrófilos de la rinitis alérgica y no alérgica y la capacidad que tiene el estudio de citología nasal para diferenciar grados clínicos de rinitis establecidos por ARIA.

Población y métodos

Criterios de inclusión y exclusión

Se diseñó un estudio observacional, analítico y transversal. Fueron incluidos niños y adolescentes de ambos sexos, entre 5 y 18 años que asistieron

al Servicio de Alergia e Inmunología de la Clínica Universitaria Reina Fabiola, Universidad Católica de Córdoba, Argentina desde el 30 de diciembre de 2011 al 20 de abril de 2015 con diagnóstico de rinitis alérgica y no alérgica no infecciosa.

El diagnóstico de rinitis se estableció con la presencia de dos o más síntomas nasales (rinorrea, bloqueo, prurito y/o estornudos) ^(2,12). Se incluyeron en forma sucesiva pacientes con rinitis alérgica y no alérgica, de acuerdo a la presencia o no de sensibilidad a aeroalergenos determinada por pruebas cutáneas de hipersensibilidad inmediata ⁽¹²⁾.

Se excluyeron los pacientes con las siguientes condiciones:

- a. - Antecedente de asma o síntomas equivalentes por historia clínica.
- c. - Infección aguda o crónica de vías aéreas superiores.
- d.- Alteraciones anatómicas y poliposis nasal.
- e. - Antecedente de uso de inmunoterapia alérgico-específica (subcutánea o sublingual).
- f. - Medicación con esteroides tópicos o sistémicos, antihistamínicos, antagonistas de leucotrienos y alfa-adrenérgicos (tópicos o sistémicos) en las últimas cuatro semanas.
- g.- Fumadores activos y/o expuestos al humo de cigarrillo en el ámbito familiar.

Clasificación clínica de la rinitis por grados

Se estableció de acuerdo a los criterios de ARIA ⁽¹²⁾. Según la frecuencia, pacientes que presentaron síntomas menos de cuatro días a la semana por menos de cuatro semanas consecutivas fueron clasificados como rinitis intermitente; la existencia de síntomas por más de cuatro días a la semana por más de cuatro semanas consecutivas fue considerada como rinitis persistente. La gravedad de la rinitis se determinó según el compromiso de la calidad de vida (limitaciones en la escolaridad, actividades diarias, sueño y existencia de síntomas molestos), en leve (ningún ítem afectado) y moderada-grave (uno o más de los de los aspectos de calidad de vida comprometidos). De acuerdo a ello se clasificaron cuatro grupos clínicos de rinitis: intermitente leve, intermitente moderada-grave, persistente leve y persistente

moderada-grave.

Estudio de la citología nasal

La citología nasal fue realizada siempre por el mismo operador y se efectuó mediante la toma de muestras de la superficie mucosa de la parte media del cornete inferior utilizando un hisopo de algodón con extremo cóncavo ⁽⁷⁻⁹⁾. Con el material obtenido se realizó un extendido sobre portaobjeto, se fijó en alcohol, secado al aire y teñidos con hematoxilina-eosina. Con microscopio óptico se realizó la lectura de las muestras en veinte campos de 40x y el recuento diferencial de eosinófilos y neutrófilos fue expresado en valor absoluto y porcentajes, respectivamente, sobre el total de células observadas ⁽⁷⁻⁹⁾.

Pruebas cutáneas con alérgenos

Se utilizó la técnica de pruebas cutáneas de lectura inmediata por puntura (prick test) para un panel estandarizado con los siguientes alérgenos (laboratorio Alergo-Pharma® - Buenos Aires, Argentina): ácaros (*Dermatofagoides pteronyssinus*, *Dermatofagoides farinae*, *Blomia tropicalis*), hongos ambientales (*Alternaria sp*, *Aspergillus sp*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*), epitelio de perro, epitelio de gato y pólenes de árboles, gramíneas, compuestas y tala, solución salina fenolada (control negativo) e histamina 1 mg/ml (control positivo).

Se consideró positiva la presencia de una pápula de tres o más milímetros como promedio de la lectura de los diámetros ortogonales ⁽¹³⁾. La existencia de una o más pruebas cutáneas con alérgenos positivas con síntomas compatibles, se correspondió con rinitis alérgica; su ausencia se relacionó con el fenotipo no alérgico de rinitis.

En todos los casos la clasificación de la rinitis por grados clínicos, las pruebas cutáneas con alérgenos y la extracción de muestras y estudio de la citología nasal fueron realizadas por distintos operadores sin conocimiento de los resultados de las otras variables estudiadas. Para evitar variaciones circadianas todos los estudios complementarios fueron realizados entre las 09:00 y 12:00 AM.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se efectuó utilizando el pro-

grama estadístico InfoStat, versión 2013 ⁽¹⁴⁾.

Se realizó estadística descriptiva para obtener valores de media, desvío estándar, mediana y rango de cada variable según los diferentes grupos. Dado la distribución no normal de las variables cuantitativas, para comparar mediana, se utilizó prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney o prueba de Kruskal Wallis según corresponda. Para comparar variables cualitativas se utilizó prueba de chi cuadrado. Se consideró un valor de $p < 0,05$ para establecer significación estadística.

Aspectos éticos

El trabajo de investigación fue aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Investigación en Salud (CIEIS) de la Clínica Universitaria Reina Fabiola, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Córdoba. Se realizó cumpliendo con la normativa de la declaración de Helsinki y Buenas Prácticas Clínicas y de acuerdo con la ley de la Provincia de Córdoba (Argentina) sobre Investigación en seres humanos n° 9694/09.

Se solicitó el consentimiento informado para la realización de todas las intervenciones y para el

uso de los datos y se garantizó su confidencialidad según la ley nacional de protección de datos personales n° 25326/00. Los autores declaramos no tener conflictos de intereses.

Resultados

Se incluyeron un total de 231 niños y adolescentes de ambos sexos, entre 5 y 18 años de edad (122 varones; 52,8 %), cuyas características demográficas y antropométricas distribuidos según la presencia de síntomas de rinitis alérgica y no alérgica se observan en la Tabla 1.

El recuento celular de eosinófilos observados en el frotis nasal fue superior en pacientes que presentaron síntomas de RA respecto de aquéllos con RNA ($p=0,0012$). La cuantificación de neutrófilos fue similar en ambos grupos ($p=0.4011$) (Figura 1).

Por otro lado, cuando se compararon los grupos de acuerdo a la clasificación establecida por ARIA no se observaron diferencias significativas de eosinófilos y neutrófilos según el grado clínico de RA ($p= 0.7342$ y $p=0.0797$ respectivamente) y RNA ($p=0.1010$ y $p= 0.1422$ respectivamente)

Tabla 1: Características antropométricas y demográficas de los niños y adolescentes con rinitis alérgica y no alérgica.

Variable	Total (n=231)	Rinitis alérgica (n=160)	Rinitis no alérgica (n=71)	p-valor
Edad (años)	10.79 ± 3.14 (5-18.75)	11.17 ± 3.07 (5-18.75)	9.93 ± 3.16 (5.08-17.25)	0.0048
Peso (kg)	40.34 ± 14.92 (17.00-92.00)	41.61 ± 15.21 (17.30-92.00)	37.37 ± 13.90 (17.00-73.00)	0.0347
Talla (m)	1.45 ± 0.17 (1.11-1.89)	1.47 ± 0.17 (1.11-1.89)	1.41 ± 0.17 (1.12-1.80)	0.0087
Índice de masa corporal	18.47 ± 3.26 (11.24-30.36)	18.57 ± 3.27 (12.64-30.36)	18.24 ± 3.26 (11.24-27.48)	0.4101
Edad inicio síntomas (años)	6.17 ± 3.67 (0.5-16)	6.17 ± 3.58 (0.5 – 15)	6.16 ± 3.89 (0.5 – 16)	0.7833
Porcentaje de vida afectada	43.92 ± 26.84 (1.03-96.67)	44.99 ± 26.57 (2.76-96.00)	41.52 ± 27.49 (1.03-96.67)	0.3600
Masculinos (n-%)	122 -52.81%	91- 56.87%	31 - 43.66%	0.0634

n: número de pacientes; kg: Kilogramos; m: metros; n: número; % porcentaje. Los datos se expresan como media + desvío estándar. Entre paréntesis, rango

(Tablas 2 y 3.)

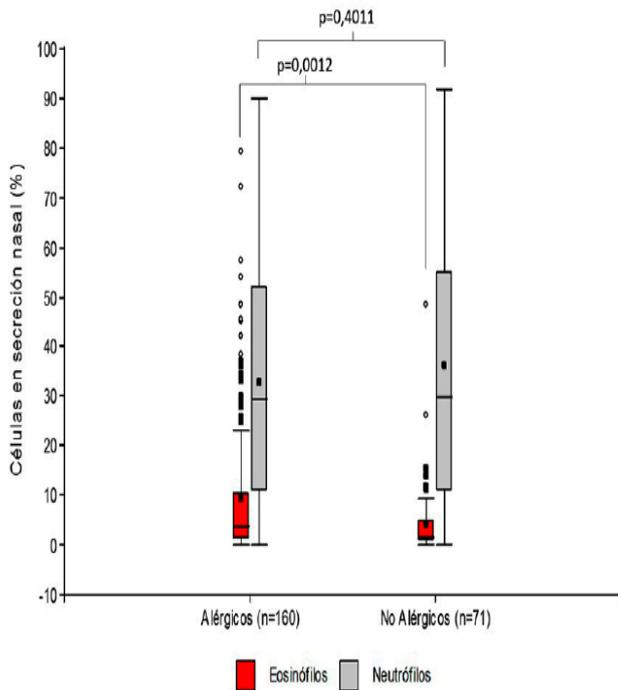


Figura 1: Porcentaje de eosinófilos y neutrófilos en secreción nasal en pacientes con rinitis alérgica y no alérgica.

Discusión

La citología nasal es utilizada para el estudio de patrones inflamatorios que intervienen en la patogenia de la rinitis con fines diagnósticos complementarios.

Desde el año 1927, en que Eyermann⁽¹⁵⁾ identificó inicialmente eosinófilos en la secreción nasal de pacientes con fiebre de heno, diversos métodos han sido propuestos, como el análisis de secreciones nasales, de la superficie de la mucosa por raspado y de material extraído por biopsia^(7-9,16,17). La evaluación del frotis celular obtenido por raspado de la mucosa nasal es un método simple, reproducible, no invasivo e inocuo para el paciente que se puede realizar en forma ambulatoria en el consultorio alergológico en cualquier edad, pero tiene la desventaja de evaluar sólo en forma parcial la inflamación nasal⁽¹⁷⁾. La biopsia de cornetes, si bien abarca toda la mucosa, no es un método práctico para un uso habitual por sus dificultades técnicas y la molestia que implica para el paciente⁽¹⁷⁾.

Por cuestiones éticas y prácticas en nuestra investigación elegimos el estudio de la citología mediante análisis del frotis de la mucosa nasal

Tabla 2: Citología nasal en niños y adolescentes con rinitis alérgica según la clasificación de ARIA*.

	Total	Rinitis intermitente leve	Rinitis intermitente moderada/grave	Rinitis persistente leve	Rinitis persistente moderada/grave	p-valor
	n=160	n=20	n=18	n=31	n=91	
Eosinófilos (va)	20.93 (0-501.96)	21.93 (0-377.94)	20.35 (1.97-214.99)	15.41 (0-298.47)	22.95 (0-501.96)	0.6440
Eosinófilos (%)	3.94 (0-79.37)	2.86 (0-41.90)	3.28 (0.40-38.46)	2.30 (0-44.95)	4.28 (0-79.37)	0.7342
Neutrófilos (va)	169.74 (0-746.54)	223.84 (0-689.83)	163.56 (9.23-491.81)	200.90 (0-672.49)	140.99 (0-746.54)	0.3675
Neutrófilos (%)	29.27 (0-90.01)	34.86 (0-82)	27.84 (0.90-70.67)	48.40 (0-90.01)	24.50 (0-77.50)	0.0797

n: número de pacientes; va :valor absoluto de células; %: porcentaje de células. Los datos se expresan como mediana. Entre paréntesis, rango.*Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma.

Tabla 3: Citología nasal en niños y adolescentes con rinitis no alérgica según la clasificación de ARIA*.

	Total	Rinitis intermi- tente leve	Rinitis intermi- tente moderada/ grave	Rinitis persistente leve	Rinitis persistente moderada-grave	p-valor
Eosinófilos (va)	n=71 8.97 (0-143.87)	n=15 5.56 (0-74.97)	n=2 0.48 (0-0.96)	n=19 10.97 (0-135.98)	n=35 9.96 (0-143.87)	0.0991
Eosinófilos (%)	1.55 (0-48.44)	0.92 (0-11.66)	0.12 (0-0.23)	2.60 (0-25.90)	1.74 (0-48.44)	0.1010
Neutrófilos (va)	182.97 (0-1054.88)	126.90 (4.96-340.96)	18.98 (0-37.96)	214.95 (22.14-1054.88)	229.82 (0-740.77)	0.1946
Neutrófilos (%)	29.70 (0-92)	29.62 (1.08-54.38)	4.53 (0-9.06)	33.00 (4.50-81.60)	42.50 (0-92)	0.1422

n: número de pacientes; va :valor absoluto de células; %: porcentaje de células. Los datos se expresan como mediana. Entre paréntesis, rango.*Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma.

para establecer patrones celulares de eosinófilos y neutrófilos en niños y adolescentes con rinitis alérgica y no alérgica. Se observó un aumento relativo de los eosinófilos en RA, pero no hubo diferencias cuantitativas en el perfil celular de neutrófilos entre pacientes alérgicos y no alérgicos. La existencia de un predominio de eosinófilos en el fenotipo alérgico de rinitis es consecuencia de la migración de esta célula hacia el sitio inflamatorio de la mucosa nasal por un mecanismo de hipersensibilidad mediada por IgE, activación del perfil celular Th2 y citoatracción por interleucina 5⁽⁵⁾. Por lo tanto en pacientes con pruebas cutáneas positivas y síntomas compatibles, la presencia de eosinofilia nasal sugiere fuertemente el diagnóstico de RA aunque su ausencia no la descarta⁽¹⁸⁾. En casos de RNA, por otro lado, si bien en algunos pacientes puede observarse eosinofilia nasal^(4,9,16), ésta no representa un marcador específico para su diagnóstico. Esto puede deberse a que en el marco de la rinitis crónica la categoría de RNA representa una entidad ambigua y heterogénea desde el punto de vista fisiopatogénico, clínico, diagnóstico y terapéutico. El calificativo “no alérgica” implica ausencia de sensibilización específica

a alergenos pero puede incluir formas de rinitis eosinofílicas a menudo sub-diagnosticadas como la rinitis no alérgica eosinofílica (NARES), por sensibilidad a la aspirina y la rinitis alérgica local^(8,9,19). Dada la frecuente imposibilidad diagnóstica para diferenciar fenotipos no alérgicos de rinitis, en el presente estudio incluimos como “no alérgica” a todas las variantes de rinitis en las que no se demostró sensibilidad específica a algún alérgeno por pruebas cutáneas mediante prick test. El estudio de la inflamación endobronquial en asma especialmente por lavado bronquioalveolar, en la mayoría de los casos, diferencia los fenotipos no alérgicos por el predominio de neutrófilos^(20,21). En rinitis parece no ocurrir lo mismo. En nuestro estudio, el recuento neutrofílico no permitió diferenciar pacientes con rinitis alérgica de la no alérgica. La caracterización citológica de la RA demuestra predominio de eosinófilos pero también de neutrófilos; asimismo la bibliografía indica que algunas formas mixtas de RNA expresan eosinofilia y neutrofilia en la citología nasal⁽⁹⁾ lo que podría explicar la ausencia de diferencia en el conteo de neutrófilos en RA y RNA de nuestros pacientes.

La clasificación por grados clínicos de rinitis establecidos por ARIA es útil para introducir el tratamiento acorde al grado de afectación de la calidad de vida y la frecuencia de síntomas ⁽¹²⁾. A pesar de que la guía ARIA fue desarrollada para rinitis alérgica, el Global Allergy and Asthma European Network sugiere clasificar la RNA con criterios similares a los de la RA ^(4,22). Por lo tanto clasificamos en nuestro estudio de igual manera ambas formas de rinitis en términos de duración y gravedad de síntomas y lo correlacionamos con los hallazgos de la citología nasal.

Estudios previos sugieren que la citología nasal podría contribuir a diferenciar grados clínicos de rinitis alérgica. Gelardi y col. ⁽¹¹⁾ demostraron, en adultos con rinitis alérgica y discriminando gravedad de frecuencia de síntomas, que la forma moderada-grave (MG) se asoció con un número significativamente mayor de eosinófilos y mastocitos en secreción nasal, pero no observaron diferencias en el recuento celular según frecuencia de síntomas, comparando RA intermitente y persistente. Utilizando biopsias de mucosa nasal, Liu y col. ⁽¹⁰⁾ observaron correlación entre el grado de inflamación y la frecuencia de síntomas para igual gravedad en afectación de calidad de vida. Eosinófilos y mastocitos fueron significativamente más numerosos en RA persistente que intermitente.

Según nuestros resultados la gravedad y frecuencia de la rinitis en niños y adolescentes no tuvo influencia en los patrones celulares de eosinófilos y neutrófilos expresados en el frotis nasal, por lo que no se demostró relación entre la dimensión clínica de la rinitis y el grado de inflamación de la mucosa nasal. Ello se puede deber a que la clasificación de la rinitis de acuerdo a los criterios de ARIA está sujeta a cierto grado de subjetividad y puede dar lugar a interpretaciones variables según el operador ⁽²³⁾. Del mismo modo el método de raspado superficial de la mucosa nasal utilizado por nosotros y destacado por su simplicidad, puede no ser suficiente para valorar la inflamación de la mucosa nasal en su integridad ⁽⁹⁾. No obstante, para evitar variaciones subjetivas en la interpretación de los resultados, en nuestro estudio, la magnitud clínica de la rinitis y la citología nasal fue evaluada por un único operador, distinto

para cada variable.

La determinación de patrones celulares en rinitis puede tener connotaciones terapéuticas: el predominio de eosinófilos en citología nasal permite predecir una mejor respuesta a los esteroides intranasales que las formas no alérgicas no eosinofílicas ⁽²⁴⁻²⁶⁾. El examen citológico nasal podría adquirir mayor relevancia si consideramos la existencia de rinitis alérgica local, también eosinofílica, ⁽²⁷⁾ pero sin sensibilización demostrable por pruebas cutáneas y en la que es necesario confirmar el diagnóstico con pruebas de provocación con alérgenos, no siempre disponible en la práctica clínica diaria. Por lo tanto la existencia de eosinofilia en el frotis nasal podría influir en la indicación de esteroides intranasales por su potencial capacidad de reducir el infiltrado eosinofílico responsable de su eficacia clínica ^(24,26).

En conclusión, el recuento de eosinófilos en la citología nasal permite diferenciar el fenotipo alérgico clásico de rinitis con pruebas cutáneas positivas de las rinitis con pruebas cutáneas negativas, pero al igual que el recuento de neutrófilos, no contribuye a distinguir grados clínicos de rinitis alérgica y no alérgica establecidos por ARIA.

Referencias

1. Roberts G, Xatzipsalti M, Borrego LM, Custovic A, Halken S, Hellings PW, Papadopoulos NG, Rotiroli G, Scadding G, Timmermans F, Valovista E. *Paediatrics rhinitis: position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology*. *Allergy* 2013; 68: 1102–1116
2. Gentile D, Bartholow A, Valovirta E, Scadding G, Skoner D. *Current and future directions in pediatric allergic rhinitis*. *J Allergy Clin Immunol: In Practice* 2013;1:214-26.
3. Meltzer EO. *Allergic rhinitis burden of illness, quality of life, comorbidities, and control*. *Immunol Allergy Clin N Am* 2016; 36:235–248.
4. Bousquet J, Fokkens W, Burney P, Durham SR, Bachert C, Akdis CA et al. *Important research questions in allergy and related diseases: nonallergic rhinitis: a GA2LEN paper*. *Allergy* 2008; 63: 842-853.
5. Broide DH. *Allergic rhinitis: pathophysiology*. *Allergy Asthma Proc* 2010;31:370-4
6. Chawes BLK, Klaus Bonnelykke MD, Eskin Kreiner-Moller PhD, Bisgaard H. *Children with allergic and nonallergic rhinitis have a similar risk of asthma*. *J*

Allergy Clin Immunol 2010; 126: 567-73

7. Mygind N, Franland A.W. Leucocitos eosinófilos. *Alergia nasal* 1982;11: 171-182.
8. Meltzer EO, Jalowayski AA. Nasal cytology in clinical practice. *Am J Rhinol* 1988; 2:47-54.
9. Gelardi M, Iannuzzi L, Quaranta N, Landi M, Passalacqua G. Nasal cytology: practical aspects and clinical relevance. *Clin Exp Allergy* 2016; 46: 785–792.
10. Liu F, Zhang J, Liu Y, Zhang N, Holtappels G, Lin P, Liu S, Bachert C. Inflammatory profiles in nasal mucosa of patients with persistent vs intermittent allergic rhinitis. *Allergy* 2010; 65: 1149–1157.
11. Gelardi M, Incorvai C, Passalacqua G, et al. The classification of allergic rhinitis and its cytological correlate. *Allergy* 2011; 66: 1624-1625.
12. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 Update (in collaboration with the World Health Organization, GA2LEN and AllerGen). *Allergy* 2008; 63:S8-S160.
13. Cox L, Williams B, Sicherer S, Oppenheimer J, Sher L, Hamilton R, Golden D. Pearls and pitfalls of allergy diagnostic testing: report from the American College of Allergy, Asthma and Immunology/American Academy of Allergy, Asthma and Immunology specific IgE Test Task Force. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 101:580-592.
14. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
15. Eyermann CH. Nasal manifestations of allergy. *Ann Otol* 1927; 36:808-15.
16. Chawes B L K, Kreiner-Møller E, Bisgaard H. Objective assessments of allergic and nonallergic rhinitis in young children. *Allergy* 2009; 64: 1547-1553.
17. Scadding G, Hellings P, Alobid I, Bachert C, Fokkens W, van Wijk RG et al. Diagnostic tools in rhinology EAACI position paper. *Clinical and Translational Allergy* 2011; 1:2-39.
18. Canakciogl S, Tahamiler R, Saritzali G, Ali-moglu Y, Isildak H, Guvenc MG et al. Evaluation of nasal cytology in subjects with chronic rhinitis: a 7-year study. *Am J Otol Head Neck Med Surg* 2009; 30: 312-317
19. Wang Y, Jiang MJ, Zhang Y, Cheng Y, Pang XJ, Xie YQ, et al. Classification of non-allergic rhinitis based on inflammatory characteristics. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8:17523-17529.
20. Haldar P, Pavord D. Noneosinophilic asthma: A distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119:1043-52.
21. Desai M, Oppenheimer J. Elucidating asthma phenotypes and endotypes: progress towards personalized medicine. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2016; 116: 394-401.
22. Bachert C, van Cauwenberge P, Olbrecht J, van Schoor J. Prevalence, classification and perception of allergic and nonallergic rhinitis in Belgium. *Allergy* 2006; 61: 693-698.
23. Demoly P, Urbinelli R, Allaert FA, Bousquet PJ. Should we modify the allergic rhinitis and its impact on asthma dichotomic classification of severity? *Allergy* 2010; 65:1483-1498.
24. Meltzer EO, Orgel A, Rogenes PR, Field EA. Nasal cytology in patients with allergic rinitis: effects of intranasal fluticasone propionate. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94:708-715.
25. Chawes BLK. Upper and lower airway pathology in young child-ren with allergic- and non-allergic rhinitis. *Dan Med Bull* 2011; 58:1-23.
26. Kirtsreesakul V, Hararuk K, Leelapong J, and Ruttanaphol S. Clinical efficacy of nasal steroids on non-allergic rhinitis and the associated inflammatory cell phenotypes. *Am J Rhinol Allergy* 2015; 29:343-349.
27. Papadopoulos NG, Bernstein JA, Demoly P, Dykewicz M, Fokkens W, Hellings PW, Peters AT, Rondon C, Togias A, Cox LS. Phenotypes and endotypes of rhinitis and their impact on management: a PRAC-TALL report. *Allergy* 2015; 70: 474-494.