

Concordancia entre dos dispositivos de medida de óxido nítrico exhalado

O. Sardón Prado^a, A. Aldasoro Ruiz^a, J. Korta Murua^a, J. Mintegui Aramburu^a, J.I. Emparanza Knorr^b y E.G. Pérez-Yarza^a

^aUnidad de Neumología Infantil. Servicio de Pediatría. ^bUnidad de Epidemiología Clínica e Investigación. Hospital de Donostia. San Sebastián. España.

Antecedentes

La fracción exhalada de óxido nítrico (FE_{NO}) se comporta como un marcador no invasivo de inflamación eosinófila de la vía aérea, que resulta de utilidad en el diagnóstico de asma, en el control de la enfermedad y en la monitorización del tratamiento.

Objetivo

Analizar la concordancia entre dos dispositivos de medida de la FE_{NO}, un analizador de quimioluminiscencia estacionario (NIOX[®], Aerocrine, Suecia) y un analizador electroquímico portátil (NIOX-MINO[®], Aerocrine, Suecia).

Material y métodos

Las medidas se han realizado mediante registro *on-line* de respiración única (*single breath on-line measurement*). Se han obtenido tres medidas consecutivas con el analizador NIOX[®], máximo de seis intentos, y se ha calculado la media. Asimismo, y de forma sucesiva en cada uno de los niños, se realizó otra medición con el analizador NIOX-MINO[®]. Se han analizado las variables cuantitativas edad, talla, peso, valor NIOX-MINO[®], valor medio NIOX[®] y flujo de óxido nítrico (NO) (nl/min), y las variables cualitativas sexo, diagnóstico y tratamiento. En el análisis estadístico se han estudiado la regresión de las medias de FE_{NO} (Bland-Altman) y el grado de acuerdo entre ambos dispositivos (estadístico kappa de Cohen).

Resultados

Se han estudiado 30 niños, edad media 11,3 ± 3,09 años, distribuidos en 14 varones (46,67%) y 16 mujeres (53,33%). El 100% de los casos realizaron con éxito las mediciones con ambos dispositivos. La regresión de las medias obtenidas fue significativa, tanto en valores absolutos como relativos. Asimismo, hubo acuerdo entre los resultados con ambos dispositivos (kappa de Cohen, 0,78).

Conclusiones

Los dos sistemas estudiados de determinación de la FE_{NO} no son equivalentes. Existe entre ambas técnicas un acuer-

do sustancial en las determinaciones obtenidas. La FE_{NO} determinada mediante técnica electroquímica con sistemas portátiles es válida en niños mayores de 5 años.

Palabras clave:

Fracción exhalada de óxido nítrico. Método electroquímico. Fotoluminiscencia. Medidores portátiles. Concordancia NIOX[®]. NIOX-MINO[®].

AGREEMENT BETWEEN TWO DEVICES FOR MEASURING EXHALED NITRIC OXIDE

Background

Measurement of fractional exhaled nitric oxide (FE_{NO}) is a non-invasive marker of eosinophilic airway inflammation that can be useful in asthma diagnosis and control, as well as in treatment monitoring.

Objective

We studied the correlation between two techniques for measuring FE_{NO}: the chemiluminescence-based analyzer (NIOX[®], Aerocrine, Sweden) and a new portable electrochemical sensor-based analyzer (NIOX-MINO[®], Aerocrine).

Material and methods

FE_{NO} was measured by the single breath on-line method. In all children, three consecutive measurements were obtained with NIOX[®], with a maximum of six attempts, and the arithmetic mean was calculated. Next, using NIOX-MINO[®], a single measurement was made successively in each of the children. The variables analyzed were sex, age, height, weight, diagnosis, treatment, NIOX-MINO[®] value, mean of three values obtained with NIOX[®] and the NO elimination rate (nl/min). For the statistical analysis, the Bland-Altman plot was used to compare the means and the differences between measurements of FE_{NO} from NIOX[®] and NIOX-MINO[®]. The agreement between the two analyzers was estimated by Cohen's Kappa statistic.

Correspondencia: Dr. O. Sardón Prado.
Unidad de Neumología Infantil. Hospital de Donostia.
Pº de Begiristain, 107-115. 20014 San Sebastián. España.
Correo electrónico: osardon@euskalnet.net

Recibido en agosto de 2007.

Aceptado para su publicación en octubre de 2007.

Results

Thirty children were included, 14 (46.67%) boys and 16 (53.33%) girls. The mean age was 11.3 ± 3.09 years. All of the children successfully performed the measurements with two analyzers. The relationship between the means and the differences in the values obtained with NIOX-MINO[®] and NIOX[®] were statistically significant ($p < 0.005$). In addition, Cohen's Kappa statistic (0.78) suggested a high degree of agreement between the results obtained with the two devices.

Conclusions

The two analyzers, NIOX-MINO[®] and NIOX[®], were not equivalent. There was good agreement between the FE_{NO} values measured with the two devices. Measurement of FE_{NO} with the portable electrochemical sensor-based analyzer (NIOX-MINO[®]) is valid and feasible in children older than 5 years.

Key words:

Exhaled nitric oxide. Electrochemical techniques. Chemiluminescence. Portable analyzers. Agreement between NIOX[®]. NIOX-MINO[®].

INTRODUCCIÓN

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de las vías aéreas que cursa con obstrucción al flujo e hiperrespuesta bronquial. En los últimos años se ha estudiado la posibilidad de desarrollar distintos métodos de medida que permitan evaluar y cuantificar la magnitud de dicha inflamación. En este contexto se han investigado distintos marcadores de actividad inflamatoria, entre ellos la determinación de la fracción exhalada de óxido nítrico (FE_{NO}).

El óxido nítrico (NO) es un radical libre endógeno simple y difusible, que genera c-GMP y actúa en el sistema respiratorio como broncodilatador débil, vasodilatador potente y neurotransmisor del sistema no colinérgico y no adrenérgico. Se sintetiza a partir de la L-arginina y de tres isoformas de la enzima óxido nítrico-sintetasa (NOS), dos de ellas constitucionales (neuronal, nNOS o NOS₁, y endotelial, eNOS o NOS₃) y una inducible (iNOS o NOS₂). En situaciones patológicas de estrés oxidativo, el NO inhibe los linfocitos Th1 y la producción de interferón gamma (IFN- γ), regulando a la baja la apoptosis de los eosinófilos y actuando como modulador en enfermedades como el asma, amplificando la respuesta inflamatoria.

El NO es un buen marcador reproducible y no invasivo de inflamación eosinófila de la vía aérea, que resulta útil en el diagnóstico de asma, en el control de la enfermedad y en la monitorización del tratamiento^{1,2}.

El objetivo de este estudio ha sido analizar la concordancia entre dos dispositivos de medida de NO exhalado, un analizador de quimioluminiscencia estacionario (NIOX[®], Aerocrine, Suecia), considerado como analiza-

dor ideal, y un analizador portátil (NIOX-MINO[®], Aerocrine, Suecia), basado en análisis electroquímico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio observacional y transversal de una muestra obtenida al azar de niños y niñas entre 6 y 19 años, en consultas externas de neumología infantil, en los que se ha determinado la FE_{NO} desde diciembre de 2006 hasta febrero de 2007. Las medidas se han realizado mediante registro *on-line* de respiración única (*single breath on-line measurement*). Se han obtenido tres medidas consecutivas mediante un analizador de quimioluminiscencia estacionario (NIOX[®]), con un máximo de seis intentos, y se ha calculado la media (valor medio NIOX[®]). Asimismo, y de forma sucesiva en cada uno de los niños estudiados, se realizó una única medición con un analizador portátil (NIOX-MINO[®]), basado en análisis electroquímico.

Todas las medidas se realizaron según las recomendaciones de la European Respiratory Society (ERS) y la American Thoracic Society (ATS) publicadas en el año 2005³: inhalación de aire libre de NO, a través de la boquilla de ambos aparatos (< 5 partes por billón [ppb]), hasta capacidad pulmonar total, posición sentado, sin pinza nasal, flujo espiratorio 50 ml/s, tiempo de exhalación de 10 s, meseta alcanzada durante la exhalación de un tiempo mínimo de 3 s, presión durante la exhalación entre 5 y 20 cm de H₂O y variabilidad de tres medidas inferior o igual al 10% o variabilidad de dos medidas inferiores o iguales al 5%.

Se han analizado las variables cuantitativas edad, talla, peso, valor NIOX-MINO[®], valor medio NIOX[®] y flujo de NO (nl/min). Las variables cualitativas analizadas han sido sexo, diagnóstico y tratamiento. Según distintas series publicadas en la literatura médica, se han considerado puntos de corte de normalidad 20 ppb para el sistema NIOX[®] y 30 ppb para el sistema NIOX-MINO[®]^{4,5}.

En el análisis estadístico se ha estudiado la regresión de las medias de FE_{NO} obtenidas con ambos dispositivos de medida respecto a la diferencia de las mismas, mediante el método Bland-Altman, tanto en valores absolutos como relativos^{6,7}. Asimismo, se ha analizado el grado de acuerdo entre los dos dispositivos de medida, en relación con los valores de normalidad para ambos, mediante el estadístico kappa de Cohen.

RESULTADOS

Se han evaluado 30 niños con edad media de $11,3 \pm 3,09$ años, 14 varones (46,67%) y 16 mujeres (53,33%). De los sujetos incluidos, 2 (6,67%) no tenían patología pulmonar, 2 (6,67%) tenían tos recurrente y 26 (86,67%) estaban diagnosticados de asma, distribuidos en 14 (53,84%) asma episódica ocasional, 4 (15,38%) con asma episódica frecuente y 8 (30,76%) con asma persistente. De los pacientes estudiados, 15 (50%) estaban bajo tratamiento con glucocorticoides inhalados (GCI) en mo-

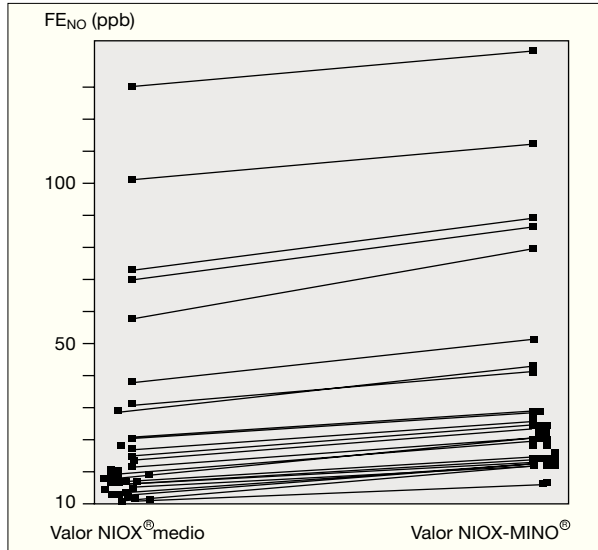


Figura 1. Comparación de medidas de óxido nítrico exhalado obtenidas mediante dispositivos, sistema NIOX® y sistema NIOX-MINO®. Cada uno de los valores representados a la izquierda de la gráfica refleja el valor medio de las tres determinaciones sucesivas de FE_{NO} obtenidas con el sistema NIOX® (valor NIOX® medio) en los 30 pacientes incluidos en el estudio. Los valores representados a la derecha de la gráfica reflejan el valor de una única determinación realizada en cada uno de los pacientes incluidos mediante sistema NIOX-MINO®. FE_{NO} (ppb): fracción exhalada de óxido nítrico (partes por billón).

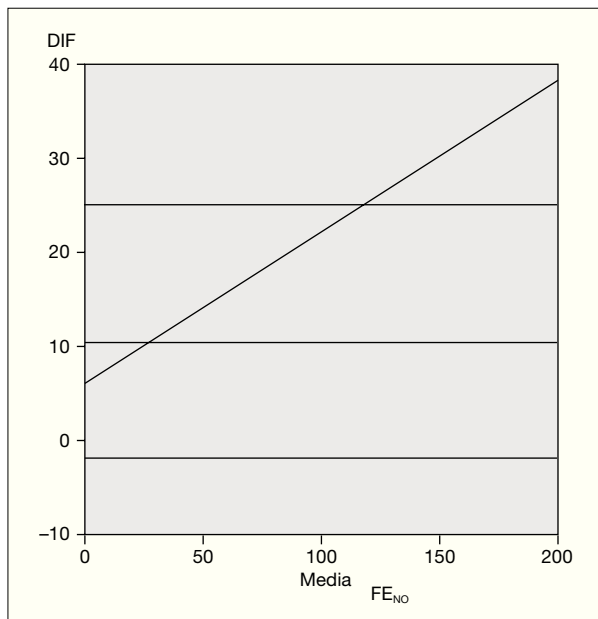


Figura 2. Análisis estadístico (Bland-Altman). Media FE_{NO}: media de la fracción exhalada de óxido nítrico; DIF: diferencia de las medias de FE_{NO} obtenidas con NIOX® y con NIOX-MINO®, en valores absolutos.

noterapia, 9 (30%) bajo terapia combinada con GCI asociados a β_2 -agonistas de larga duración y 6 casos (20%) sin tratamiento.

El 100% de los casos realizaron las mediciones de FE_{NO} con ambos dispositivos de medida (fig. 1). La regresión de las medias obtenidas por ambos dispositivos de medida de FE_{NO} respecto a la diferencia de las mismas fue significativa, tanto en valores absolutos como relativos ($p < 0,005$) (fig. 2). Asimismo, hubo acuerdo entre los valores obtenidos con ambos dispositivos de medida, kappa de Cohen 0,78 (fig. 3).

DISCUSIÓN

Durante las dos últimas décadas se describen valores elevados de FE_{NO} en niños asmáticos y en otras patologías inflamatorias pulmonares. Se considera la FE_{NO} una variable válida y no invasiva para la monitorización y el tratamiento de la inflamación de la vía aérea y con una alta capacidad diferenciadora para diagnosticar asma⁸. Warke et al⁹ encontraron que la FE_{NO} sería un marcador no invasivo válido y reproducible para medir inflamación eosinofílica en las vías aéreas^{10,11}. La combinación entre un incremento de la FE_{NO} superior o igual a 33 ppb y un volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) inferior al 80% del teórico refleja una sensibilidad de 94% y una especificidad de 93% para el diagnóstico de asma^{2,12}. Asimismo, la FE_{NO} se ha utilizado satisfactoriamente para monitorizar el tratamiento antiinflamatorio con GCI en niños asmáticos, debido a su gran sensibilidad y rapidez para detectar cambios en respuesta a las dosis de corticoides inhalados o deterioro de la función pulmonar¹³. El incremento de FE_{NO} superior al 60% del basal tenía un valor predictivo positivo entre el 80 y el 90% para predecir la pérdida de control de la enfermedad¹⁴⁻¹⁶.

El NO en el aparato respiratorio sigue una distribución bicompartimental: difusión transversal del epitelio respiratorio a la luz bronquial y difusión vertical, desde la pequeña vía aérea a la vía respiratoria superior. Existen diferentes formas de medir el NO en los bronquios: el registro *on-line* de respiración única (*single breath on-line measurement* [SBOL]) es la técnica de elección en el caso de que el niño sea capaz de colaborar, realizando la medida durante una parte de la exhalación (fracción exhalada de óxido nítrico, FE_{NO}), evitando la contaminación del NO nasal (nNO) al crear una presión positiva que mantenga el paladar blando ocluyendo el espacio nasal. Con esta metodología, en España han llevado a cabo estudios Cobos Barroso et al¹⁷ y Balboa de Paz et al¹⁸, utilizando flujos espiratorios de 250 ml/s en ambos casos.

Los fundamentos teóricos, la metodología y las características técnicas fueron publicados en la década anterior por la ERS¹⁹ y la ATS²⁰. La principal diferencia entre ambas entidades era la tasa de flujo espirado a la que se realizaba la medición. Posteriormente, Baraldi et al²¹, en co-

		NIOX®		
		Valores normales de FE _{NO}	Valores de FE _{NO} superiores a la normalidad	
NIOX-MINO®	Valores normales de FE _{NO}	18 (60%)	2 (6,67%)	20
	Valores de FE _{NO} superiores a la normalidad	1 (3,33%)	9 (30%)	10
		19	11	30

Kappa de Cohen: 0,9
Kappa de Cohen corregida por azar: 0,78

FE_{NO}: media de la fracción exhalada de óxido nítrico.

Figura 3. Análisis estadístico mediante el índice kappa de Cohen.

laboración con la ERS y la ATS, publicaron recomendaciones para la medición del NO exhalado en niños y, recientemente, se han publicado los criterios unificados ATS y ERS para la medición estandarizada del NO en niños y adultos.

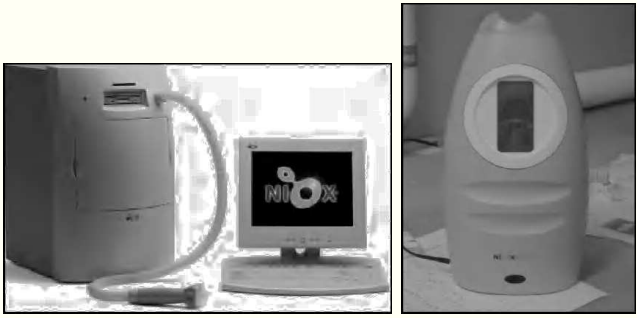
En el año 2004, Silkoff et al²² propusieron un sistema de monitorización de la FE_{NO} utilizando el método SBOL (NIOX®, Aerocrine, Suecia) con el objetivo de facilitar la estandarización de los procedimientos de medida recomendados por las distintas guías de ATS/ERS y con un desarrollo técnico y metodológico aprobado en el año 2003 por la Food and Drug Administration (FDA), para su aplicación clínica en niños asmáticos con inflamación alérgica (fenotipo inflamatorio eosinofílico). Las medidas de la FE_{NO} realizadas con NIOX® están basadas en un analizador de quimioluminiscencia estacionario y se considera la técnica de elección y el patrón de referencia para la medición *on-line* de la FE_{NO} en niños colaboradores. La determinación se realiza a través de un detector lumínico en el que el NO, al reaccionar con el ozono, produce dióxido de nitrógeno y emite una radiación lumínica proporcional a la concentración de NO en aire espirado cuando se estabiliza. El flujo espiratorio se estandariza a 50 ml/s. Se trata de una técnica validada, reproducible (variabilidad en tres mediciones consecutivas: 1,6 ppb; intervalo de confianza [IC] del 95%: 1,49-1,64) y precisa ($\pm 2,5$ ppb para valores < 50 ppb, y $\pm 5\%$ para valores ≥ 50 ppb) en niños con edad igual o superior a 5 y 6 años^{4,23}. El analizador NIOX® ofrece, además, la posibilidad de representar gráficamente la meseta correspondiente a la FE_{NO}. Sin embargo, se trata de una técnica algo compleja (se requieren tres medidas, calibración necesaria cada 14 días) de uso hospitalario, con personal cualificado y entrenado para su correcta realización (fig. 4). El acceso a dichos analizadores de quimiolumi-

niscencia es limitado, motivo por el que se ha propuesto un analizador portátil de FE_{NO}, NIOX-MINO®, validado en niños y basado en analizadores electroquímicos, que cumple las recomendaciones de la ATS.

El sistema portátil analiza la FE_{NO} a través de una reacción electroquímica con control de flujo, mediante sensor lumínico y acústico. El tiempo de exhalación requerido oscila entre 6 y 10 s y la presión durante la exhalación, entre 10 y 20 cm de H₂O, la cual permite establecer un flujo espiratorio entre 45 y 55 ml/s, controlado por un regulador de flujo-presión, guiado por imágenes interactivas de luz y sonido que incentivan al niño a alcanzar el flujo óptimo deseado.

En este sentido, McGill et al²⁴ estudiaron 55 niños entre 4 y 15 años y encontraron que los niños con edad igual o superior a 5 años eran capaces de realizar la medición de la FE_{NO} utilizando el sistema portátil (NIOX-MINO®). Observaron también que el coeficiente de variación intrasujeto del analizador NIOX-MINO® era inferior al sistema NIOX®; por lo tanto, no existían diferencias entre la primera medida realizada y las posteriores, y sería suficiente una única medición, tal como recomiendan los fabricantes. Sin embargo, las distintas guías existentes (ATS/ERS) sugieren la obtención de al menos dos mediciones sucesivas. Se trata, pues, de una técnica sencilla, que no requiere calibración y que simplificaría enormemente el tratamiento en la práctica clínica diaria, tanto en atención especializada como en atención primaria. El tiempo total requerido para la medición es inferior a 2 min. Sin embargo, es una técnica algo menos precisa y de representación digital (fig. 4).

El objetivo de nuestro estudio ha sido analizar la concordancia entre dos dispositivos de medida para NO exhalado, sistema NIOX® y sistema portátil NIOX-MINO®. Según los datos obtenidos en nuestra muestra, observamos que



	NIOX®	NIOX-MINO®
Dimensiones (cm)	50 30 40	24 13 10
Peso del analizador (kg)	40	0,8
Presión de la medida	En medidas < 50 ppb: ± 2,5 En medidas > 50 ppb: ± 5%	En medidas < 50 ppb: ± 5 En medidas > 50 ppb: ± 10%
Rango de medida (ppb)	0-200	5-300
Valor inferior de medida (ppb)	1,5	5

Figura 4. Características de los dispositivos de medida de FE_{NO} : sistema NIOX® y sistema portátil NIOX-MINO®. ppb: partes por billón.

existen diferencias significativas ($p < 0,005$) en la regresión de las medias obtenidas por ambos dispositivos de medida respecto a la diferencia de las mismas. Por tanto, los dos sistemas estudiados no son equivalentes, por lo que no son sustituibles (fig. 2). De acuerdo con otros investigadores, los valores obtenidos con el sistema NIOX-MINO® han sido significativamente superiores a los obtenidos con el sistema NIOX®, tanto más cuanto mayor ha sido el valor de FE_{NO} obtenido (fig. 1). Sin embargo, las diferencias no han sido significativas a la hora de clasificar los valores de FE_{NO} obtenidos como normales o anormales, al igual que lo referido previamente por otros autores²⁵⁻²⁷.

Fortuna et al²⁸ estudiaron 28 adultos sanos, no fumadores, y compararon los resultados obtenidos con un medidor de quimioluminiscencia tradicional (N-6008® SIR, Madrid) y con el medidor portátil NIOX-MINO®, siguiendo en ambos casos las recomendaciones internacionales. Encontraron una correlación directa y estadísticamente significativa en la determinación de FE_{NO} entre ambos equipos ($r = 0,92$; $p = 0,001$). Sin embargo, al igual que lo publicado por otros autores, los valores obtenidos con el sistema portátil NIOX-MINO® fueron significativamente superiores a los obtenidos con el N-6008®, y propusieron un factor de corrección entre los valores de los dos equipos ($\times 1,5 + 10$) para cada valor de FE_{NO} obtenido con el equipo N-6008®. Asimismo, describieron valores de referencia de normalidad concordantes con la literatura mé-

dica publicada; media geométrica de la FE_{NO} para sistema N-6008® de 7 ± 5 ppb (rango, 1-19 ppb) y 20 ± 7 ppb (rango, 8-41) para NIOX-MINO®.

Recientemente, Pijnenburg et al²⁹ han estudiado en 21 niños asmáticos con edad media de 14,5 años la fiabilidad y la variabilidad de dos medidas diarias domiciliarias de la FE_{NO} (mañana y noche) obtenidas con el analizador portátil NIOX-MINO® durante 2 semanas. Las medidas fueron realizadas con éxito y sin soporte profesional en el 93% de los niños estudiados. Encontraron, a diferencia de lo comunicado por otros autores³⁰, una variabilidad diurna de la FE_{NO} , con valores matutinos significativamente superiores (14%) a los vespertinos (IC 95%: 4-25%; $p = 0,01$).

En nuestra muestra existe entre ambas técnicas un acuerdo sustancial en los valores de FE_{NO} obtenidos en relación con los valores de normalidad publicados, por lo que ambas técnicas resultan válidas para el tratamiento de los niños en la práctica clínica diaria.

A pesar de que los resultados obtenidos han sido concordantes con los comunicados en la literatura médica, debemos señalar que la muestra de los pacientes incluidos en el estudio no es demasiado extensa. Por tanto, si se analizaran los datos con un tamaño muestral mayor, la nube de puntos que representa las diferencias entre ambos dispositivos de medida podría aplanarse, al disminuir la relevancia de los valores extremos (fig. 2). Asimismo, hemos observado que mientras que los niños mayores de

9 años eran capaces de realizar ambas técnicas con garantías, los menores de esa edad obtenían mejores resultados con el sistema NIOX®.

En conclusión, la FE_{NO}, determinada mediante técnica electroquímica con sistemas portátiles, es válida en niños mayores de 5 años y ofrece la posibilidad de cuantificar de forma simple y no invasiva la inflamación eosinofílica de la vía aérea³¹⁻³³, que resulta de gran utilidad como complemento a la función pulmonar en el diagnóstico de asma y en el control del tratamiento en niños.

BIBLIOGRAFÍA

- Ricciardolo FL, Sterk PJ, Gaston B, Folkerts G. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol Rev*. 2004;84:731-65.
- Smith AD, Cowan JO, Filsell S, McLachlan C, Monti-Sheehan G, Jackson P, et al. Diagnosing asthma: Comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169:473-8.
- ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:912-30.
- Buchvald F, Baraldi E, Carraro S, Gaston B, De Jongste J, Pijnenburg MW, et al. Measurements of exhaled nitric oxide in healthy subjects age 4 to 17 years. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 115:1130-6.
- Malmberg LP, Peatays T, Haahtela T, Laatikainen T, Jousilathi P, Vartiainen E, et al. Exhaled nitric oxide in healthy nonatopic school-age children: Determinants and height-adjusted reference values. *Pediatr Pulmonol*. 2006;41:635-42.
- Altman DG, Bland JM. Measurement in medicine: The analysis of method comparison studies. *The statistician*. 1983;307-17.
- Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986;1:307-10.
- Cobos Barroso N, Pérez-Yarza EG, Sardón Prado O, Reverté Bover C, Gartner S, Korta Murua J. Óxido nítrico exhalado en niños: un indicador no invasivo de la inflamación de las vías aéreas. *Arch Bronconeumol*. 2008;44(1):41-51.
- Warke TJ, Fitch PS, Brown V, Taylor R, Lyons JD, Ennis M, et al. Exhaled nitric oxide correlates with airway eosinophils in childhood asthma. *Thorax*. 2002;57:383-7.
- Pijnenburg MW, Bakker EM, Hop WC, De Jongste JC. Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma: A randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 172:831-6.
- Malmberg LP, Turpeinen H, Ryttilä P, Sarna S, Haahtela T. Determinants of increased exhaled nitric oxide in patients with suspected asthma. *Allergy*. 2005;60:464-8.
- Malmberg LP, Pelkonen AS, Haahtela T, Turpeinen M. Exhaled nitric oxide rather than lung function distinguishes preschool children with probable asthma. *Thorax*. 2003;58:494-9.
- Jones SL, Kittelson J, Cowan JO, Flannery EM, Hancox RJ, McLachlan CR, et al. The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:738-43.
- Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Herbison GP, Taylor DR. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med*. 2005;352:2163-73.
- Smith AD, Cowan JO, Brassett JP, Filsell S, McLachlan C, Monti-Sheehan G, et al. Exhaled nitric oxide: A predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:453-9.
- Szeffler SJ, Phillips BR, Martínez FD, Chinchilli VM, Lemanske RF, Strunk RC. Characterization of within-subject responses to fluticasone and montelukast in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:233-42.
- Cobos Barroso N, Reverté Bover C, Gartner S, Liñán Cortés S, Quintó Domech L. Óxido nítrico exhalado y nasal en niños normales y asmáticos. *An Esp Pediatr*. 1998;49:241-7.
- Balboa de Paz F, Rueda Esteban S, Aleo Luján E, Rodríguez Tauriz G. Óxido nítrico exhalado en niños sanos y asmáticos. *An Esp Pediatr*. 2002;57:12-7.
- Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: Recommendations. The European Respiratory Society Task Force. *Eur Respir J*. 1997;10:1683-93.
- American Thoracic Society. Recommendations for standardized procedures for the on-line and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, 1999. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:2104-17.
- Baraldi E, Jongste JC, Gaston B, Alving K, Barnes PJ, Bisgaard H, et al. Measurement of exhaled nitric oxide in children. *Eur Respir J*. 2002;20:223-7.
- Silkoff PE, Carlson M, Bourke T, Katial R, Ogren E, Szeffler SJ. The Aerocrine exhaled nitric oxide monitoring system NIOX is cleared by the US Food and Drug Administration for monitoring therapy in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114: 1241-56.
- Napier E, Turner SW. Methodological issues related to exhaled nitric oxide measurement in children aged four to six years. *Pediatr Pulmonol*. 2005;40:97-104.
- McGill C, Malik G, Turner SW. Validation of a hand-held exhaled nitric oxide analyzer for use in children. *Pediatr Pulmonol*. 2006;41:1053-7.
- Vahlkvist S, Sinding M, Skamstrup K, Bisgaard H. Daily home measurements of exhaled nitric oxide in asthmatic children during natural birch pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;17:1272-6.
- Menzies D, Nair A, Lipworth BJ. Portable exhaled nitric oxide measurements. Comparison with the "Gold Standard" technique. *Chest*. 2007;131:410-4.
- Alving K, Janson C, Nordvall L. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respir Res*. 2006;7:67.
- Fortuna AM, Feixas T, Casan P. Determinación de óxido nítrico en aire espirado (FE_{NO}) mediante un equipo portátil (NIOX-MINO® Aerocrine) en población sana. *Arch Bronconeumol*. 2007;43:176-9.
- Pijnenburg MW, Floor SE, Hop WC, De Jongste JC. Daily ambulatory exhaled nitric oxide measurements in asthma. *Pediatr Allergy Immunol*. 2006;17:189-93.
- Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C, Meah S, Barnes PJ. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J*. 2003;21:433-38.
- Cobos Barroso N. Óxido nítrico exhalado: aplicaciones en la pediatría. *Arch Bronconeumol*. 1998;34:371-3.
- Steenenbergh PA, Janssen NA, de Meer G, Fischer PH, Nierkens S, Van Loveren H, et al. Relationship between exhaled NO, respiratory symptoms, lung function, bronchial hyperresponsiveness, and blood eosinophilia in school children. *Thorax*. 2003;58:242-5.
- Casan P. Novedades en el diagnóstico del asma. *Rev Patol Respir*. 2006;9:108-9.