

# TESTE DE PROVOCAÇÃO BRÔNQUICA COM METACOLINA EM CRIANÇAS ASMÁTICAS

## Standardização do método com um dosímetro

Neuparth N.<sup>\*</sup>, Gamboa T.<sup>\*\*</sup>, Pereira, C.<sup>\*\*</sup>, Rosado Pinto J.E.<sup>\*\*\*</sup>, Bensabat Rendas A.<sup>\*\*\*\*</sup>

### RESUMO

O objectivo deste trabalho foi standardizar os testes de provocação brônquica inespecífica com um dosímetro. Para esse efeito procedeu-se à calibração do mesmo, medindo-se em condições controladas a pressão de nebulização (19 PSI), o débito aéreo do nebulizador (8 L/min), o débito médio de produção de aerossóis de quatro nebulizadores ( $28 \pm 6 \mu\text{L}/5$  nebulizações) e as dimensões das partículas geradas pelos mesmos (DAMM 4.5  $\mu\text{m}$ , DPG  $\pm 1.7$ ,  $P_5$  56.7%). Uma vez que a bibliografia consultada não é clara quanto à manobra de inalação dos aerossóis bronco-constritores, procedeu-se à comparação dos resultados obtidos em 13 crianças asmáticas submetidas a dois testes realizados de acordo com o protocolo de Chal et al e que apenas diferiam na manobra de inalação de metacolina. No primeiro teste as crianças inalaram a metacolina lentamente (4 segundos da CRF até à CPT) seguindo-se um período de apneia de 3 segundos; no segundo teste as inalações foram rápidas (2 segundos) e sem apneia. Concluiu-se que a dose provocadora de 20% de redução no VEMS ( $PD_{20}$  VEMS) e de 25% de redução no DEM<sub>25-75</sub> ( $PD_{25}$  DEM<sub>25-75</sub>) são significativamente inferiores quando a metacolina é inalada lentamente e com apneia ( $p < 0.01$ ), o que foi interpretado como estando dependente duma maior dose depositada quando comparada com a dose depositada após inalação rápida e sem apneia. Por outro lado, quando o teste foi realizado com manobras de inalação rápida e sem apneia, o  $PD_{25}$  DEM<sub>25-75</sub> foi significativamente inferior ao  $PD_{20}$  VEMS, o que sugere a possibilidade daquela poder ser um índice mais sensível de hiper-reatividade brônquica. Demonstrou-se ainda que

o solvente utilizado e as manobras de expiração forçada não desencadearam modificações do calibre brônquico e finalmente validou-se uma fórmula matemática para cálculo das doses provocadoras (PD) de bronco-constricção significativa.

### MAUTER

The aim of this study was to standardize the methacholine bronchial challenge test with a dosimeter. The calibration of the dosimeter was performed by measuring the pressure (19 PSI) and the air flow (8 L/min) of the compressor, the mean output of the nebulizers ( $28 \pm 6 \mu\text{L}/5$  puffs) and the size of the aerosol particles (AMMD 4.5  $\mu\text{m}$ , GSD  $\pm 1.7$ ,  $P_5$  56.7%). Moreover a comparison was made between the results of two tests (Chal protocol) in 13 asthmatic children, performed with two different methods of inhalation of methacholine aerosol: in the first one the inhalations were slow (4 seconds from FRC to TLC) followed by an apnea of 3 seconds; in the second the inhalations were fast (2 seconds from FRC to TLC) without breath-hold. The  $PD_{20}$  FEV<sub>1</sub> and the  $PD_{25}$  FEF<sub>25-75</sub> were significantly lower ( $p < 0.01$ ) when methacholine was inhaled slowly and with breath-hold; this was interpreted as being related to a greater deposition of the aerosol following the slow inhalation manoeuvre. Our results have shown that  $PD_{25}$  FEF<sub>25-75</sub> was significantly lower than  $PD_{20}$  FEV<sub>1</sub> ( $p < 0.01$ ) when the inhalation was fast and without breath-hold, thus suggesting the first one as a more sensitive index of bronchial hyperactivity. We have shown that the saline used for dilution of methacholine and the forced expiratory manoeuvres did not modify the airway calibre. Finally, we have validated an empirical formula to calculate the provocative dose (PD) in comparison with the values from the dose-response curve.

### ABREVIATURAS

HRB - Hiper-reatividade brônquica  
DAMM - Diâmetro Aerodinâmico Média da Massa (distribuição das dimensões das partículas dum aerossol pela sua massa).

\* Assistente de Fleiopatologia, Interno Complementar Voluntária do Imuno-Alergologia  
\*\* Monitora de Fleiopatologia  
\*\*\* Assistente Hospitalar de Imuno-Alergologia  
\*\*\*\* Professor Catedrático de Fleiopatologia.  
Serviço de Fleiopatologia da Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa (Director: Prof. Dr. A. Bensabat Rendas).  
Unidade de Imuno-Alergologia do Serviço 6 do Hospital de D. Estêvão (Director: Dr. Samuel B. Ruah)

QUADRO 1

Características da população de crianças asmáticas sujeitas a estudo. Valores da Capacidade Vital Forçada (CVF), Volume Expiratório Máximo no 1.º Segundo (VEMS), Débito Expiratório Médio entre 25% e 75% da CVF (DEM<sub>25-75</sub>) e Débito Expiratório Máximo Instantâneo (DEMI) expressos em percentagem do valor previsto. Índice de Tiffeneau expresso em valor percentual. Medicação: V.E. = vacina específica parentérica; V.O. = vacina oral; Z = ketotifeno; CGDS = cromoglicato dissódico; BC = beclometasona

CASO	IDADE	SEXO	CVF	VEMS	VEMS/CVF	DEM <sub>25-75</sub>	DEMI	MEDICAÇÃO
1	11	M	89	86	89	95	95	V.E.
2	9	M	96	96	90	95	80	V.O., Z
3	8	F	102	86	80	69	74	V.O.
4	9	F	91	73	75	41	87	....
5	7	M	94	77	76	51	80	V.E., Z
6	6	M	105	87	81	78	84	V.P., Z
7	10	M	88	92	87	91	90	CGDS, BC
8	7	M	102	76	66	36	58	V.E., Z
9	8	M	134	107	72	69	70	V.E., Z
10	11	F	109	95	82	89	74	Z
11	8	M	90	74	74	62	71	Z
12	12	M	87	80	81	83	74	....
13	10	M	100	89	82	78	79	....

realizadas através de uma técnica standard (33) sendo para este efeito utilizado um analisador laser de partículas MALVERN INSTRUMENTS, Malvern, Reino Unido; este estudo foi efectuado no Departamento de Medicina Torácica do Hospital Royal Free (Londres, Reino Unido).

Mediu-se o débito dos nebulizadores pelo método das pesagens (15) durante a realização de cinco testes de provocação brônquica.

Foram também medidos o débito aéreo e a pressão do compressor através de um debitómetro gasoso (capacidade até 15 L/min) e de um manómetro aneróide (capacidade até 60 PSI) respectivamente.

Todas estas medições foram feitas em condições iguais às de um teste de provocação brônquica pelo método descrito neste trabalho. Os valores obtidos foram comparados com os fornecidos pelo fabricante.

### Preparação da metacolina

O cloridrato de metacolina tem fortes propriedades higroscópicas, necessitando por isso de dessicação se, como foi o caso, a sua preparação for baseada no peso.

Após a dessicação os cristais de metacolina foram misturados com o solvente que contém 0.5% NaCl + 0.275% NaHCO<sub>3</sub> + 0.4% Fenol a um pH de 7 (1,10). A esterilidade da solução foi assegurada por filtração através de um filtro 0.2 microporo em meio estéril. Foi preparada uma solução stock a 50 mg/ml que tem uma vida média de 120 dias (23). As respectivas diluições (ver abaixo) foram preparadas a partir da solução stock (Quadro 2) no próprio dia do teste. A preparação da metacolina foi feita na Farmácia do Hospital de D. Estefânia.

### Medição da resposta

A resposta brônquica foi medida através de manobras de expiração forçada. Para esse efeito utilizou-se um espirómetro Vitalograph Compact, VITALOGRAPH MEDICAL INSTRUMENTATION,

Buckingham, Reino Unido, que permite a visualização imediata das curvas de débito-volume (antes e depois de uma provocação brônquica) tanto gráfica como numérica. Este espirómetro está concebido de acordo com os standards internacionais (Sociedade Europeia de Fisiologia Clínica Respiratória e American Thoracic Society) no que diz respeito a condições mínimas de detecção do débito aéreo e duração do teste. A calibração do espirómetro efectuou-se por meio duma seringa calibrada de 1 litro até um total de 5 litros não se detectando um erro superior a 3%.

Os resultados dos testes foram expressos em termos da dose provocadora de uma redução de 20% no Volume Expiratório Máximo no 1.º Segundo de uma expiração forçada, PD<sub>20</sub> VEMS e da dose provocadora de uma redução de 25% no Débito Expiratório Médio entre 25% e 75% da Capacidade Vital Forçada, PD<sub>25</sub> DEM<sub>25-75</sub> (3,27).

A dose provocadora foi calculada através de dois métodos. O primeiro foi o da interpolação linear entre os dois últimos pontos duma curva de dose-resposta (15,38) (figura 1) e o segundo foi a utilização da seguinte fórmula empírica (46) - equação 1.

$$\text{[equação 1]} \quad PD_y = D \times y / \% \text{ alteração}$$

em que PD é a dose provocadora de uma redução de y% que varia com o parâmetro funcional que estiver a ser avaliado, de acordo com tabelas publicadas (38) e D é a dose em micrograma que provocou uma redução percentual (em denominador) superior a y, no respectivo parâmetro funcional.

### Teste de provocação — Procedimento

O protocolo que utilizámos foi o recomendado por Chai e colaboradores (8). O teste começa pela medição da função respiratória basal através de 3 manobras de expiração forçada reproduzíveis (índice de variação menor ou igual a 5%) das quais é seleccionada a melhor (5,37). Nesta curva mede-

-se a Capacidade Vital Forçada (CVF), o Volume Expiratório Máximo no 1.º Segundo (VEMS), o Índice de Tiffeneau (VEMS/CVF) e o Débito Expiratório Médio entre 25% e 75% da CVF (DEM<sub>25-75</sub>).

Logo a seguir é inalado o solvente através de 5 nebulizações de 0,6 seg. de duração, segundo as manobras standardizadas descritas no Desenho Experimental (ver abaixo). Três minutos após a inalação do solvente volta-se a medir a função respiratória, sempre que possível, através de uma única manobra de expiração forçada (41). Imediatamente a seguir é inalada a 1.ª dose de metacolina através da manobra standardizada já referida. A função respiratória é novamente avaliada passados 3 minutos. Este procedimento repete-se até haver uma redução de 20% no VEMS em relação ao valor basal (equação 2), ou até à inalação da dose mais alta de metacolina (Quadro 2).

QUADRO 2

U.l. = Unidades Inalatórias em que cada Unidade equivale à inalação de 1 mg de metacolina por mililitro de solvente

CONCENTRAÇÃO	DOSE CUMULATIVA	
	U.l.	mg
0,075	0,375	2,1
0,15	1,25	6,3
0,31	2,68	15,0
0,62	5,78	32,4
1,25	12,0	67,4
2,5	24,5	137,4
5,0	49,5	277,4
10,0	99,5	557,4
25,0	225,0	1257,4

[equação 2]  $\text{Alt da VEMS (\%)} = (\text{VEMS basal} - \text{VEMS medido}) / \text{VEMS basal} \times 100$

#### Desenho Experimental

As crianças foram sujeitas a dois testes de provocação brônquica com metacolina de acordo com o protocolo descrito, em dois dias, à mesma hora, separados por uma semana. A medicação foi interrompida de acordo com o estabelecido anteriormente.

No primeiro dia, cada dose de metacolina era inalada lentamente (em 4 segundos) desde a Capacidade Residual Funcional (CRF) até à Capacidade Pulmolar Total (CPT), seguindo-se um período de três segundos de apneia em inalação máxima.

No segundo dia, o protocolo era em tudo idêntico ao primeiro excepto no que diz respeito às inalações que eram também da CRF à CPT, mas mais rápidas (2 segundos) e sem apneia.

#### Métodos Estatísticos

De acordo com os objectivos inicialmente definidos foi calculada a média do VEMS basal, após

a inalação do solvente e da primeira dose de metacolina para cada dia de teste nos 13 casos. As médias após inalação do solvente e da primeira dose de metacolina foram comparadas entre si e com o valor basal através do teste «t» de Student.

A média do P<sub>20</sub> VEMS e do PD<sub>20</sub> DEM<sub>25-75</sub> para cada teste foram comparadas entre si. As médias do P<sub>20</sub> VEMS e do PD<sub>25</sub> DEM<sub>25-75</sub> no primeiro teste (inalação lenta com apneia) foram também comparadas com as respectivas doses provocadoras no segundo teste. Estas comparações foram feitas através do teste de Wilcoxon para dados emparelhados, uma vez que a distribuição dos PDs é não paramétrica.

A comparação das médias das doses provocadoras calculadas pelos dois métodos já referidos, foi feita pelo teste «b» de Student para dados emparelhados.

## RESULTADOS

### Calibração

O débito aéreo medido no compressor do dosímetro foi de 8 litro/min.

A pressão de nebulização medida com o manómetro aneróide foi comparada com a do manómetro incorporado no dosímetro e as leituras foram sobreponíveis e iguais a 18 PSI.

O débito médio de 4 dos 6 nebulizadores medido durante 5 testes de provocação brônquica foi de  $28 \pm 8 \mu\text{L/s}$  nebulizações (neb. n.º 1 =  $26 \pm 4$ ; neb. n.º 2 =  $33 \pm 4$ ; neb. n.º 3 =  $25 \pm 4$ ; neb. n.º 4 =  $28 \pm 6$ ). O valor do débito médio de nebulização ( $28 \pm 6 \mu\text{L/s}$  nebulizações) foi usado para calcular a dose cumulativa de metacolina em micrograma (multiplicando o valor do débito de nebulização pela concentração de metacolina em mg/ml).

As dimensões das partículas geradas pelos 6 nebulizadores estão representadas no Quadro 3.

QUADRO 3

Dimensões das partículas de aerossóis geradas por 6 nebulizadores Metar sendo DAMM (em  $\mu\text{m}$ ) o diâmetro aerodinâmico médio da massa, DPG o desvio-padrão geométrico e P<sub>5</sub> a percentagem da massa total de aerossol com um DAMM < 5  $\mu\text{m}$ .

	Neb. n.º 1	Neb. n.º 2	Neb. n.º 3	Neb. n.º 4	Neb. n.º 5	Neb. n.º 6	Valor médio
DAMM	4,27	4,36	4,42	4,18	4,44	6,06	4,45
DPG	1,70	1,70	1,71	1,73	1,53	1,81	1,68
P <sub>5</sub>	59,0	58,2	56,5	60,7	66,6	49,3	56,7

### Efeitos do solvente

No Quadro 4 estão representados os valores médios e os desvios-padrão do VEMS nos dois testes em condições basais, após a inalação do solvente e da primeira dose de metacolina. Não foram encontradas diferenças significativas entre o valor do VEMS basal e após a inalação do solvente, nem foram detectadas tendências para regressão aos valores basais após a inalação da primeira dose de metacolina.

#### QUADRO 4

Valores médios e desvios-padrão do VEMS nos dois testes em condições basais e após a inalação do solvente e da primeira dose de metacolina

n = 13	VEMS (LITRO BTPS)					
	COM APNEIA			SEM APNEIA		
	BASAL	SOLVENTE	1. <sup>a</sup> DIL.	BASAL	SOLVENTE	1. <sup>a</sup> DIL.
Média	1,5	1,47	1,43	1,61	1,58	1,58
D.P.	0,61	0,6	0,6	0,38	0,35	0,38

#### Comparação dos dois métodos de inalação

A média dos PD<sub>20</sub> VEMS e dos PD<sub>25</sub> DEM<sub>25-75</sub> no teste em que a inalação foi lenta e com apneia foi significativamente inferior à média dos mesmos parâmetros no teste em que a inalação foi rápida e sem apneia ( $p < 0,01$ ). Na figura 2 estão representados graficamente os PD<sub>20</sub> VEMS e os PD<sub>25</sub> DEM<sub>25-75</sub> individuais e as respectivas médias e erros-padrão nas duas condições experimentais. Verifica-se que a média do PD<sub>25</sub> DEM<sub>25-75</sub> foi significativamente inferior à média do PD<sub>20</sub> VEMS ( $p < 0,01$ ) no teste em que a inalação foi lenta e com apneia e que não foram encontradas diferenças significativas entre as duas doses provocadoras no teste em que a inalação foi rápida e sem apneia.

#### Comparação dos dois métodos de cálculo da dose provocadora

As doses provocadoras calculadas através da fórmula [1] resultaram em valores equivalentes aos calculados através da interpolação linear dos dois últimos pontos das curvas de dose-resposta em escala semi-logarítmica (figura 1). No quadro 5 estão representados os valores das médias e dos erros-padrão dos PD<sub>20</sub> VEMS e dos PD<sub>25</sub> DEM<sub>25-75</sub> calculados pelos dois métodos não tendo sido encontradas diferenças significativas entre as médias.

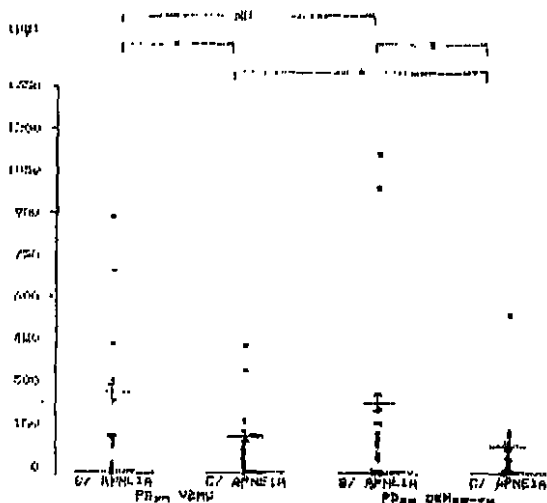


Fig. 1 — Representação de uma curva de dose-resposta. Em ordenadas representa-se o parâmetro funcional que

foi estudada (e.g. VEMS) em valor absoluto. Em abcissa e em escala logarítmica representa-se a dose em micrograma. Os dois primeiros pontos da curva são os que equivalem ao valor basal e ao valor após a inalação do solvente. A tracejada está representado o limiar de resposta (no caso do VEMS = 20% de redução em relação ao valor basal). A vertical da intersecção entre a união dos dois últimos pontos da curva (antes e depois do limiar) e a recta do limiar, intercepta o eixo das abcissas num ponto cujo inverso do logaritmo é o valor do PD.

#### QUADRO 5

Médias e erros-padrão do PD<sub>20</sub> VEMS e do PD<sub>25</sub> DEM<sub>25-75</sub> calculados por dois métodos: interpolação linear dos dois últimos pontos em curvas de dose-resposta em escala semi-logarítmica e através de uma fórmula empírica

	PD <sub>20</sub> VEMS		PD <sub>25</sub> DEM <sub>25-75</sub>	
	Média	E.P.	Média	E.P.
Curva de dose-resposta	188,2	15,2	116,8	14,8
Fórmula	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Fórmula	207,3	16,1	116,5	14,8

#### DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com este trabalho permitem-nos utilizar o equipamento para produção de aerossóis com um conhecimento tão profundo quanto possível das suas características físicas, o que possibilita um controle rigoroso das condições em que são feitas as provocações brônquicas. Assim demonstrámos que as dimensões das partículas geradas nos nebulizadores são adequadas para este efeito e determinámos o valor do débito dos nebulizadores o que era indispensável para calcular a quantidade de aerossol inalada e para comparar resultados obtidos em diferentes laboratórios com diferentes protocolos (14,39). O presente trabalho permite-nos concluir que o solvente e as manobras de expiração forçada não constituem factores de erro a considerar na interpretação dos resultados. Ficou demonstrada a importância da standardização das manobras de inalação de metacolina quando se utiliza este tipo de protocolo. Finalmente validou-se uma forma rápida e alternativa às curvas de dose-resposta para cálculo das doses provocadoras (PD). Verifica-se assim que foram atingidos todos os objectivos inicialmente propostos, ou seja, calibrar equipamento para produção de aerossóis, estabelecer um procedimento standard de provocação brônquica, esclarecer algumas aspectos metodológicos e validar um método alternativo para cálculo da dose provocadora (PD).

## Escolha do protocolo

O principal problema que tem que ser enfrentado por quem pretende estudar a hiper-reatividade brônquica é escolher um protocolo e consequentemente o respectivo equipamento para o pôr em prática. Os critérios que presidiram a essa escolha dependeram da análise dos protocolos publicados e já amplamente testados. Estes critérios consta o método de administração dum fármaco broncoconstritor por via inalatória, a escolha desse fármaco e a selecção dum método de medição da resposta broncomotora. Os protocolos mais amplamente divulgados são o de Cockcroft et al (12) que utiliza um nebulizador contínuo para inalações em volume corrente e o de Chal et al (8) que utiliza um nebulizador intermitente (dosímetro) que só produz aerossóis durante uma fracção de segundo durante a inalação. O grupo canadiano publicou em 1985 uma análise crítica sobre os testes de provocação brônquica inespecífica (21) em que defende a apresentação dos resultados em micrograma ou micromole e portanto em termos da dose provocadora (PD) e não da concentração provocadora (PC). Só aquela é que toma em linha de conta o débito do nebulizador, tornando possível uma aproximação da dose depositada, que é, em última análise, a que determina a resposta broncomotora. A apresentação dos resultados com esta forma só é possível com a medição da dose «inalada», o que por sua vez só se consegue através dum método dosimétrico; com o nebulizador contínuo a quantidade de aerossol produzida durante a expiração não é mensurável. Por outro lado, Madsen e colaboradores (24) demonstraram recentemente que para se ter uma boa reprodutibilidade com o protocolo dos volumes correntes é necessário manter fixa a ventilação, o que constitui um argumento contra a sua utilização preferencial. Foram estes os principais motivos que nos levaram a escolher o dosímetro e o protocolo de Chal e col. (8) para estudar a hiper-reatividade brônquica no nosso laboratório.

## Calibração

As características físicas dos nebulizadores determinam a quantidade de fármaco que se vai depositar nas vias aéreas e portanto que determinam a resposta brônquica. Destas, as mais importantes são as dimensões das partículas e o débito do nebulizador (39).

Uma vez que as informações dos fabricantes de nebulizadores não são habitualmente adequadas, ou porque são omitidas em relação ao débito dos nebulizadores, ou porque são incorrectas em relação às dimensões das partículas, considerámos fundamental a calibração do sistema de nebulização. As partículas de aerossol devem ter um DAMM compreendido entre 3 e 5 µm, porque partículas superiores a 8 µm se depositam quase totalmente na orofaringe e as inferiores a 1 µm depositam-se nos alvéolos provocando efeitos secundários indesejados (45). De acordo com os resultados obtidos, o dosímetro MEFAR é adequado para os testes de provocação brônquica.

## Manobras de inalação

Com este estudo e analisando os resultados da comparação dos dois métodos de inalação efectuada no mesmo grupo de 13 crianças asmáticas demonstrámos que uma inalação lenta da metacolina seguida dum período de apneia, provoca uma resposta broncoconstritora mais precoce do que uma inalação rápida sem apneia, provavelmente porque a dose depositada é maior na primeira condição. Isto está de acordo com os estudos de deposição de aerossóis marcados com radio-isótopos realizados por diversos autores (32,35,38,39) e por nós próprios num voluntário normal (30).

Na perspectiva actual, a HRB medida desta forma, representa uma avaliação instantânea dum factor que se pode modificar ao longo do tempo dum forma imprevisível, pelo que o controle das suas aplicações seriadas deve ser rigoroso.

Para standardizar os testes de provocação brônquica é necessário estudar a sua reprodutibilidade o que deverá ser feito no futuro, nomeadamente, antes de os aplicar a monitorização das modificações da hiper-reatividade brônquica.

## Escolha do fármaco broncoconstritor

Um outro aspecto que é preciso analisar para standardizar estes testes é o da escolha do fármaco broncoconstritor. Nós escolhemos a metacolina porque 1) se trata do fármaco de utilização mais vulgarizada para este efeito; porque 2) é mais seguro que a histamina e que o carbacol, ou seja, é aquele que em doses altas provoca menos efeitos secundários, o que tem sido útil para estudar a broncoconstricção máxima em indivíduos normais; porque 3) se trata dum agente colinérgico puro, ao contrário da histamina que actua através de mecanismos mais complexos; e porque 4) é o que está melhor estudado no que diz respeito às suas propriedades (1,23).

## Medição da resposta

Os resultados da análise do efeito do solvente são demonstrativos da ausência de efeitos broncoconstritores. Está demonstrado o efeito broncoconstritor da água destilada (43), razão por que não deve ser usada como solvente em testes de provocação brônquica. Através da mesma análise, estudou-se o efeito da manobra de expiração forçada no tónus brônquico. Nos indivíduos estudados não se observaram efeitos broncomotores, ao contrário do que foi publicado por outros autores (18,29), embora a maior parte desses resultados tenham sido obtidos com medições da resistência das vias aéreas e da condutância específica pela pleiomografia corporal. Optámos pela medição da resposta através de manobras de expiração forçada devido à simplicidade da sua execução, aos menores custos do equipamento e à maior reprodutibilidade das medições do VEMS quando comparadas com as da condutância específica (15).

## Cálculo da dose provocadora

O facto de não terem sido encontradas diferenças significativas entre os dois métodos de cálculo das doses provocadoras (PD) permitiu-nos resolver um problema prático importante. A construção das curvas de dose-resposta é morosa, implicando atrasos na entrega dos relatórios e não é necessária para dar uma resposta que seja útil aos clínicos. Na maior parte dos casos basta saber qual é a sensibilidade à metacolina em termos do limiar, o que é possível através da utilização da fórmula validada, com uma simples calculadora e em poucos minutos. No entanto, a curva de dose-resposta tem uma utilidade comprovada na investigação da patogenia da asma. Só através dela é possível comparar a sensibilidade (limiar de resposta) da reactividade (inclinação da curva) aos estímulos inespecíficos de acordo com o conceito introduzido por Draheek e colaboradores (34). Alguns autores defendem que a inclinação da curva de dose-resposta tem uma capacidade discriminativa entre normais e asmáticos melhor que a dose provocadora (11).

## Interpretação

O débito dos nebulizadores foi medido durante a realização das testes, pelo que as doses cumulativas inaladas só foram calculadas no fim deste estudo. Isto justifica que a maior dose cumulativa inalada tenha sido francamente inferior à recomendada como a melhor dose discriminativa entre a população normal e a dos hiper-reativos, que é de 3000-4000  $\mu\text{g}$  (25,46). Este aspecto deve ser revisto em trabalhos futuros, quer aumentando a concentração máxima de metacolina administrada, quer aumentando o débito dos nebulizadores. Apesar disto todas as crianças testadas foram sensíveis à metacolina, com excepção duma, em que só foi possível calcular o PD<sub>25</sub> DEM<sub>25-75</sub> após a administração da dose máxima de metacolina (Fig. 2). Por outro lado, num trabalho anterior do nosso grupo (31) em que foram testados 8 adultos normais com o mesmo protocolo, nenhum reagiu a estas doses de metacolina.

No presente estudo não foi possível correlacionar a sensibilidade à metacolina com parâmetros clínicos porque não foi desenhado com esse objectivo. Em diversos trabalhos publicados por outros autores foi possível estabelecer uma correlação positiva entre a sensibilidade a um agente farmacológico inespecífico e sintomas de asma (12), variações do Débito Expiratório Máximo Instantâneo (Peak Flow) (40) e as necessidades mínimas de tratamento para controlar a asma (22,40).

(1) (DTPG)

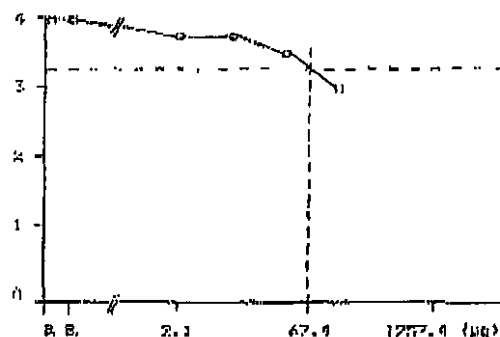


Fig. 2 — Valores individuais dos PD<sub>20</sub> VEMS e PD<sub>25</sub> DEM<sub>25-75</sub> (o) em micrograma. Representação do valor médio  $\pm$  erro-padrão da média (- - -). (\*)  $p < 0.01$ , (NS) não significativo.

Finalmente, e dada a especificidade do estudo da HRB na criança, decidimos comparar os nossos resultados com os de outros grupos, publicados nos últimos dois anos. No Quadro 6 estão sintetizados os artigos consultados. Por aí se pode ver que três dos trabalhos têm objectivos metodológicos e dois, epidemiológicos. Um problema que não está ainda resolvido é o da sensibilidade dos testes neste grupo etário (44). Clifford e colaboradores (9), por seu lado preocuparam-se em correlacionar a sensibilidade à metacolina com parâmetros clínicos e em avaliar o seu valor prognóstico. O grupo de Galvez e colaboradores (17,18) publicou dois trabalhos em que avalia, num o valor clínico do teste e noutro estabelece a ausência de relação entre a sensibilidade à metacolina e a obstrução das vias aéreas antes do teste. Dos trabalhos consultados, o mais importante, pela dimensão da população estudada foi o de Sears et al (42) que comparou a prevalência da sensibilidade à metacolina com a prevalência da asma clínica. Neste trabalho conclui-se que os testes de provocação brônquica com metacolina não são suficientemente sensíveis nem específicos para constituírem um critério maior de diagnóstico da asma em estudos epidemiológicos.

Curiosamente todos os trabalhos que integram o Quadro 6 utilizaram um método dosimétrico como protocolo de provocação brônquica o que sugere que são adequados para estudar a HRB em crianças, o que está de acordo com a nossa experiência. Um aspecto metodológico que está longe de estar generalizado é o da uniformidade na expressão dos resultados.

## QUADRO 6

Trabalhos publicados em 88/87 sobre HRB em crianças

Referência	Objectivo do estudo	Nº doentes estudados	Idades	Protocolo provocação	Dose máxima
(44)	sensibilidade dos testes	70	4-16 anos	dosímetro Chai et al.	225 U.I.
(9)	epidemiologia	50	6-4 anos	Yán et al.	6.4 $\mu\text{mol}$
(17)	estudo da fase crónica	74	6-20 anos	dosímetro Chai et al.	25 mg/ml
(18)	relação com obstrução	118	11 $\pm$ 3 anos	dosímetro Chai et al.	25 mg/ml
(42)	epidemiologia	788	8 anos	dosímetro Chai et al. abreviada	25 mg/ml

Podemos portanto concluir que: 1) O equipamento com que trabalhamos está calibrado, o que nos permite produzir resultados que podem ser comparados com os de qualquer laboratório que utilize a mesma metodologia, de acordo com os padrões standard publicados na literatura internacional; 2) As doses de metacolina têm que variar entre uma dose mínima, adequada para a população a estudar e uma dose máxima de 3000-4000 µg. No entanto, o número de doses a administrar pode ser abreviado se for necessário reduzir a duração do teste; 3) Os resultados duma prova de provocação brônquica não permitem por si só estabelecer o diagnóstico de asma, mas constituem um argumento importante a favor; 4) Só será

possível tirar conclusões dos resultados da utilização seriada deste protocolo após o estudo de sua reprodutibilidade.

(Este trabalho teve o apoio do INIC (contr. n.º 86/CSA/3.)

## AGRADECIMENTOS

Dr. Moura Pires pelo aconselhamento e execução do tratamento estatístico.

Dra. Arminda Portela pelo apoio ao controle de qualidade na preparação da metacolina.

Boehringer Ingelheim Portuguesa pelo apoio à deslocação a Londres (Dept. de Medicina Torácica do Hospital Royal Free).

## BIBLIOGRAFIA

- ALBERTS W.M., FERGUSON P.R. & RAMSDELL J.W. -- Preparation and handling of methacholine chloride testing solutions. *Am. Rev. Resp. Dis.* 127:350-361, 1983.
- ALBERTS W.M. & RAMSDELL J.W. -- Clinical use of methacholine in bronchial challenge testing. *South. Med. J.* 80:827-830, 1987.
- ALBERTS W.M. & RAMSDELL J.W. -- Bronchial Challenge, in *Pulmonary Function Testing: Indications and Interpretation*. Ed. by Wilson A.P., *Common and Strout*: 55-88, 1985.
- ATS COMMITTEE ON DIAGNOSTIC STANDARDS FOR NONTUBERCULOUS DISEASES -- Definitions and classification of chronic bronchitis, asthma and pulmonary emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.* 85:762-768, 1982.
- ATS STATEMENT -- Snowbird workshop of spirometry. *Am. Rev. Resp. Dis.* 110:831-838, 1979.
- BARNES P.J., BASSBAUM C.B. & NADEL J.A. -- Autoradiographic localization of adrenergic receptors in airway smooth muscle. *Am. Rev. Resp. Dis.* 127:758-762, 1983.
- CASALE T.B., RHODES B.J., DONNELLY A.L. & WEJLER J.M. -- Airway response to methacholine in asymptomatic nonsmoking cigarette smokers. *J. Appl. Physiol.* 62 (8): 1888-1902, 1987.
- CHAI H., FARR R.S., FROELICH L.A. et al. -- Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. *J. Allergy Clin. Immunol.* 76 (4):323-327, 1976.
- CLIFFORD R.D., PUGSLEY A., RADFORD M. & HOLTGATE T. -- Symptoms, sputum and bronchial response to methacholine in patients with asthma and their children. *Arch. Dis. Child.* 62:658-73, 1987.
- COCKROFT D.W. & BERSHELD B.A. -- Effect of pH on bronchial response to inhaled histamine. *Thorax* 37:133-138, 1982.
- COCKROFT D.W. & BERSHELD B.A. -- Slope of the dose-response curve: usefulness in assessing bronchial responses to inhaled histamine. *Thorax* 38:55-61, 1983.
- COCKROFT D.W., KILLIAN D.N., MELLON J.A. et al. -- Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clin. Allergy* 7:336-349, 1977.
- CORRAO W.M., BRAMAN S.S. & IRVIN R.S. -- Chronic cough as the sole presenting manifestation of bronchial asthma. *New Engl. J. Med.* 300:893-897, 1979.
- DOLYVICH M.R. -- Technical factor influencing responses to challenge aerosols. In: Hargreave, F.E. & Woolcock A.J. eds. *Airway responsiveness: measurement and interpretation*. Mississauga: Astra Pharmaceutica Canada Ltd: 9-21, 1985.
- EMER N.M., KERREBLIN K.F. & QUANJER P.H. (eds.) -- SPCPR Working Group -- Bronchial hyperreactivity guidelines for standardization of bronchial challenge with (non-specific) bronchoconstricting agents. *Bull. Europ. Physiopath. Resp.* 19:495-514, 1983.
- FUSH N.A. & STUGIN A.G. -- Generation and use of mono-dispersed aerosols in: *Aerosol Science* ed. Davies, C.N. (New York Academic Press): 1-310, 1985.
- GÁLVEZ R.A., McLAUGHLIN F.J. & LEVISON H. -- The role of methacholine challenge in children with cough. *J. Allergy Clin. Immunol.* 70:331-336, 1987.
- GÁLVEZ R.A., McLAUGHLIN F.J. & LEVISON H. -- The relationship between airway obstruction and bronchial hyperreactivity in childhood asthma. *Ann Allergy* 58:45-47, 1987.
- GAYNARD P., QREHEK J., GRIMAUD C. & CHARPIN J. -- Bronchoconstrictor effects of a deep inspiration in patients with asthma. *Am. Rev. Resp. Dis.* 111:433-438, 1975.
- HARGREAVE F.E., RAMSDALE E.M., DOLYVICH J., HARGREAVE F.E. & WOOLCOCK A.J. eds. *Airway Responsiveness: measurement and interpretation*. Mississauga: Astra Pharmaceutica Canada Ltd: 127-127, 1985.
- HARGREAVE F.E., BYERK P.J., RAMSDALE E.M., DOLYVICH J. & ZAMEL N. -- Inhalation challenge tests and airway responsiveness in man. *Chest* 87 (suppl):202 S-206 S, 1985.
- JUNIPER E.J., FRITH P.A. & HARGREAVE F.E. -- Airway responsiveness to histamine and methacholine: relationship to minimum treatment to control symptoms of asthma. *Thorax* 36:575-579, 1981.
- MACDONALD N.C., WHITMORE C.K., MCKERRID M.C. & CROBBY -- Stability of stored methacholine chloride solutions: clinically useful information. *Am. Rev. Resp. Dis.* 126:717-719, 1982.
- MADSEN F., FROLUND L., NIELSEN N.A., SVENDSEN V.G. & WEEKE B. -- Fixed ventilation during tidal volume breathing bronchial challenge may improve repeatability. *Allergy* 42:538-540, 1987.
- MALO J.L. -- Comparison of different indices derived from dose-response curves to inhaled pharmacologic agents. In: Hargreave, F.E. & Woolcock A.J. eds. *Airway Responsiveness: measurement and interpretation*. Mississauga: Astra Pharmaceutica Canada Ltd: 65-83, 1985.
- MALO J.L., CARTIER A., PINEAU L., GAGNON G. & MARTIN R.R. -- Slope of the dose-response curve to inhaled histamine and methacholine and PC<sub>20</sub> in subjects with symptoms of airway hyperreactability and in normal subjects. *Am. Rev. Resp. Dis.* 132:644-647, 1985.
- McFADDEN E.R. -- A reduction in maximum mid-expiratory flow rate. A spirographic manifestation of small airways disease. *Am. J. Med.* 52:725-737, 1972.
- MELLILO G., COCCO G., BALZANO G. & SCHIANO M. -- Evaluation of non specific bronchial hyperreactivity in different respiratory diseases. *Curr. J. Respir. Dis.* 68 (suppl. 14):282-286, 1988.
- NADEL J.A. & TIERNEY D.F. -- Effect of a previous deep inspiration on airway resistance in man. *J. Appl. Physiol.* 10:717-719, 1961.
- NEUPARTH N. -- A avaliação funcional da hiper-reatividade brônquica -- Tema de Síntese -- Provas do Apêndice Pedagógica e Capacidade Científica, Lisboa, 1987.
- NEUPARTH N., NEWMAN S.P., CLARKE S.W. & BENTON A. -- Two methods of inhalation of a methacholine aerosol in normal (abstract). *Bull. Europ. Physiopath. Resp.* 23 (suppl. 12):318, 1987.
- NEWMAN S.P. -- Deposition and effects of inhalation aerosol -- Ph.D. Thesis, University of London. Ed. Astra Pharmaceuticals, Lund, Sweden, 1983.
- NEWMAN S.P., BELLOW R.D. & CLARKE S.W. -- Droplet size distributions of nebulized aerosols for inhalation therapy. *Clin. Phys. Physiol. Meas.* 7 (2):139-144, 1986.
- QREHEK J., GAYNARD P., SMITH A.P., GRIMAUD C. &