

Recomendaciones para las Pruebas de Provocación Bronquial Farmacológica

Drs. Patricia Ancic C.¹ y Rodrigo Moreno B.²

1. Sección Fisiopatología, Soc. Chilena Enf. Respiratorias. INERyCT y Depto. de Medicina, Facultad de Medicina (Div. Oriente), Universidad de Chile. 2. Comisión de Investigación, Soc. Chilena Enf. Respiratorias. Depto. de Enfermedades Respiratorias, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Chile.

Summary

RECOMMENDATIONS FOR THE PHARMACOLOGICAL BRONCHOPROVOCATION TESTS.

The Section on Respiratory Pathophysiology and the Research Committee of the Chilean Society of Respiratory Diseases propose the following recommendations for performing bronchial challenge tests using bronchoconstricting agents, in order to obtain reliable results:

a) These tests should be performed to rule in or rule out the diagnosis of asthma bearing in mind that they are not completely sensitive neither specific. They may also be used to evaluate severity of disease and response to treatment.

b) A simplified version of the continuous aerosol generation method of Cockcroft et al. should be preferred specially in children. Initial drug concentration is 0.03 mg/ml, and increased in doubling fashion up to 8 mg/ml. In some cases an abbreviated method may be used starting with a 1 mg/ml solution.

c) The intermittent aerosol generation method of Chai et al. should only be used if a dosimeter is available.

d) Methacholine is the bronchoconstricting agent recommended because of its fewer secondary effects.

e) A nebulizer which generate a similar output to its reference values should be used.

f) Factors affecting the response such as airways infection, exposure to antigens or irritants, and use of drugs such as beta-adrenergics, theophylline, cromoglycate and antihistamines, must be carefully controlled.

g) These tests are usually contraindicated when the baseline VEF_1 is lower than 70% of predicted value, or when the FEV_1 falls by 10% or more below the value obtained with saline.

h) The airway response should be assessed by measuring the concentration of drug that causes a fall in FEV_1 of 20% (PC_{20}) of the value obtained with saline, by linear interpolation from the dose-response curve.

i) In adults a PC_{20} higher than 8 mg/ml is considered normal; mild hyperreactivity between 2 and 8 mg/ml; moderate between 0.25 and 2 mg/ml and severe with PC_{20} lower than 0.25 mg/ml. In children the PC_{20} varies with age, being lower in younger children so this fact should be considered to avoid overdiagnosing bronchial hyperreactivity.

RESUMEN

La Sección de Fisiopatología Respiratoria y la Comisión de Investigación de la Sociedad Chilena de Enfermedades Respiratorias proponen las siguientes recomendaciones para la realización de las

pruebas de provocación con fármacos broncoconstrictores, con el objeto de obtener resultados confiables:

a) Emplear estas pruebas en caso de duda diagnóstica de asma bronquial teniendo en cuenta que no son completamente sensibles ni específicas. Son útiles, además, para evaluar su gravedad y la respuesta a un tratamiento.

b) Utilizar de preferencia el método de inhalación continua de Cockcroft y cols. simplificado, especialmente en niños. La concentración inicial del fármaco es de 0,03 mg/ml, la que aumenta por duplicación hasta llegar a 8 mg/ml. En casos especiales se puede emplear un procedimiento acortado, comenzando con la solución de 1 mg/ml.

c) El método de inhalación discontinua de Chai y cols. sólo debe emplearse si se dispone de un dosímetro.

d) El fármaco broncoconstrictor recomendado es la metacolina, debido a sus menores efectos secundarios.

e) Debe emplearse un nebulizador que genere un flujo de salida similar al de la fuente de valores de referencia.

f) Deben controlarse los factores que modifican la respuesta, tales como infección de las vías aéreas, exposición a antígenos o irritantes y uso de fármacos como beta adrenérgicos, teofilinas, cromoglicato y antihistamínicos.

g) Estas pruebas están generalmente contraindicadas en pacientes con VEF₁ basal inferior al 70% de su valor teórico y en aquellos que presentan una disminución superior al 10% con el diluyente.

h) Evaluar la broncoconstricción mediante el VEF₁ y calcular la concentración que causa una caída de 20% del VEF₁ (PC₂₀) respecto al valor obtenido con el diluyente, mediante interpolación en la curva dosis-respuesta.

i) En adultos, se considera normal una PC₂₀ superior a 8 mg/ml, hiperreactividad leve entre 2 y 8 mg/ml, hiperreactividad moderada entre 0,25 y 2 mg/ml, y grave a un valor inferior a 0,25 mg/ml. En niños, las cifras de PC₂₀ varían con la edad, siendo menores en los niños más pequeños, lo que debe

considerarse para evitar el sobrediagnóstico de hiperreactividad bronquial.

I. INTRODUCCION

Las pruebas de provocación bronquial con fármacos broncoconstrictores se utilizan con frecuencia en nuestro país en los pacientes con asma bronquial. La Sección de Fisiopatología Respiratoria y la Comisión de Investigación de la Sociedad Chilena de Enfermedades Respiratorias decidieron buscar un acuerdo entre los laboratorios de función pulmonar de nuestro país para proponer normas respecto a estas pruebas. Ello debido a que se había observado el empleo de múltiples técnicas, cuya interpretación no era vastamente conocida ni explicada en los informes, lo que conducía a confusiones y, peor aún, a repetición innecesaria de exámenes. Para ello, los autores de este artículo consultaron la opinión de un extenso número de especialistas, tanto de adultos como niños, la cual se utilizó para aclarar y modificar un documento inicial. (Ver nota de agradecimiento).

La estandarización de las pruebas de provocación bronquial comprende sus indicaciones, método de ejecución, control de los factores clínicos y técnicos que pueden alterar la respuesta y su interpretación. En esta comunicación nos referiremos sólo a las pruebas de provocación bronquial inespecífica con fármacos, sin analizar las pruebas de ejercicio o inhalación de aire frío o seco, debido a que ellas se usan con menor frecuencia en la clínica habitual. Las pruebas de provocación bronquial específica, sean con antígenos o sustancias ocupacionales, son más complejas, tienen mayor riesgo y se han relegado al campo de la investigación, por lo cual tampoco las abordaremos en este trabajo.

II. INDICACIONES

Diagnóstico de asma bronquial. Existe acuerdo que una de las características distintivas del asma es la hiperreactividad bronquial (1,2). Por ello, su demostración se considera un argumento a favor de este diagnóstico, mientras que su ausencia se usa para descartar esta enfermedad. No obstante, debe tenerse presente que la hiperreactividad bronquial a fármacos no es un fenómeno exclusivo del asma bronquial, ya que puede estar presente en varias otras enfermedades, tales como LCFA, rini-

PC₂₀ > 8
HR leve 2-8
HR Moderada 0,25-2
HR grave < 0,25

tis alérgica sin síntomas bronquiales, tuberculosis pulmonar (3), fibrosis quística, lupus y artritis reumatoide (4), entre otras. Por otra parte, la sensibilidad de estas pruebas tampoco es 100%, motivo por el cual un examen normal en presencia de un cuadro clínico sugerente no debe descartar el diagnóstico de asma (5). Por lo tanto, estimamos que este examen no debe usarse como único criterio diagnóstico y que tampoco debe emplearse en todos los enfermos presuntamente asmáticos. Más bien, debe indicarse en casos de duda diagnóstica en pacientes con síntomas respiratorios sugerentes de asma, con el propósito de demostrar la presencia y magnitud de hiperreactividad bronquial, hecho que debe ser interpretado en conjunto con el resto de los datos clínicos.

Evaluación de la gravedad del asma. En múltiples publicaciones se ha podido demostrar que existe una correlación entre la gravedad clínica de los pacientes y la magnitud de la hiperreactividad bronquial (6,7). Esta asociación puede usarse para estimar la gravedad potencial de un enfermo con el propósito de formular un pronóstico y, consecuentemente un plan terapéutico, especialmente en los enfermos que el médico conoce en forma insuficiente, ya sea porque la enfermedad se inició recientemente o por la ausencia de datos anamnésticos fidedignos.

Estimación de los requerimientos medicamentosos. Se ha demostrado una relación entre los requerimientos medicamentosos y la magnitud de la hiperreactividad bronquial, lo que se ha usado como argumento para emplear las pruebas de reactividad bronquial para predecir la eficacia de una determinada terapia, especialmente el uso de esteroides (6,7). Sin embargo, no existe consenso respecto a esta indicación, especialmente en la actualidad, en que se tiende a indicar esteroides tópicos a todos los asmáticos.

Evaluación de la respuesta al tratamiento. Se ha observado una mejoría de la reactividad bronquial inespecífica en los pacientes tratados con medicamentos tópicos capaces de modificar favorablemente el fenómeno inflamatorio presente en el asma (8). Por lo tanto, las variaciones de la reactividad bronquial podrían ser un índice de la eficacia de un determinado tratamiento. A juicio de los

especialistas consultados, esta reciente indicación que no ha sido aún ampliamente aceptada, podría constituir en el futuro uno de los usos más importantes de estas pruebas, si se considera que los síntomas, signos y alteraciones espirométricas no son suficientemente sensibles para evaluar los cambios de reactividad bronquial.

Investigación. Este es probablemente uno de los usos más fructíferos de las pruebas de reactividad bronquial, ya que ha permitido comprender con mayor claridad los mecanismos patogénicos subyacentes en los pacientes hiperreactivos (2). Es conveniente que el investigador use métodos estandarizados para poder comparar sus resultados con los publicados en la literatura.

Contraindicaciones: Las pruebas no deben ser efectuadas en pacientes con función pulmonar muy deteriorada, por lo que el VEF₁ basal debe ser superior a un 70% del valor teórico en adultos y 80% en niños. Excepcionalmente y bajo estricto control médico, pueden hacerse pruebas de provocación bronquial a pacientes con cifras inferiores a las mencionadas, siempre que el VEF₁ basal sea el mejor obtenido después de un período largo de observación. Tampoco se debe efectuar en pacientes con gran hiperreactividad bronquial, que reaccionen a la administración del diluyente con una caída del VEF₁ superior a un 10%.

Los pacientes con un diagnóstico de asma bien establecido y con evidencias de broncoespasmo reversible no necesitan una prueba de provocación bronquial con fines diagnósticos.

III. METODO

1. Agentes Farmacológicos. Actualmente se utilizan con frecuencia la metacolina y la histamina. Además se han usado el carbacol y la acetilcolina.

La metacolina es un agonista colinérgico que actúa uniéndose específicamente a los receptores para acetil-colina del músculo liso de las vías aéreas, provocando su contracción en una forma dosis dependiente. Su efecto puede ser bloqueado con anticolinérgicos administrados por vía sistémica o por nebulización. Como efectos secundarios destacan la rinorrea durante la nebulización continua, la que se puede minimizar empleando respiración

bucal y una pinza nasal. Con las dosis bajas corrientemente usadas en las pruebas clínicas, la metacolina prácticamente no tiene efectos secundarios sistémicos. Su vida media es superior a 30 minutos, por lo que en la práctica, el efecto logrado es acumulativo y permite efectuar múltiples mediciones de VEF_1 con cada dosis, si ello es necesario.

La histamina actúa estimulando los receptores H_1 del músculo liso. No existe certeza respecto a si la histamina actúa además por vía indirecta, estimulando los receptores de irritación bronquial, causando broncoconstricción por estímulo vagal. Su efecto es antagonizado por antihistamínicos. En las dosis usualmente empleadas, la histamina causa cefalea, rinorrea, ardor ocular y vasodilatación de la piel, especialmente de la cara. Estos efectos secundarios dificultan su empleo en dosis elevadas en trabajos de investigación. Su vida media es más corta, por lo que es posible efectuar mediciones estables sólo durante los primeros minutos.

Los efectos de la histamina y metacolina sobre las vías aéreas son equivalentes en individuos normales y asmáticos. En pacientes con LCFA, en cambio, la histamina causa una mayor broncoconstricción que la metacolina (9).

La preparación y conservación de las soluciones se describen en el Apéndice I.

Los autores recomiendan utilizar preferentemente la metacolina debido a sus menores efectos secundarios.

2. Nebulizadores. Hay una gran variedad de modelos, entre los que destacan los nebulizadores Hudson y De Vilbiss. Existen diferencias en la cantidad de aerosol generado por unidad de tiempo por los diferentes modelos, y aún entre nebulizadores de la misma marca, factores que pueden ser importantes en la interpretación de los resultados (10,11). Otro factor importante de variación en la cantidad de aerosol generado es el flujo de aire que pasa por el nebulizador, el que debe mantenerse constante en diferentes pruebas. Por estas razones es necesario que cada laboratorio mida este índice en cada nebulizador que se use en pruebas de provocación, comparando sus resultados con los valores de la fuente de referencia. También existe variabilidad en el tamaño de las partículas generadas,

pero este aspecto no parece influir en los resultados (10).

3. Métodos de administración. Dentro de los diversos métodos de administración de las drogas destacan la inhalación continua durante la respiración tranquila, descrita inicialmente por Cockcroft y cols (12) y la administración discontinua. Esta última consiste en inhalar un aerosol generado por un breve lapso mediante un dosímetro, como fue descrito por Chai y cols (13). El primer método tiene la ventaja de su simplicidad, ya que no requiere de un dosímetro, aunque sólo es posible conocer la cantidad de aerosol generada por el nebulizador y no la cantidad de droga efectivamente inhalada, lo que depende de la magnitud del volumen corriente y frecuencia respiratoria del paciente. El método de Chai, en cambio, tiene la ventaja de permitir conocer con precisión la dosis inhalada. Aun cuando las dosis generadas por ambos métodos son diferentes, como también la proporción de aerosol depositada en la faringe y vías aéreas centrales, la dosis total que queda en el pulmón es similar, por lo que la concentración que provoca una caída de 20% del VEF_1 (PC_{20}) coincide para ambos métodos. Conviene mencionar también, el método propuesto por Yan y cols (14), que es similar al de Chai y cols, pero que tiene la ventaja de no necesitar de una fuente de aire comprimido ni dosímetro, porque el aerosol se genera con un nebulizador manual.

Cualquiera sea el método usado, la prueba comienza con la inhalación del diluyente, el que no debe producir una caída superior al 10% del VEF_1 basal. Si esto sucede, la prueba debe suspenderse pues indica una gran reactividad bronquial. La cifra de VEF_1 obtenida con diluyente se utiliza como valor de referencia para calcular la respuesta al fármaco.

Tanto el diluyente como las soluciones de droga deben usarse a temperatura ambiente.

Inhalación continua. El método más empleado está basado en la técnica propuesta por Cockcroft y cols, modificada por Habib y cols (15). Brevemente, la droga se administra por nebulización continua con un nebulizador Hudson, accionado con aire a un flujo de 5 L/min. El gasto del nebulizador es de 0,29 ml/min, cifra que cambia levemente en diferentes equipos de la misma marca

(10). Los sujetos deben inhalar el aerosol por vía bucal a través de una mascarilla, durante una respiración tranquila. No es necesario usar pinza nasal si se verifica que el paciente respira por la boca. Cada concentración se administra durante dos minutos, para lo cual basta 1 ml, y se realizan dos mediciones de VEF₁, a los 60 y 90 segundos después de terminada la inhalación, lapso durante el cual el individuo debe evitar las inspiraciones profundas, que causan una broncodilatación transitoria. La concentración inicial de la droga es de 0,03 mg/ml, aumentando ésta al doble progresivamente hasta obtener una caída del VEF₁ mayor de 20% o se alcance la concentración máxima, que con propósitos asistenciales puede fijarse en 8 mg/ml. En caso de duda respecto a la colaboración del sujeto, es conveniente administrar una dosis más después de haber alcanzado la PC₂₀, para evaluar si la caída observada es real o corresponde a un esfuerzo submáximo durante la medición del VEF₁. El procedimiento con cada concentración dura aproximadamente tres minutos y medio, por lo que la duración del examen suele ser inferior a 30 minutos. La prueba se puede acortar en los pacientes en que sólo se desea demostrar la presencia de hiperreactividad bronquial y que clínicamente tienen un asma leve, es decir presentan un VEF₁ normal, pocos síntomas y empleo de aerosol broncodilatador según necesidad. En ellos se puede iniciar la prueba con la concentración de 1 mg/ml, lo que disminuye su duración aproximadamente a la mitad. Este procedimiento no debe utilizarse en niños, pues tienen mayor reactividad bronquial que el adulto.

El método descrito difiere del original de Cockcroft y cols. en que se efectúan mediciones sólo a los 60 y 90 segundos después de terminada la nebulización, mientras que ellos las realizan hasta los 5 minutos. Esta simplificación no altera los resultados, ya que el máximo efecto de la droga ocurre a los 60 segundos (14). En nuestro país, los valores obtenidos en sujetos adultos normales estudiados con el método recién descrito, son iguales a los comunicados en la literatura con el método original, obteniendo PC₂₀ superiores a 8 mg/ml (7). No existe consenso con respecto a la PC₂₀ en niños. Si bien algunos autores (16) sostienen que los niños tienen igual PC₂₀ que los adultos, se ha demostrado que la edad tiene un efecto significativo sobre la

respuesta a la metacolina (17,18), y en nuestro medio, Corrales y cols observaron niños sanos con PC₂₀ menores que en los adultos (19).

Inhalación discontinua. Consiste en la administración de concentraciones seriadas crecientes del fármaco desde un nebulizador De Vilbiss conectado al circuito por un dosímetro, que es gatillado automáticamente por el comienzo de la inspiración (13). El dosímetro asegura que el aerosol se libere por un período constante de tiempo (0,5 ó 0,6 s.). El flujo de salida o output del nebulizador debe ser de 0,3 ml/min, lo cual se alcanza con un flujo de 5 ó 6 L/min de oxígeno o aire comprimido.

El paciente realiza 5 inspiraciones lentas y consecutivas de concentraciones crecientes al doble, comenzando con 0,03 mg/ml del fármaco a partir de capacidad residual funcional y hasta capacidad pulmonar total. El efecto de la administración del aerosol se mide 1 y 3 minutos después. La prueba termina cuando el VEF₁ disminuye un 20% de su valor basal o cuando se ha administrado la concentración más alta, cualquiera que ocurra primero.

Los autores de esta revisión recomiendan utilizar el método de inhalación continua debido a su simplicidad y a que no necesita dosímetro. Esto es especialmente válido para niños, quienes comprenden mejor este método.

4. Preparación del paciente. El paciente no debe tener síntomas de obstrucción bronquial y deben descartarse aquellos que cumplan las contraindicaciones ya mencionadas.

Suspensión de medicamentos. Dado que los medicamentos usados en el tratamiento del asma y algunas otras drogas pueden modificar la reactividad bronquial, es necesario suspenderlos antes de iniciar la prueba. En términos generales, las drogas deben suspenderse por un lapso proporcional a su vida media. Los siguientes son los lapsos publicados en la literatura:

Beta adrenérgicos en aerosol:	8 horas
Beta adrenérgicos de liberación sostenida:	12 horas
Aminofilina de absorción rápida:	12 horas
Aminofilina de absorción lenta:	24 horas
Cromoglicato de sodio:	24 horas

La duración de la suspensión de los antihistamínicos antes de efectuar una prueba con histamina depende de la vida media de la droga usada. Por otra parte, no es indispensable suspenderlos si se usa metacolina como agente provocador.

Los corticosteroides no modifican la reactividad bronquial en el corto plazo, motivo por el cual no es necesario suspenderlos. Otras sustancias pueden aumentar levemente la reactividad bronquial, por lo cual deben ser tomadas en cuenta o bien no ingerirse. Entre éstas destacan el café, el té, las bebidas cola (por su contenido de cafeína), y el consumo de tabaco.

5. Medidas de seguridad. Aún cuando no se observan problemas si se sigue el procedimiento descrito, los laboratorios que realizan pruebas de provocación bronquial deben contar con un médico disponible de inmediato para solucionar eventuales complicaciones, que pueden ocurrir por errores en la administración del fármaco. Además deben contar con broncodilatadores para uso inhalatorio y el equipo debe tener conexiones eléctricas con tierra.

IV. FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA

1. Factores técnicos. Los factores que influyen en la generación, entrega y penetración del aerosol dependen en parte del nebulizador y del sistema de entrega al paciente. Además, de varios factores fisiológicos y patológicos del paciente (20, 21), como son: el volumen de cada respiración, (ya sea volumen corriente o capacidad inspiratoria), duración de la pausa inspiratoria, frecuencia respiratoria, presencia o no de un factor obstructivo reversible y terapia concomitante. Es importante esperar por lo menos 30 segundos entre las maniobras espiratorias máximas, ya que la inspiración profunda causa una broncodilatación que tarda ese tiempo en recuperarse.

El tamaño de la partícula no parece ser tan importante como se pensó primitivamente, puesto que nebulizadores que producen partículas de diferente tamaño causan el mismo grado de broncoespasmo (10). Esto es válido para partículas cuyo tamaño varía entre 0,3 y 4 μm de diámetro; partículas más pequeñas tienen menor depósito y partículas sobre 4 μm sedimentan en la porción más

proximal del aparato respiratorio. El flujo de salida del nebulizador, parece ser determinante en la respuesta al fármaco inhalado, y debe por lo tanto mantenerse constante. El flujo de salida de cada nebulizador se obtiene pesándolo en una balanza de precisión antes y después de nebulizar por un período determinado.

2. Factores clínicos. Además de las drogas, que han sido comentadas previamente, la reactividad bronquial puede ser modificada por otros factores que deben considerarse en las mediciones clínicas o en trabajos de investigación. Ellos son:

- Infecciones de la vía aérea superior, que aumentan la reactividad bronquial por un lapso de hasta 6 semanas. La vacunación anti-influenza produce un efecto similar.
- Hora del examen ya que la reactividad bronquial varía cíclicamente con un ritmo circadiano (22), alcanzando su máximo durante la noche.
- La exposición a antígenos, que aumenta la reactividad bronquial por períodos prolongados. También lo hace la exposición a isocianato de tolueno en individuos predispuestos y la exposición a irritantes ambientales como SO_2 , ozono, etcétera.

V. CALCULO E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Se han propuesto múltiples formas de evaluación de la respuesta a las drogas broncoconstrictoras. La más utilizada en clínica es la PC_{20} , o concentración de droga que causa un 20% de caída del VEF_1 con respecto al VEF_1 obtenido con diluyente (y no con el VEF_1 basal). En trabajos de investigación se suele usar la PD_{20} o dosis del fármaco que causa igual caída. Este último método es algo más complejo pero tiene las ventajas de permitir la repetición de una concentración, con lo que se puede obtener una caída más gradual del VEF_1 , y comparar fármacos de diferente peso molecular. Otras formas de evaluación, como la "reactividad" bronquial o pendiente de la curva, han sido abandonadas, pues no parecen tener ventajas sobre la PC_{20} .

Las pruebas funcionales basadas en una espiración forzada máxima como el VEF_1 , tienen teóricamente el inconveniente de necesitar una inspiración profunda, la que puede disminuir la respuesta broncoconstrictora. Sin embargo, esta pérdida de sensibilidad está compensada por una mayor especificidad, lo que permite separar con mayor precisión los sujetos hiperreactivos de los normales (23). Además, tienen la ventaja de su simplicidad, ya que requieren de equipos de relativo bajo costo, que son los disponibles en nuestro medio. Las pruebas que no necesitan de una inspiración profunda, como la medición de la resistencia de las vías aéreas o conductancia específica son más sensibles, pero requieren de un pletismógrafo, recurso escaso en nuestros laboratorios.

Los autores recomiendan medir la PC_{20} con mediciones de VEF_1 como índice de reactividad bronquial, debido a la simplicidad de su medición y a su buena correlación con la clínica. La PC_{20} se obtiene mediante interpolación en una curva dosis-respuesta, en la cual la dosis se representa en escala logarítmica en el eje horizontal, y la caída del VEF_1 en escala aritmética en el eje vertical, expresado

como porcentaje del valor obtenido con el diluyente. (Figura 1).

En adultos, se considera normal una PC_{20} superior a 8 mg/ml; hiperreactividad bronquial leve a PC_{20} entre 2 y 8 mg/ml; hiperreactividad moderada a valores entre 0,25 y 2 mg/ml e hiperreactividad bronquial grave una PC_{20} inferior a 0,25 mg/ml.

VI. Apéndice I

Preparación de los fármacos en solución. Tanto histamina como metacolina se obtienen como polvos secos, motivo por el cual cada laboratorio debe preparar las soluciones para nebulizar. La metacolina es una sustancia altamente higroscópica, es decir, capaz de combinarse con el agua de la atmósfera, cambiando su peso, por lo que debe refrigerarse.

Dado que el aerosol se deposita profundamente en las vías aéreas, es indispensable que las soluciones no estén contaminadas por agentes patógenos que pudieran causar una infección respiratoria. Para esto las soluciones deben ser preparadas con técnica estéril y filtradas a través de un filtro de microporo.

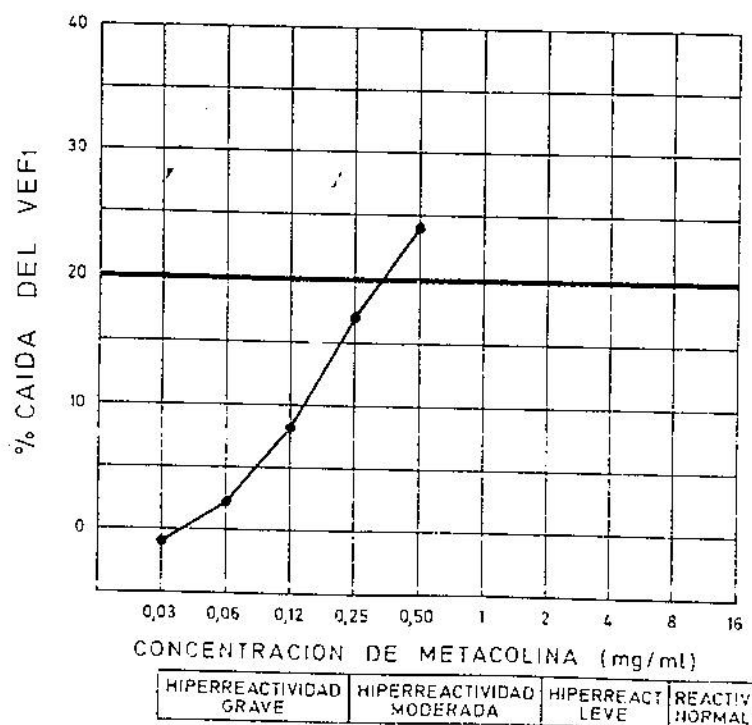


Figura 1
Ejemplo de cálculo del valor de PC_{20} . En este caso es de 0,35 mg/ml.

La metacolina se disuelve en solución de buffer fosfato, con lo que se obtiene un pH cercano al fisiológico, disminuyendo su capacidad irritante. Las soluciones de metacolina deben ser conservadas en refrigerador a 4° C, condición en que sus propiedades se mantienen estables, ya que demora 4 meses en perder un 10% de potencia. Las soluciones congeladas, en cambio, se mantienen indefinidamente (21,24). La histamina también debe mantenerse refrigerada a 4° C, conservando su estabilidad hasta 3 meses. Es conveniente recordar que las soluciones a inhalar se usan a temperatura ambiente, por lo que deben ser retiradas del refrigerador con suficiente anticipación.

Metacolina: cloruro de acetil-beta-metil colina.

Para obtener una solución de 100 mg/ml, pesar 500 mg de metacolina en polvo, disolver con 4,5 ml de diluyente. Esto dará un volumen total de 5,0 ml. Filtrar por un Sweeney y vaciar a un vaso de 10 ml. Esta es la solución madre (a) que contiene 100 mg/ml. Para preparar las concentraciones más bajas se emplea la solución de 1 mg/ml (solución b).

Tabla 1
Instrucciones para la preparación de 50 ml de metacolina.

Solución a diluir (ml)	Volumen de diluyente (ml)	Concentración deseada (mg/ml)
16 de solución a	34	32
8 "	42	16
4 "	46	8
2 "	48	4
1 "	49	2
0,5 "	49,5	1 (solución b)
0,25 "	49,75	0,5
12,5 de solución b	37,5	0,25
6,25 "	43,75	0,12
3,12 "	46,87	0,06
1,56 "	48,44	0,03

Histamina

Para obtener una solución de 32 mg/ml de fosfato ácido de histamina, pesar 966 mg de histamina en polvo y poner en un vaso limpio. Agregar 30 ml del diluyente, filtrar por Sweeney usando un filtro de 0,22 μ m y colocar en un vaso de 50 ml.

Llevar al autoclave a 121° C por 15 minutos. Esta es la solución "a".

Tabla 2
Instrucciones para la preparación de 50 ml de histamina

Solución a diluir (ml)	Volumen de diluyente (ml)	Concentración deseada (mg/ml)
25 de solución a	25	16
12,5 "	37,5	8
6,25 "	43,75	4 (solución b)
3,12 "	46,87	2 (solución c)
1,5 "	48,5	1
0,75 "	49,25	0,5
3,12 de solución b	46,87	0,25
1,6 " b	48,44	0,12
1,5 " c	48,5	0,06
0,75 " c	49,25	0,03

APENDICE II

Preparación del diluyente

Diluyentes

1. Solución de Coca, recomendado por la American Thoracic Society (ATS) (18).

Cloruro de sodio	0,5%
Carbonato de sodio	0,275%
Fenol	0,4%

2. Solución salina de buffer fosfato, recomendado por Hargreave FE y cols.

Fosfato dihidrogenado de sodio	1,808 g
Fosfato hidrogenado disódico	7,576 g
Cloruro de sodio	4,4 g
Alcohol bencílico	1,5 % (como preservativo)
Agua	1000 ml
pH	7,4