

# Estudio de la hiperrespuesta bronquial a la metacolina mediante la auscultación traqueal en niños sanos menores de 4 años

Inés de Mir Messa<sup>a</sup>, Antonio Moreno Galdó<sup>b</sup>, Nicolás Cobos Barroso<sup>b</sup>, Santos Liñán Cortés<sup>b</sup>, Silvia Gartner<sup>b</sup> y Gerardo Vizmanos Lamotte<sup>b</sup>

<sup>a</sup>ABS Consell de Cent. Barcelona. España.

<sup>b</sup>Unidad de Neumología Pediátrica y Fibrosis Quística. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España.

**OBJETIVO:** Valorar la seguridad del método de la auscultación traqueal para medir la hiperrespuesta bronquial en niños sanos menores de 4 años de edad, sin sedación, y establecer valores de normalidad.

**POBLACIÓN Y MÉTODOS:** Se incluyó en el estudio a niños sanos de entre 6 meses y 4 años de edad. Se les realizó una prueba de provocación bronquial con metacolina mediante la técnica de la respiración a volumen corriente, en niños no sedados, utilizando un protocolo acordado. Se consideró positiva la prueba cuando se auscultaron sibilantes en la tráquea, la saturación arterial de oxígeno (SaO<sub>2</sub>) disminuyó un 5% o más, o bien aumentó la frecuencia respiratoria un 50% o más.

**RESULTADOS:** Se estudió a 16 niños de 8 a 47 meses de edad (mediana: 23,5 meses; desviación estándar: 12,2 meses). En 11 niños no hubo respuesta a la metacolina, y en 5 la respuesta fue positiva a la concentración de 8 mg/ml. La prueba se consideró positiva en 3 casos por la auscultación de sibilancias traqueales, en uno por la auscultación de sibilancias y descenso de la SaO<sub>2</sub>, y en otro por un descenso de la SaO<sub>2</sub> del 5% o superior. En ningún caso la SaO<sub>2</sub> disminuyó por debajo del 93%.

**CONCLUSIONES:** El método de la auscultación traqueal es sencillo, adecuado y seguro para valorar la presencia de hiperrespuesta bronquial en niños menores de 4 años de edad, sin necesidad de sedarlos. La concentración mínima a la que los niños sanos de esta edad responden a la metacolina es 8 mg/ml.

**Palabras clave:** Hiperrespuesta bronquial. Auscultación traqueal. Metacolina. Niños.

## Bronchial Hyperresponsiveness to Methacholine Assessed by Means of Tracheal Auscultation of Healthy Children Aged Under 4 Years

**OBJECTIVE:** To assess the safety of the tracheal auscultation method for measuring bronchial hyperresponsiveness in healthy unsedated children aged less than 4 years and to establish a range of normal bronchial hyperresponsiveness values.

**POPULATION AND METHODS:** The study population consisted of healthy children aged between 6 months and 4 years. A methacholine bronchial provocation test was administered to unsedated children, using the tidal volume breathing technique and applying an abbreviated protocol. The test was considered positive when wheezing was heard in the trachea, arterial oxygen saturation (SaO<sub>2</sub>) fell by 5% or more, or respiratory rate increased by 50% or more.

**RESULTS:** A total of 16 children were studied. Ages ranged from 8 to 47 months, with a mean (SD) of 23.5 (12.2) months. There was no response to the methacholine in 11 children. In the other 5 children, there was a positive response at a concentration of 8 mg/mL. Response to the test was considered positive on the basis of tracheal wheezing in 3 cases, tracheal wheezing and a fall in SaO<sub>2</sub> in 1 case, and a fall of SaO<sub>2</sub> of 5% or more in 1 case. SaO<sub>2</sub> never fell below 93%.

**CONCLUSIONS:** As a means for assessing bronchial hyperresponsiveness, the tracheal auscultation method is appropriate, is simple to apply, and can be safely administered to unsedated children aged less than 4 years. The lowest concentration at which a response to methacholine occurs in healthy children of this age group is 8 mg/mL.

**Key words:** Bronchial hyperresponsiveness. Tracheal auscultation. Methacholine. Children.

## Introducción

El asma infantil es una enfermedad heterogénea, y se han descrito 3 tipos de síndromes que cursan con bron-

quitis sibilantes<sup>1</sup>: a) bronquitis sibilantes precoces y transitorias que se asocian a infecciones respiratorias y se limitan a los 3-5 primeros años de vida; b) bronquitis sibilantes de base no atópica, relacionadas con infecciones virales, que pueden persistir hasta los 11-13 años (asma no atópica), y c) bronquitis sibilantes asociadas a sensibilización alérgica, que corresponderían al fenotipo clásico de asma (asma atópica).

La incidencia de bronquitis sibilantes recurrentes en niños menores de 4 años es muy elevada, hasta un 34% en algunos estudios<sup>2</sup>. Alrededor de un 60% de estos ni-

Estudio financiado con las siguientes ayudas: Beca SEPAR 2001, Beca Fundació Òscar Ravà de la FUCAP 2001 y Beca Fundació Goll i Gorina.

Correspondencia: Dr. A. Moreno Galdó.  
Unidad de Neumología Pediátrica y Fibrosis Quística.  
Hospital Universitari Vall d'Hebron.  
Pg. Vall d'Hebron, 119-129. 08035 Barcelona. España.  
Correo electrónico: amoreno@vhebron.net

Recibido: 21-12-2005; aceptado para su publicación: 2-8-2006.

ños corresponden al grupo de bronquitis sibilantes transitorias, un 20% al grupo de asma no atópica y aproximadamente el 20% serán finalmente diagnosticados de asma atópica<sup>3</sup>.

Actualmente el diagnóstico de asma en los niños de este grupo de edad es eminentemente clínico, apoyado en los antecedentes familiares y personales de atopia<sup>4,5</sup>. Debido a la importancia que tiene realizar un tratamiento precoz del asma, se está trabajando desde distintos puntos de vista (epidemiología, exploración funcional respiratoria, marcadores de la inflamación) para identificar tempranamente los niños con alto riesgo de continuar siendo asmáticos.

La hiperrespuesta bronquial es un rasgo característico del asma en niños mayores y adultos, y guarda una estrecha relación con la gravedad de los episodios de sibilancias en niños de 8 a 15 años<sup>6</sup>, aspecto que no se ha demostrado de forma clara en niños de 0 a 6 años<sup>7</sup>.

Para poder llegar al diagnóstico funcional de asma en los niños pequeños sería necesario demostrar la presencia de hiperrespuesta bronquial, pero su medida es difícil, ya que no pueden realizar las pruebas de función pulmonar o de provocación bronquial habituales en los niños mayores y adultos.

En niños mayores y adultos, para estudiar la hiperrespuesta bronquial se emplea la prueba de provocación bronquial con metacolina, en la que se valora la disminución del volumen espiratorio forzado en el primer segundo como variable de respuesta. Sin embargo, en niños pequeños estas pruebas no están estandarizadas, principalmente debido a cuestiones relacionadas con la seguridad y tolerancia de la prueba, y al escaso conocimiento de la respuesta broncoconstrictora normal en niños sanos.

La mayoría de los estudios sobre la hiperrespuesta bronquial en los niños pequeños se ha realizado utilizando como medida de la respuesta broncoconstrictora técnicas de función pulmonar en las que es preciso sedarlos, como la técnica de la compresión toracoabdominal rápida determinando el flujo máximo a capacidad residual funcional<sup>8,9</sup>, la pletismografía, la oscilometría de impulsos y las resistencias por oclusión<sup>10-12</sup>.

Se han desarrollado otras técnicas que no precisan sedación para valorar la respuesta broncoconstrictora: la medición de la presión transcutánea de oxígeno<sup>13,14</sup> y el método de la auscultación traqueal<sup>15,16</sup>. Este último se ha validado en niños mayores, en los que se ha encontrado una buena correlación con los resultados de la provocación bronquial utilizando como variable de respuesta el volumen espiratorio forzado en el primer segundo<sup>17-19</sup>.

Con estas premisas, hemos realizado un estudio para valorar cuál es la respuesta a la metacolina en niños sanos, menores de 4 años de edad, mediante el método de la auscultación traqueal, con la finalidad de establecer un patrón de respuesta normal y determinar la seguridad de la prueba en los niños de esta edad.

### Población y métodos

Para la realización del estudio se seleccionó a niños sanos procedentes del área de Barcelona, con edades comprendidas entre 6 meses y menos de 4 años. Se excluyó a aquellos con

antecedentes de prematuridad o bajo peso al nacer, los afectados de enfermedades cardiovasculares y/o pulmonares (incluidas las bronquitis sibilantes), y los niños con antecedentes familiares de atopia o tabaquismo pasivo. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación Clínica local y la inclusión de los niños se hizo tras informar a los padres y obtener su consentimiento por escrito.

Se realizó una prueba de provocación bronquial con metacolina utilizando el método de la respiración a volumen corriente durante 2 min. En esta técnica el aerosol se genera con un nebulizador de flujo continuo. Se nebulizaron 3 ml de soluciones de cloruro de metacolina (Provocholine®, Methapharm Inc., Brantford, Ontario, Canadá) diluidas en suero salino fisiológico, que el niño inhalaba respirando a volumen corriente durante 2 min<sup>20</sup>. Para realizar la prueba de metacolina debían cumplirse los siguientes requisitos: no haber presentado un cuadro catarral de vías altas en las 3 semanas anteriores, saturación basal de oxígeno del 95% o superior, auscultación respiratoria normal y ausencia de taquipnea. La prueba se realizó con el niño o niña en brazos del padre o la madre y durante la misma se creó un ambiente de juego con libros y muñecos adecuados a su edad.

Se siguieron, con algunas modificaciones, las recomendaciones de la American Thoracic Society (ATS) para la realización de la prueba de broncoprovocación con metacolina en niños colaboradores y adultos<sup>21</sup>. En el protocolo de la ATS se utilizan concentraciones crecientes de metacolina, desde 0,031 mg/ml hasta 8 mg/ml, doblando la concentración en cada ocasión. De esta forma, incluyendo la administración del disolvente, el resultado es un total de 10 nebulizaciones. Dada la dificultad práctica de utilizar este número elevado de nebulizaciones en los niños pequeños, se confeccionó un protocolo abreviado, partiendo de concentraciones de 0,5 mg/ml (de forma que se emplearon únicamente 6 nebulizaciones, como se observa en la tabla I).

Las soluciones de cloruro sódico y de metacolina se administraron con un nebulizador y una mascarilla facial, empleando como fuente de nebulización una botella de aire comprimido que trabajaba a 15 psi de presión (1 bar). Se utilizó un nebulizador Micromist® (Hudson RCI, Temecula, Ca, EE.UU.), que proporciona un diámetro aerodinámico de masa media entre 1 y 3,6  $\mu$ m. Se calibró el nebulizador para calcular el flujo de aire comprimido necesario para proporcionar un débito de 0,13 ml/min  $\pm$  el 10%. Se calculó que un flujo de 4 l/min producía un débito dentro del rango requerido (0,13 ml/min  $\pm$  el 10%).

La valoración de la respuesta al estímulo con la metacolina se realizó mediante el método de la auscultación traqueal modificado<sup>16</sup>. Se considera una respuesta positiva a una determi-

TABLA I  
Protocolo de dosificación utilizado para la realización de la prueba de provocación bronquial con metacolina mediante el método de la respiración a volumen corriente en nuestro estudio, comparado con el protocolo de la American Thoracic Society (ATS)<sup>21</sup>

Protocolo de la ATS	Protocolo abreviado
Disolvente	Disolvente
0,031 mg/ml	—
0,0625 mg/ml	—
0,125 mg/ml	—
0,250 mg/ml	—
0,500 mg/ml	0,500 mg/ml
1 mg/ml	1 mg/ml
2 mg/ml	2 mg/ml
4 mg/ml	4 mg/ml
8 mg/ml	8 mg/ml

nada concentración de metacolina (PCwheeze) cuando: se auscultan sibilancias claras en la tráquea o el tórax, la saturación de hemoglobina (SaO<sub>2</sub>) desciende un 5% o más sobre la SaO<sub>2</sub> basal, o aumenta la frecuencia respiratoria un 50% o más sobre el valor basal.

Tras cada nebulización se auscultó la tráquea, la parte anterosuperior e inferoposterior del tórax, en fases de 20 s, y durante los 3 min siguientes se midieron cada minuto tanto la frecuencia respiratoria como la cardíaca y la SaO<sub>2</sub>. Si no había una respuesta positiva, se proseguía con la siguiente nebulización, hasta llegar a la concentración máxima de 8 mg/ml. En los casos con respuesta positiva se administró al niño salbutamol nebulizado.

#### Análisis estadístico

Para poder realizar los cálculos numéricos de la PCwheeze en los niños en que no se obtuvo respuesta con una concentración de metacolina de 8 mg/ml, se supuso que ésta era de 16 mg/ml.

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó con el programa Medcalc® versión 8.1.1.0.

Para estudiar la normalidad de la distribución de las variables se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Para realizar las comparaciones entre 2 grupos de variables cuantitativas se aplicó el test no paramétrico de la U de Mann-Whitney. La comparación entre las variables cualitativas se realizó mediante la prueba exacta de Fisher. Se estudió la relación entre variables cuantitativas mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Se consideraron significativos valores de  $p < 0,05$ .

#### Resultados

Se realizó la prueba de broncoprovocación con metacolina a 16 niños (8 varones y 8 niñas) de 8 a 47 meses de edad (media: 23,9 meses; desviación estándar: 12,2 meses), cuyas características demográficas se resumen en la tabla II. En todos ellos pudo completarse la prueba. Ésta fue negativa en 11 casos (68,75%) que no demostraron respuesta tras inhalar la dosis máxima de metacolina (8 mg/ml). En 5 casos (31,25%) los niños presentaron algún signo de positividad a una concentración de metacolina de 8 mg/ml.

Suponiendo un valor de 16 mg/ml para los casos sin respuesta a la metacolina, el valor medio de la PCwheeze del grupo fue de 13,5 mg/ml (intervalo de confianza del 95%, 11,17-15,49). La concentración inferior que provocó una respuesta en nuestra serie sería de 8 mg/ml –calculando un intervalo de referencia del 95% de una cola, mediante un método no paramétrico de percentiles, ya que los valores de metacolina en el grupo control no siguen una distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov:  $p = 0,003$ )–. No hubo relación entre la edad de los niños y la PCwheeze ( $r = 0,01$ ;  $p = 0,98$ ), ni diferencias en la respuesta según el sexo ( $p = 0,6$ ).

La prueba se consideró positiva en 4 casos debido a la aparición de sibilancias traqueobronquiales (en uno junto a disminución de la SaO<sub>2</sub>) y en un caso a descenso aislado de la SaO<sub>2</sub> mayor del 5%. La SaO<sub>2</sub> descendió en los 16 niños un promedio del 3,2% (tabla III) y en ningún caso disminuyó por debajo del 93%. No se detectaron polipnea ni tiraje significativos en ningún caso. El incremento medio de la frecuencia respiratoria fue de 9,3 respiraciones/min (tabla III).

TABLA II  
Características demográficas obtenidas de la anamnesis al inicio del estudio (n = 16)

Edad media (meses)	23,9 ± 12,2
Sexo	
Varones	8 (50%)
Mujeres	8 (50%)
Peso al nacer (g)	3.240,6 ± 465,6
Edad gestacional (semanas)	39,6 ± 1,8
Lactancia materna	14 (87,5%)
Lactancia materna (meses)	5,7 ± 2,7
Asistencia a guardería	9 (56%)
Edad de entrada en guardería (meses)	9,3 ± 11,1
N.º de hermanos	2,25 ± 1,84

Los datos se expresan como media ± desviación estándar o como número de niños (porcentaje).

TABLA III  
Variaciones de la frecuencia respiratoria (FR) y de la saturación de hemoglobina (SaO<sub>2</sub>) con la prueba de broncoprovocación, en los 16 niños del estudio

	FR	SaO <sub>2</sub>
Inicial	26,3 ± 5,6	97,5 ± 0,8
Final	35,6 ± 7,4	94,3 ± 2,3
Variación	+9,3 ± 6,5	-3,2 ± 2,2
p	0,0001	0,0001

Datos expresados como media ± desviación estándar.

Durante la prueba presentaron tos 7 niños, de los que 4 respondieron luego a concentraciones de metacolina de 8 mg/ml. La tos apareció en la concentración previa a la positividad (4 mg/ml). Un niño cuya prueba de provocación fue positiva no presentó tos. En 3 niños ésta apareció en las últimas nebulizaciones, sin que presentaran criterios de positividad. No hubo pues relación entre la aparición de tos y la PCwheeze ( $p = 0,12$ ).

#### Discusión

Hemos demostrado en nuestro estudio que la determinación de la respuesta bronquial a la metacolina utilizando la respiración a volumen corriente y el método modificado de la auscultación es factible y segura para realizar esta prueba a niños sanos menores de 4 años de edad, sin necesidad de recurrir a la sedación. Hemos comprobado que un 68% de los niños no presentan hiperrespuesta bronquial, mientras que aproximadamente un tercio reacciona a la metacolina sólo a la concentración máxima de 8 mg/ml. La prueba se muestra sencilla, y no precisa colaboración activa por parte de los niños.

El método fue factible, pues todos los niños incluidos fueron capaces de realizar la prueba en su totalidad.

Son numerosos los inconvenientes que pueden dificultar la realización de esta prueba en los niños pequeños: la falta de entendimiento de la prueba, la incomodidad que provoca la mascarilla facial necesaria para la nebulización, la sensación irritante que provoca la meta-

colina, junto con la aparición de tos, la sensación de dificultad respiratoria creciente que puede presentar el niño antes de que la prueba sea positiva y el cansancio producido por el tiempo necesario para realizarla. Para salvar estos inconvenientes es fundamental la colaboración de los padres del niño o la niña, que permanecen a su lado, y favorecer un ambiente amigable y de juego. También utilizamos una modificación del protocolo de la ATS<sup>21</sup> para reducir la duración y así mejorar el cumplimiento<sup>22,23</sup>. Según el protocolo de la ATS, el niño debería realizar 10 inhalaciones para llegar al final de la prueba, cosa que difícilmente toleran de forma adecuada los lactantes, sobre todo en las últimas dosis. Para acortar el protocolo se puede: *a*) empezar a una concentración superior de metacolina, dado que la mayoría de respuestas positivas, salvo que los sujetos sean muy hipersensibles, aparece por encima de la concentración de metacolina de 2 mg/ml; *b*) utilizar un incremento de la concentración o dosis en inhalaciones sucesivas superior al habitual, que suele ser del doble de la concentración o dosis anterior, y *c*) disminuir el tiempo de administración de la dosis. De esta forma, se considera que en pacientes con asma bronquial de carácter leve en fase estable que no precisan tratamiento con corticoides inhalados el riesgo de broncoconstricción grave iniciando la prueba con dosis o concentraciones mayores de metacolina es mínimo, mientras que en pacientes inestables es necesario iniciarla con las dosis o concentraciones mínimas<sup>21</sup>.

Dado que los niños sanos tienen un riesgo teóricamente bajo de presentar broncoconstricción, decidimos iniciar el test con una concentración superior (0,5 mg/ml, con inhalación previa del suero salino isotónico) y posteriormente, si no había clínica alguna, se usaron incrementos del doble de la concentración en las siguientes inhalaciones, lo que representa un total de 6 nebulizaciones. Esto favoreció la colaboración de los niños y contribuyó a mejorar el cumplimiento y la motivación. Aunque algunos autores proponen la realización de pruebas de broncoprovocación cortas con menor número de dosis de metacolina, incurren en el riesgo de provocar una broncoconstricción grave<sup>24</sup>. Nosotros, utilizando el protocolo acortado, no tuvimos ningún caso de crisis grave de broncoconstricción ni ninguna disminución importante de la SaO<sub>2</sub>.

La sensación irritante de las vías aéreas que ocasiona la metacolina y que a veces provoca tos puede alterar al niño y/o a la familia. Sin embargo, la tos puede no ser un signo de obstrucción de las vías aéreas. En nuestro trabajo la presentó el 44% de los niños, de forma independiente a la aparición de broncoconstricción. La tos con frecuencia precede a la obstrucción de la vía aérea, a veces aparece en alguna de las nebulizaciones de metacolina de forma aislada y cede al acabar su inhalación. Como señalan algunos autores<sup>16</sup>, posiblemente la tos indique un efecto dosis-respuesta de la metacolina como irritante de los receptores de la tos bronquiales y pulmonares más que un resultado de la broncoconstricción.

Además de factible, la prueba se ha mostrado segura. Para valorar la respuesta a la metacolina, junto a la auscultación hemos añadido al protocolo, como proponen

Springer et al<sup>16</sup>, otros 2 criterios de respuesta: un descenso de la SaO<sub>2</sub> del 5% o superior y el incremento de la frecuencia respiratoria (el doble de la basal o más).

Desde el punto de vista clínico, no se ha objetivado ninguna complicación en las 16 pruebas realizadas en niños sanos. Los 2 descensos de la SaO<sub>2</sub> observados fueron del 93%, se autolimitaron al interrumpir la administración de metacolina y las cifras se normalizaron totalmente tras la nebulización de salbutamol, al igual que ocurrió en los 4 casos que presentaron sibilantes. Estos datos coinciden con otros estudios publicados que consideran también que es una prueba segura<sup>16,25-27</sup>. Únicamente Wilson et al<sup>28</sup>, en un estudio en niños de 5 años, encontraron que este método podía ser peligroso, aunque posteriormente su trabajo ha recibido críticas por parte de varios autores<sup>19,26</sup> debido a problemas en la metodología utilizada que podían llevar a conclusiones equívocas.

La fiabilidad y utilidad de la prueba para valorar la respuesta a la metacolina se han validado previamente en estudios con niños colaboradores, donde se ha observado que la PCwheeze tiene una buena correlación con la PC<sub>20</sub> (mediante espirometría) y es, pues, útil en la evaluación de la hiperrespuesta bronquial<sup>15,17,19,29</sup>. También se ha validado mediante la comparación de los resultados obtenidos con la auscultación con fonendoscopia y el análisis automatizado de sonidos pulmonares, lo que eliminaría la posible subjetividad del observador; también en este caso se ha observado una buena concordancia entre ambas técnicas<sup>25,30</sup>.

Al estudiar la hiperrespuesta bronquial en niños pequeños es esencial disponer de valores de normalidad en los niños sanos. Se ha comentado que los niños pequeños, al tener sus vías aéreas un menor calibre, podrían presentar una reacción aumentada a la metacolina y mostrar una "hiperrespuesta bronquial fisiológica". Otro factor importante que debe considerarse es la diferente dosis de metacolina en relación con el tamaño corporal que pueden recibir los niños pequeños en comparación con los niños mayores y adultos, y entre ellos. Al utilizar siempre una dosis estándar, en lugar de una dosis adaptada por el peso o la superficie corporal, los niños más pequeños recibirían una dosis proporcionalmente mayor, lo que podría hacer que reaccionaran con más intensidad a una misma dosis de metacolina<sup>31</sup>. Sin embargo, en el intervalo de edad que hemos estudiado no hubo diferencias en la respuesta entre los niños de diferentes edades. Sí encontramos que una parte de los niños sanos (un tercio en nuestra serie) puede reaccionar a la metacolina a concentraciones de 8 mg/ml, por lo que debería considerarse, según nuestros datos, una respuesta positiva únicamente por debajo de esta cifra. Estos resultados son similares a los de Guirau et al<sup>32</sup> en niños menores de 2 años; dichos autores proponen un punto de corte de 4 mg/ml para considerar una respuesta positiva.

Por último, es importante utilizar una técnica estandarizada, que tenga en cuenta el tipo de nebulizador, el flujo utilizado y sobre todo la calibración del nebulizador para conseguir un mismo débito<sup>19</sup>. De estos factores puede depender en gran manera la cantidad de metacolina

inhalada y, por tanto, la respuesta final del individuo. La adaptación del protocolo de la ATS<sup>21</sup> facilita utilizar un protocolo estándar en los niños pequeños y obtener resultados comparables entre los diferentes estudios.

Creemos que el método de la auscultación traqueal modificado constituye una técnica segura y fiable para el estudio de la hiperrespuesta bronquial en los niños menores de 4 años sin necesidad de utilizar sedación. Disponer de valores de normalidad en esta edad es un punto de partida para la realización e interpretación de estudios en niños de esta edad afectados de asma bronquial, bronquitis sibilantes u otras enfermedades como la displasia broncopulmonar, lo que permitirá profundizar en su fisiopatología.

## BIBLIOGRAFÍA

- Stein RT, Martínez FD. Asthma phenotypes in childhood: lessons from an epidemiological approach. *Paediatr Respir Rev*. 2004;5: 155-61.
- Martínez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med*. 1995;332:133-8.
- Martínez FD. Development of wheezing disorders and asthma in preschool children. *Pediatrics*. 2002;109:362-7.
- Castro-Rodríguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martínez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:1403-6.
- Plaza Moral V, Álvarez Gutiérrez FJ, Casan Clarà P, Cobos Barroso N, López Viña A, Llauger Rosselló MA, et al. Guía española para el manejo del asma (GEMA). *Arch Bronconeumol*. 2003;39: 3-42.
- Avital A, Noviski N, Bar-Yishay E, Springer C, Levy M, Godfrey S. Nonspecific bronchial reactivity in asthmatic children depends on severity but not on age. *Am Rev Respir Dis*. 1991;144:36-8.
- Palmer LJ, Rye PJ, Gibson NA, Burton PR, Landau L, LeSouef PN. Airway responsiveness in early infancy predicts asthma, lung function, and respiratory symptoms by school age. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:37-42.
- Stick SM, Turner DJ, LeSouef PN. Lung function and bronchial challenges in infants: repeatability of histamine and comparison with methacholine challenges. *Pediatr Pulmonol*. 1993;16:177-83.
- Hall GL, Hantos Z, Wildhaber JH, Petak F, Sly PD. Methacholine responsiveness in infants assessed with low frequency forced oscillation and forced expiration techniques. *Thorax*. 2001;56:42-7.
- Klug B, Bisgaard H. Measurement of lung function in awake 2-4-year-old asthmatic children during methacholine challenge and acute asthma: a comparison of the impulse oscillation technique, the interrupter technique, and transcutaneous measurement of oxygen versus whole-body plethysmography. *Pediatr Pulmonol*. 1996;21:290-300.
- Rusconi F, Gagliardi L, Aston H, Silverman M. Respiratory inductive plethysmography in the evaluation of lower airway obstruction during methacholine challenge in infants. *Pediatr Pulmonol*. 1995;20:396-402.
- Benoist MR, Brouard JJ, Rufin P, Delacourt C, Waernessyckle S, Scheinmann P. Ability of new lung function tests to assess methacholine-induced airway obstruction in infants. *Pediatr Pulmonol*. 1994;18:308-16.
- Mochizuki H, Shigeta M, Arakawa H, Kato M, Tokuyama K, Morikawa A. Bronchial hyperresponsiveness before and after the diagnosis of bronchial asthma in children. *Pediatrics*. 2000;106: 1442-6.
- Delacourt C, Benoist MR, Waernessyckle S, Rufin P, Brouard JJ, De Blic J, et al. Relationship between bronchial responsiveness and clinical evolution in infants who wheeze: a four-year prospective study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:1382-6.
- Avital A, Bar-Yishay E, Springer C, Godfrey S. Bronchial provocation tests in young children using tracheal auscultation. *J Pediatr*. 1988;112:591-4.
- Springer C, Godfrey S, Picard E, Uwyyed K, Rotschild M, Hananya S, et al. Efficacy and safety of methacholine bronchial challenge performed by auscultation in young asthmatic children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:857-60.
- Novinski N, Cohen L, Springer C, Avital A, Godfrey S. Bronchial provocation determined by breath sounds compared with lung function. *Arch Dis Child*. 1991;66:952-5.
- Purohit A, Bohadana A, Kopferschmitt-Kubler MC, Mahr L, Linder J, Pauli G. Lung auscultation in airway challenge testing. *Respir Med*. 1997;91:151-7.
- De Frutos MC, González Pérez-Yarza E, Aldasoro RA, Empananza Knorr JI, Callen BM, Mintegui AJ. Medida de la respuesta bronquial a la metacolina en niños asmáticos mediante la auscultación traqueal. *An Esp Pediatr*. 2002;56:304-9.
- Juniper E, Cockcroft DW, Hargreave F. Histamine and methacholine inhalation tests: tidal breathing method. Laboratory procedure and standardization. 2<sup>nd</sup> ed. Lund: Astra Draco AB; 1994. p. 1-34.
- ATS. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:309-29.
- Cockcroft DW, Marciniuk DD, Hurst TS, Cotton DJ, Laframboise KF, McNab BD, et al. Methacholine challenge: test-shortening procedures. *Chest*. 2001;120:1857-60.
- Izbicki G, Bar-Yishay E. Methacholine inhalation challenge: a shorter, cheaper and safe approach. *Eur Respir J*. 2001;17:46-51.
- Troyanov S, Malo JL, Cartier A, Gaurin D. Frequency and determinants of exaggerated bronchoconstriction during shortened methacholine challenge tests in epidemiological and clinical setups. *Eur Respir J*. 2000;16:9-14.
- Godfrey S, Uwyyed K, Springer C, Avital A. Is clinical wheezing reliable as the endpoint for bronchial challenges in preschool children? *Pediatr Pulmonol*. 2004;37:193-200.
- Yong S, Smith C, Wach R, Kurian M, Primhak R. Methacholine challenge in preschool children: methacholine induced wheeze vs transcutaneous oximetry. *Eur Respir J*. 1999;14:1175-8.
- Bez C, Sach G, Jarisch A, Rosewich M, Reichenbach J, Zielen S. Safety and tolerability of methacholine challenge in infants with recurrent wheeze. *J Asthma*. 2003;40:795-802.
- Wilson NM, Phagoo S, Bridge PD, Silverman M. The measurement of methacholine responsiveness in 5 year old children: 3 methods compared. *Eur Respir J*. 1995;8:364-70.
- Sprickelman A, Schouten J, Heymans H, Van Aald W, Lourens M. Agreement between spirometry and tracheal auscultation in assessing bronchial responsiveness in asthmatic children. *Respir Med*. 1999;93:102-7.
- Beck R, Dickson U, Montgomery GL, Mitchell I. Histamine challenge in young children using computerized lung sounds analysis. *Chest*. 1992;102:759-63.
- Le Souef PN. Can measurements of airway responsiveness be standardized in children? *Eur Respir J*. 1993;6:1085-7.
- Guirau LM, Solé D, Naspitz CK. Bronchoprovocation with methacholine in children under two years old: a follow-up study. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 1997;7:110-4.