

## Punto de corte de la cotinina urinaria y cotinina/creatinina en niños (Cutoff urinary cotinine and cotinine/creatinine in children)

Aura Palencia <sup>1,2</sup> ✉, Gabriela Romero <sup>1,3</sup>, Mary Vespa <sup>2</sup>, Ana Solórzano <sup>2</sup>, Maritza Vargas <sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Unidad de Investigación en Toxicología Molecular, Escuela de Bioanálisis, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela. <sup>2</sup> Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional, Escuela de Bioanálisis, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela. <sup>3</sup> Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Bioanálisis, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

Recibido: 28 de Octubre de 2015.

Aceptado: 15 de Enero de 2016.

Publicado online: 24 de Enero de 2016.

[TRABAJO ORIGINAL]

### Resumen (español)

La cotinina urinaria es el biomarcador más adecuado para valorar la exposición al humo de tabaco ambiental, no obstante el punto de corte para establecer dicha exposición no está bien definido y en la literatura no existe un consenso al respecto, lo cual repercute en la efectiva evaluación de la exposición a dicho contaminante en la población infantil. El objetivo de este trabajo es la propuesta de un punto de corte para la cotinina urinaria determinada a través de Cromatografía líquida de alto rendimiento con detector ultravioleta. Se aplicaron encuestas a los padres y/o representantes de 80 niños, 44 expuestos y 36 no expuestos de una comunidad del municipio Naguanagua, con edades entre 3 a 12 años. En una muestra de orina puntual se determinó el biomarcador y su cociente cotinina/creatinina ( $C_c$ ). Por el comportamiento de la muestra se utilizó estadística no paramétrica. La capacidad discriminante del biomarcador se estableció empleando curvas COR (Característica Operativa del Receptor), a través del cálculo del Índice de Youden. Los resultados muestran mayor concentración de cotinina y  $C_c$  en el grupo de expuestos ( $p=0,001$ ). Empleando las curvas COR, se seleccionó un punto de corte para cotinina  $\geq 21,26 \mu\text{g/L}$  (sensibilidad: 93,0%, especificidad: 47,2%) y  $\geq 10,8 \mu\text{g/g}$  para  $C_c$  (sensibilidad: 93,0% - especificidad: 41,7%). Mediante estos puntos de corte, se observa mayor frecuencia de exposición que la reportada por los padres, evidenciándose la necesidad de discriminar la exposición involuntaria a este contaminante a través de la determinación de biomarcadores.

### Palabras clave (español)

*Humo de tabaco ambiental, cotinina urinaria, punto de corte, exposición infantil*

## Abstract (english)

Urinary cotinine is best suited biomarker for assessing exposure to environmental tobacco smoke (ETS), however the cutoff to establish the exposure is not well defined in the literature and there is no consensus on the matter, which affects the effective evaluation to ETS exposure in children. The objective of this work is the proposal of a cutoff for urinary cotinine determined by high performance liquid chromatography with ultraviolet detector. Parents and/or guardians of 80 children were interviewed, 44 exposed and 36 not exposed in a community in the municipality Naguanagua, aged 3-12 years. Spot urine sample was used to determine biomarker and cotinine/creatinine ratio ( $C/C_c$ ). Nonparametric statistics was used. The discriminatory power of the biomarker was established using a ROC curve (Receiver Operating Characteristic) and Youden's ratio was calculated. Results show higher concentrations of cotinine and  $C/C_c$  in the exposed group ( $p = 0.001$ ). Using ROC curves, we selected a cutoff for cotinine  $\geq 21.26$   $\mu\text{g/L}$  (sensitivity 93.0%, specificity: 47.2%) and  $\geq 10.8$   $\mu\text{g/g}$  for  $C/C_c$  (sensitivity: 93.0% - specificity: 41.7%). Using these cutoffs, there is greater frequency of exposure than that reported by parents, demonstrating the need to discriminate involuntary exposure to this pollutant through the identification of biomarkers.

## Keywords (english)

*Environmental tobacco smoke, urinary cotinine, cutoff, children exposure*

## Introducción

En la actualidad, datos toxicológicos, experimentales y epidemiológicos han establecido que el consumo de tabaco es la principal causa prevenible de morbilidad y mortalidad en el mundo (1). Según el reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicado en el año 2012, para el año 2004 en la República Bolivariana de Venezuela existía 11% de riesgo atribuible de mortalidad por tabaco en adultos (2).

A partir de marzo del 2011, nuestro país se sumó a las iniciativas internacionales de prohibir la contaminación por el humo de tabaco ambiental (HTA) en espacios públicos (3), en concordancia con el artículo 8 de la Ley aprobatoria del convenio Marco de la OMS para el control del tabaco (4). Sin embargo el alcance de esta legislación es limitada pues las personas pueden fumar en sus hogares o automóviles convirtiendo a los niños en la población más vulnerable a este contaminante, y más aun considerando que en nuestro país para el año 2011 se reportó 17 % de prevalencia de tabaquismo en adultos (5).

Este panorama ha impulsado a nivel mundial diversos estudios destinados a establecer la exposición al HTA de manera objetiva en la población infantil a través de la medición de la cotinina (6-9), metabolito de la nicotina, esta es una amina terciaria compuesta por un anillo de piridina y otro de pirrolidina. Aproximadamente entre el 80 y el 90% de la nicotina ingerida o inhalada, es metabolizada por el hígado, riñones y pulmones. La C-oxidación como primera fase del metabolismo produce cotinina, 3-hidroxicotinina y

nornicotina principalmente mediante la enzima codificada por el gen CYP2A6 (10). La nicotina y la cotinina son excretadas vía renal debido a la segunda fase de N- y O-glucuronidación, mediante enzimas como la UDP-glucuronosiltransferasa (UGT), las cuales producen compuestos solubles en agua, un proceso dependiente del pH urinario. La vida media de la cotinina (16-18 horas), es mayor que el de la nicotina (2-3 horas). Las concentraciones urinarias de cotinina son aproximadamente 5 a 10 veces más altas que los niveles en plasma (11). Debido a esto organizaciones como la Fundación para la investigación y prevención del cáncer (FUCA) en Argentina implementó en un estudio la determinación de este metabolito para cuantificar la exposición al HTA en escolares con el fin de delinear estrategias de prevención (12), asimismo asociaciones médicas han sugerido la inclusión de la cotinina en protocolos de evaluación de los pacientes asmáticos (13, 15), considerando que el HTA es un determinante importante en la incidencia y exacerbación del asma (16-18), sin embargo en nuestro país se desconoce la existencia de iniciativas similares.

En las últimas décadas, se han estudiado niveles de decisión o discriminación para valorar la exposición al HTA de biomarcadores no específicos (monóxido de carbono, carboxihemoglobina y tiocianato) (19, 21) y específicos como la cotinina, en distintas matrices biológicas de la población adulta (21, 22) incluyendo embarazadas (23), sin embargo el punto de corte para la cotinina urinaria en niños mediante la técnica HPLC-UV no está bien definido, y en la literatura no existe un consenso al respecto, lo cual repercute en la efectiva evaluación de la

exposición a dicho contaminante intradomiciliario, especialmente en la población infantil.

Lo anteriormente expuesto justifica la determinación del punto de corte para la cotinina y cotinina/creatinina para la técnica implementada en la Unidad de Investigación en Toxicología Molecular de la Escuela de Bioanálisis (Universidad de Carabobo), con el propósito de abordar la realidad de la exposición al HTA en niños de la comunidad Santa Eduvigis del municipio Naguanagua (edo. Carabobo) y estimar la magnitud del problema, con el fin de contribuir a mediano y largo plazo en la planificación y evaluación de las acciones para disminuir el riesgo de contraer enfermedades relacionadas con dicho contaminante.

### **Materiales y métodos**

**Población de estudio.** El estudio fue descriptivo, no experimental y transversal. La población estuvo representada por niños de 3 a 12 años expuestos al HTA de la comunidad Santa Eduvigis (sector I) Municipio Naguanagua (Edo. Carabobo). La muestra estuvo conformada por 44 niños expuestos al HTA en sus hogares en las últimas 48 horas y otro grupo (control) de 36 niños no expuestos. La selección de la muestra (para ambos grupos) se realizó según los siguientes criterios: niños aparentemente sanos sin nefropatía, asma, diabetes u otra patología, en edades comprendida entre 3 y 12 años. Los padres o representantes fueron informados sobre los objetivos del estudio además de la confidencialidad de los resultados y aquellos quienes aceptaron voluntariamente, manifestando por escrito su consentimiento subrogado, en la participación de sus hijos, se les aplicó una encuesta para obtener información sobre su condición de fumador así como aspectos inherentes a la exposición involuntaria al HTA de sus hijos.

**Determinación de cotinina en orina puntual.** Se solicitó una muestra de orina puntual de los niños, que fue congelada a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento en la Unidad de Investigación en Toxicología Molecular (UTM) de la Escuela de Bioanálisis (Universidad de Carabobo). La determinación de cotinina en orina puntual se realizó por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con detector UV según el método de López y col. (24) modificado. Para ello se efectuó doble extracción líquida – líquida como se describe a continuación: 5 mL de orina centrifugada en tubo de vidrio con tapa de rosca, se trató con 1 mL de NaOH 0,5 M y 5 mL de Diclorometano, se agitó por 15 minutos y luego se centrifugó por 5 minutos (1,800 g).

El sobrenadante (capa acuosa) se retomó por aspiración para realizar una nueva extracción siguiendo el procedimiento descrito anteriormente y la capa orgánica se guardó para unirla a la segunda capa orgánica producto de la siguiente extracción. Posteriormente se evaporó el solvente con el equipo Rotaevaporador (Brinkman instrument) a  $37^{\circ}\text{C}$  y protegido de la luz. El extracto se retomó con 500  $\mu\text{L}$  de acetonitrilo grado HPLC (Burdick Jackson) y fue depurado con filtros de nylon tamaño de poro 5 micras, se almacenó en vial ámbar para su posterior inyección en el equipo HPLC.

El equipo empleado fue un cromatógrafo líquido de alta eficiencia marca Perkin Elmer, con bomba binaria y detector UV Perkin Elmer (series 200), Columna Macherey Nagel CC 250/4 Nucleosil 120-5 C18, 5  $\mu\text{m}$ , 25 cm. Las condiciones de la corrida se describen a continuación: longitud de onda 270 nm; temperatura a  $20^{\circ}\text{C}$ ; fase móvil en gradiente de elusión acetonitrilo – buffer fosfato (pH: 6,2) que se incrementó gradualmente de una proporción 50:50 hasta alcanzar la proporción 70:30 respectivamente; flujo 1 ml/min; volumen de inyección 20  $\mu\text{L}$ .

La eliminación de la cotinina urinaria está influenciada por el funcionalismo renal y la hidratación de cada individuo, por esta razón se corrigieron los valores de cotinina en función de la concentración de creatinina urinaria (25), dicho índice se expresó en  $\mu\text{g}$  de cotinina/g de creatinina ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). La creatinina se determinó por el método de Jaffé modificado.

**Análisis estadístico.** Para la caracterización de la muestra se emplearon medidas de tendencia central. Se construyó una tabla de contingencia de doble entrada, para determinar los valores de sensibilidad, de especificidad, y valores predictivos que son las medidas de validez diagnóstica, además se calculó  $\chi^2$  (ji cuadrado) para determinar la relación de dependencia entre el resultado del biomarcador y la exposición real de los individuos con un nivel de confianza de 95%. La capacidad discriminante del biomarcador se estableció construyendo curvas COR (Característica Operativa del Receptor) utilizando el paquete estadístico SPSS 18.0. El umbral de exposición se estableció considerando el Índice Youden (IY) que se calculó con la fórmula:

$$[\text{IY} = \text{sensibilidad} + \text{especificidad} - 1 = \text{S} - (1 - \text{Es})] \quad (26).$$

### **Resultados**

Un grupo de 80 niños fue clasificado como “expuestos o no al HTA” según el reporte de sus padres, en la distribución de la muestra (tabla 1) se

**Tabla 1.** Valores de cotinina, índice cotinina/creatinina ( $C/C$ ) y distribución porcentual de la muestra en estudio según género, grupo etario y exposición al humo de tabaco ambiental (HTA) reportada por los padres.

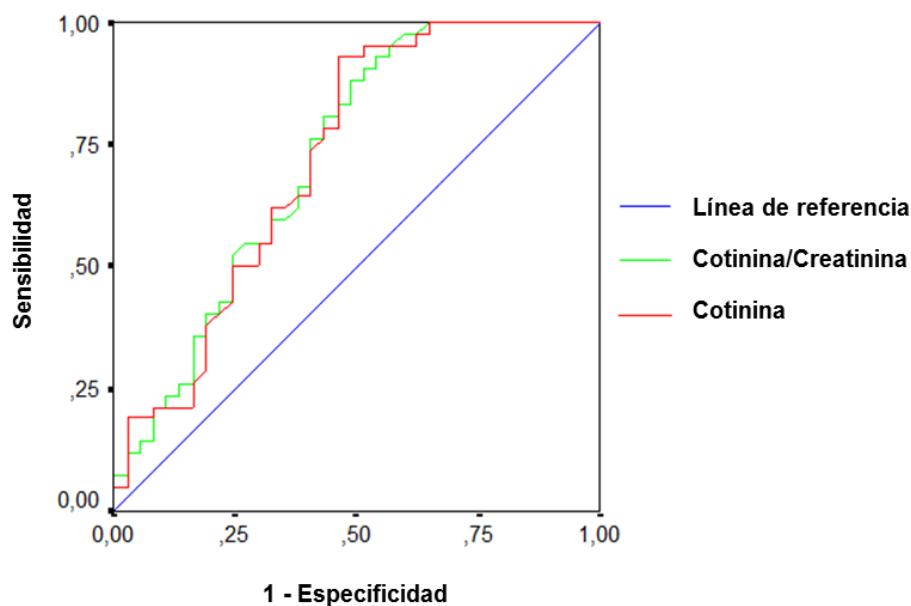
|                            | No expuestos al HTA |                |  |                                       | Expuestos al HTA |                |  |                                       |
|----------------------------|---------------------|----------------|--|---------------------------------------|------------------|----------------|--|---------------------------------------|
|                            | Individuos (n)      | Porcentaje (%) | Cotina $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ | $C/C$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ | Individuos (n)   | Porcentaje (%) | Cotina $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ | $C/C$ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ |
| <b>Género</b>              |                     |                |  |                                       |                  |                |  |                                       |
| Femenino                   | 14                  | 38,9           | 69,5                                   | 85,5                                  | 21               | 47,7           | 106                                    | 148                                   |
| Masculino                  | 22                  | 61,1           | 20,5                                   | 20,5                                  | 23               | 52,3           | 83                                     | 77                                    |
| Total                      | 36                  | 100            |  |                                       | 44               | 100            |  |                                       |
| <b>Grupo etario (años)</b> |                     |                |  |                                       |                  |                |  |                                       |
| 2 – 7                      | 23                  | 63,9           | 33,0                                   | 49,0                                  | 17               | 38,6           | 93                                     | 122                                   |
| 8 – 13                     | 13                  | 36,1           | 15,0                                   | 11,0                                  | 27               | 61,4           | 106                                    | 88                                    |
| Total                      | 36                  | 100            |  |                                       | 44               | 100            |  |                                       |

Los valores de cotinina y de  $C/C$  se corresponden con las medianas de la distribución.

observa predominio del género masculino y del grupo etario con edad  $\leq 7$  años, los valores de cotinina y el índice  $C/C$  resultaron mayores en este grupo etario y en el género femenino.

La curva COR (figura 1) presenta un área bajo la curva (ABC) igual a 0,729 con una significación asintótica  $< 0,001$  e intervalos de 0,614 – 0,843 (95% de confianza) para la cotinina y 0,729 con una significación asintótica  $< 0,001$  e intervalos de 0,616 – 0,843 (95% de confianza) para la cotinina/creatinina. En la tabla 2 se presentan los puntos de corte para cotinina y cotinina/creatinina con sus respectivos índices de Youden (IY).

En atención a lo anterior y obedeciendo el criterio de la definición de sensibilidad, como característica de una prueba que permite identificar a todos los posibles expuestos, extrapolando el concepto de Salech y col. como la razón entre los individuos que tienen un resultado del test positivo y aquellos que tienen la condición o enfermedad de interés (27), en otras palabras, tasa o proporción de verdaderos positivos (28), se otorgó prioridad a la sensibilidad, para aquellos puntos derivados de dicha curva con mayor IY, seleccionando como punto de corte para la cotinina  $\geq 21,26 \mu\text{g}/\text{L}$  (sensibilidad: 93%, especificidad: 47,2%) y  $\geq 10,29 \mu\text{g}/\text{g}$  para  $C/C$



**Figura 1.** Curva COR de la determinación de Cotinina e índice  $C/C$  urinaria por HPLC-UV.

**Tabla 2.** Valores de punto de corte, sensibilidad, 1-especificidad e índice de Youden de la cotinina y cotinina/creatinina (C/C)

| Punto de corte                 | Sensibilidad | 1-Especificidad | Índice de Youden |
|--------------------------------|--------------|-----------------|------------------|
| <b>Cotina</b>                  |              |                 |                  |
| 20,221                         | 0,930        | 0,556           | 0,375            |
| <b>21,267</b>                  | <b>0,930</b> | <b>0,528</b>    | <b>0,402</b>     |
| 26,647                         | 0,930        | 0,500           | 0,430            |
| 31,467                         | 0,907        | 0,500           | 0,407            |
| 36,116                         | 0,907        | 0,444           | 0,463            |
| 39,652                         | 0,884        | 0,444           | 0,439            |
| <b>Cotina/creatinina (C/C)</b> |              |                 |                  |
| <b>10,297</b>                  | <b>0,953</b> | <b>0,583</b>    | <b>0,370</b>     |
| 11,886                         | 0,930        | 0,556           | 0,375            |
| 21,704                         | 0,907        | 0,528           | 0,379            |
| 30,597                         | 0,884        | 0,500           | 0,384            |
| 37,320                         | 0,860        | 0,500           | 0,360            |
| 44,217                         | 0,860        | 0,472           | 0,388            |

Valores cut-off para los biomarcadores en negritas.

(sensibilidad: 95,3% - especificidad: 41,7%), Ahora bien, el empleo de la encuesta como criterio de referencia influye de manera determinante en la especificidad del biomarcador evaluado, dado que es una medida subjetiva de la condición y que puede disminuir la validez del test al parecer que existe un alto porcentaje de falsos positivos, aun así, se empleó como Gold Standard dado que la OMS recomienda las encuestas como técnica para el monitoreo del consumo y exposición al HTA en programas de prevención y control del tabaco (29, 30).

En la tabla 3 se presenta la relación de dependencia entre el resultado del biomarcador y la exposición real (Encuesta) de los individuos con un nivel de confianza de 95%, asimismo se evidencia los valores predictivos para cotinina y C/C con sus intervalos de confianza para el punto de corte seleccionado.

### Discusión

Durante las últimas décadas la sociedad ha adoptado un estilo de vida en el cual prevalece el hábito de fumar, convirtiéndose en la principal causa de aparición de múltiples enfermedades como cáncer, enfisema y enfermedad cardiovascular (30-32), asimismo los niños han pasado a ser un importante grupo de riesgo, cuando conviven con fumadores, sin ejercer la acción directa de fumar pero igualmente poniendo en peligro su salud al exponerse al humo del

tabaco, hecho que se ha ido agravando a pesar de las regulaciones existentes.

La OMS para prevenir y reducir la epidemia tabáquica ha desarrollado la estrategia MPOWER, estas siglas describen las acciones basadas en la monitorización del consumo de tabaco (Monitor), en la protección de la población del humo ambiental del tabaco (Protect), en la oferta de ayuda a los fumadores para dejarlo (Offer), en la advertencia de los peligros del tabaco (Warn), en el cumplimiento de las prohibiciones sobre publicidad, promoción y patrocinio (Enforce) así como en el aumento de los impuestos al tabaco (Raise)(30). Hasta ahora este monitoreo se ha realizado en gran medida a través de métodos indirectos como encuestas, consideramos que esta vigilancia debe complementarse con el control biológico de la exposición ambiental en las poblaciones, pudiendo constituir de este modo una potente herramienta de trabajo para la salud pública (33), en la medida en que se implementen técnicas analíticas que permitan determinar biomarcadores de exposición.

De allí que en la presente investigación se evaluó la validez diagnóstica de la cotinina y el índice Cotinina/Creatinina por HPLC-UV para monitorear la exposición al HTA en niños. La sensibilidad y especificidad obtenidas en la metodología evaluada derivan del punto de corte seleccionado, aun cuando este no corresponde al mayor IY, se consideró la necesidad diagnóstica de la exposición, dado que en las pruebas de cribado, detección o screening, se utilizan en general, pruebas de alta sensibilidad,

**Tabla 3.** Tablas de contingencia y valores predictivos de los biomarcadores asumiendo 21,26 µg/L como punto de corte para cotinina y 10,29 µg/g para el índice Cotinina/Creatinina ( $C/C$ ) tomando como referencia los resultados de la encuesta.

| Biomarcador         |             | Encuesta                               |             |       |
|---------------------|-------------|--|-------------|-------|
|                     |             | Expuesto                               | No Expuesto | total |
| Cotinina            | Expuesto    | 41                                     | 19          | 60    |
|                     | No expuesto | 3                                      | 17          | 20    |
|                     | total       | 44                                     | 36          | 80    |
|                     |             | <b>Likelihood Ratio: 1,766</b>         |             |       |
|                     |             | <b>VPP: 68,33% (IC: 55,02 - 79,71)</b> |             |       |
|                     |             | <b>VPN: 85,00% (IC: 62,14 - 96,80)</b> |             |       |
| Cotinina/creatinina | Expuesto    | 42                                     | 21          | 63    |
|                     | No expuesto | 2                                      | 15          | 17    |
|                     | total       | 44                                     | 36          | 80    |
|                     |             | <b>Likelihood Ratio: 1,636</b>         |             |       |
|                     |             | <b>VPP: 66,67% (IC: 63,60 - 78,07)</b> |             |       |
|                     |             | <b>VPN: 88,24% (IC: 63,59 - 98,54)</b> |             |       |

VPP: Valor predictivo positivo, VPN: Valor predictivo negativo, IC: Intervalos de confianza al 95%. Valores de p según la prueba de Ji cuadrado: Cotinina  $p < 0,001$  y Cotinina/creatinina  $p < 0,0002$ .

mientras que en las confirmatorias se utilizan técnicas de alta especificidad (34), aunado a esto, la calidad de la prueba no debe interpretarse aisladamente, sino que se deben valorar también las acciones que se van a poner en práctica cuando el resultado indique la presencia de la condición, en este caso la exposición. Si el evento puede ser tratado y detectado evitando complicaciones posteriores han de utilizarse pruebas que minimicen el número de falsos negativos, es decir, se elegirán pruebas con alta sensibilidad (28, 34).

Cabe resaltar que la baja especificidad obtenida en la prueba evaluada viene dada por el hecho de emplear la encuesta como Gold Estándar, siendo esto una debilidad del presente estudio. Además es de esperar que la especificidad sea un poco inferior dada la relación de interdependencia que se observa en pruebas con escalas (26), por otra parte, es importante destacar que la separación cromatográfica con detección UV garantiza que lo detectado es el metabolito. Lo ideal sería contrastar los métodos acá empleados con una técnica cromatográfica acoplada a la espectrometría de masas para establecer la especificidad real de dichas técnicas, sin embargo esto supone un costo muy elevado.

Ahora bien, se observó una alta frecuencia de exposición al HTA según lo reportado por los padres en las encuestas, lo que coincide con investigaciones que reportan un rango de 48 – 69% de exposición infantil en el hogar (6-9, 35). Sin embargo, el uso del biomarcador basado en un punto de corte  $\geq 21,27 \mu\text{g.L}^{-1}$  para la cotinina y  $\geq 10,29 \mu\text{g.g}^{-1}$  para el índice C/C permitió evidenciar una frecuencia mayor en la

exposición a la reportada por los padres. De allí que es necesario establecer puntos de corte que discriminen la exposición disminuyendo el solapamiento entre los grupos, especialmente en poblaciones vulnerables como los niños.

En relación a esto, son pocos los estudios en niños que establecen un punto de corte, hecho que se reviste de importancia debido a características particulares como su mayor frecuencia respiratoria y por lo tanto la inhalación de una mayor dosis efectiva del xenobiótico por kilogramo de peso, representando esto una diferencia a la hora de evaluar el nivel de exposición al HTA en dicha población (36). La literatura existente reporta un amplio rango de puntos de corte para la cotinina urinaria para distinguir a los fumadores de los no fumadores adultos, los valores van desde 31,5 hasta 550 ng/ml dependiendo de la técnica y el método empleado (37-41) haciendo consideraciones especiales en embarazadas (23, 38, 42). El punto de corte obtenido en este estudio es ligeramente superior al descrito por Benowitz y col. quienes estimaron un valor urinario de 15 ng/ml basado en la extrapolación de los niveles séricos óptimos para distinguir los fumadores y no fumadores dentro de los diferentes grupos étnicos raciales en los Estados Unidos (43). Zielinska-Danch y col. (38) reportan un valor promedio de cotinina de  $22 \pm 13 \mu\text{g.L}^{-1}$  en no fumadores empleando HPLC-UV, el cual es comparable al cut-off de  $21,27 \mu\text{g.L}^{-1}$  seleccionado en el presente estudio.

Igualmente, el índice Cotinina/Creatinina ( $C/C$ ) ha sido utilizado para determinar la prevalencia del

tabaquismo pasivo, al respecto Keskinoglu y col., reportan un punto de corte de 30 ng.mg<sup>-1</sup> creatinina para establecer la exposición en niños con infecciones del tracto respiratorio y sanos (44), dicho nivel es superior al seleccionado en esta investigación, lo que puede explicarse por los distintos patrones de exposición al HTA entre las poblaciones estudiadas, por cuanto Venezuela presenta menor prevalencia de tabaquismo que Turquía. En este orden de ideas, diversos estudios han referido la influencia de la variación interindividual en el metabolismo de la nicotina y en consecuencia en la tasa de eliminación de cotinina, bien sea por factores genéticos, raza o relacionados con la actividad de la CYP2A6 (45, 46). También se ha señalado variación intraindividual asociado con los días de la semana en que se realiza el muestreo, factores que no se evaluaron en la presente investigación (47).

Balhara y col. (48) en su estudio presentan una sensibilidad de 90% utilizando una técnica de inmunoensayo para discriminar adultos fumadores de no fumadores utilizando como punto de corte un valor de 12,54 ug.L<sup>-1</sup> sin embargo presentan una especificidad menor al 30% con un ABC inferior a 0,5. En este sentido, el ABC obtenida en nuestra curva COR, cumple con los criterios de discriminación aceptable según lo establecido a nivel estadístico (49). Al contrastarla con las reportadas por Balhara y col., Simoni y col., se observa que es superior, lo que podría ser explicado por la menor especificidad de la metodología analítica utilizada por estos investigadores (48,50). El ABC obtenida en estudios en los que se aplicó la separación cromatográfica es superior a 0,7 (7), valor que estadísticamente puede ofrecer la discriminación ideal que permita tomar acciones correctivas pertinentes para evitar la exposición (51, 52). En cuanto al valor predictivo positivo de la cotinina y su índice, en ambos casos fue superior al 65%, mientras que el valor predictivo negativo fue mayor a 80%, esto evidencia que la corrección con creatinina del biomarcador no mejora

en gran medida la eficiencia diagnóstica de la prueba. Es necesario considerar que estos elementos dependen de la prevalencia de la enfermedad en una población, tal como lo señala Donis (26), no así la razón de verosimilitud (Likelihood Ratio), que en este caso resultó ser ligeramente superior en la determinación de cotinina.

Ante las debilidades que supone el diseño del estudio transversal y el uso de la encuesta como criterio referencial, la fortaleza de este estudio es el aporte de un umbral para el diagnóstico objetivo de la exposición al humo de tabaco ambiental en niños de nuestra región, dado que los patrones de exposición en cada población tienen diferencias y lo ideal es contar con puntos de corte propios. Para finalizar, consideramos que en el ámbito toxicológico a diferencia de otras áreas que emplean pruebas diagnósticas para discriminar pacientes sanos versus enfermos, la selección del punto de corte de un metabolito que refleje la dosis interna del xenobiótico al que se está expuesto, además de sustentarse en válidos criterios estadísticos, debe revisarse constantemente y complementarse con la medición de marcadores de efecto y susceptibilidad que valoren integralmente el impacto de la exposición a fin de identificar eficazmente el umbral que suponga el menor riesgo posible para la salud.

La mayoría de los programas de control del tabaquismo a nivel mundial emplean encuestas como indicadores para el establecimiento del consumo o exposición al humo de tabaco, lo cual representa una medida subjetiva del fenómeno. La OMS considera que no hay niveles seguros de exposición al humo del tabaco por lo que es necesario e imprescindible disponer de técnicas analíticas que permitan cuantificarla y establecer puntos de corte que identifiquen la exposición. La selección de este punto de corte debe considerar el perfil de exposición del grupo en estudio

## Referencias

- Centers for Disease Control and Prevention. 2014 Surgeon General's Report: The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress. Atlanta: CDC; 2014. [\[Google Scholar\]](#)
- World Health Organization. Global Report: Mortality attributable to tobacco. Geneva: WHO; 2012. [\[Google Scholar\]](#)
- Ministerio del poder popular para la salud. Resolución 030. Gaceta oficial de la República Bolivariana de Venezuela N° 39627. Caracas: MP; 2011. [\[Google Scholar\]](#)
- World Health Organization. Convenio Marco de la OMS para el control del tabaco, Resolución WHA56.1. Geneva: WHO; 2003. [\[Google Scholar\]](#)
- Ministerio del Poder Popular para la Salud. Norma oficial del Programa antitabáquico. Caracas: MPPS; 2012. [\[Google Scholar\]](#)
- Suárez RG, Galván C, Oliva C, Aquirre-Jaimed C, Vázquez C. Exposición al humo de tabaco del niño asmático y su asociación con la gravedad del asma. *An Pediatr.* 2013; 78: 35-42. [\[Google Scholar\]](#)
- Lupsa IR, Nunes B, Ligocka D, Gurzau AE, Jakubowski M, Casteleyn L, Aerts D, Biot P, Den Hond E, Castaño A, Esteban M,

- Kolossa-Gehring M, Fiddicke U, Knudsen LE, Schoeters G, Reis MF. Urinary cotinine levels and environmental tobacco smoke in mothers and children of Romania, Portugal and Poland within the European human biomonitoring pilot study. *Environ Res.* 2015; 141: 106-17. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Park S, Cho SC, Hong YC, Kim JW, Shin MS, Yoo HJ, Han DH, Cheong JH, Kim BN. Environmental tobacco smoke exposure and children's intelligence at 8-11 years of age. *Environ Health Perspect.* 2014; 122: 1123-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Wang Y, Yang M, Tian L, Chen F, Hu J, Xiao S. Relationship between Caregivers' Smoking at Home and Urinary Levels of Cotinine in Children. *Int J Environ Res Public Health.* 2014; 11: 12499-12513. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Loukola A, Buchwald J, Gupta R, Palviainen T, Hällfors J, Tikkanen E, Kaprio J. A Genome-Wide Association Study of a Biomarker of Nicotine Metabolism. *PLoS Genetics.* 2015; 11: e1005498. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Benowitz NL, Hukkanen J, Jacob P. Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers. *Handbook of experimental pharmacology.* 2009; 192: 29-60. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Ministerio de la Salud de Argentina. La epidemia de Tabaquismo en Argentina. Estrategias de control. Buenos Aires: MSA; 2013. [[Google Scholar](#)]
13. Unión Internacional contra el Cáncer. Reporte: Protejamos a nuestros niños del humo de tabaco ambiental. Geneva: UICC; 2008. [[Google Scholar](#)]
14. Global Initiative for Asthma. Estrategia global para la prevención y manejo del asma, Revisión 2014. Vancouver: GINA; 2014. [[Google Scholar](#)]
15. Grupo de Vías Respiratorias de la Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria. Papel del pediatra de Atención Primaria en el tabaquismo. Madrid: GVR; 2013. [[Google Scholar](#)]
16. Howrylak JA, Spanier AJ, Huang B, Peake RW, Kellogg MD, Sauer H, Kahn RS. Cotinine in Children Admitted for Asthma and Readmission. *Pediatrics.* 2014; 133: e355-e362. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
17. Hassanzad M, Khalilzadeh S, Eslampanah Nobari S, Bloursaz M, Sharifi H, Mohajerani SA, Tashayoi Nejad S, Velayati AA. Cotinine level is associated with asthma severity in passive smoker children. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology.* 2015, 14: 67-73. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
18. Butz AM, Breyse P, Rand C, Curtin-Brosnan J, Eggleston P, Diette GB, Williams D, Bernert JT, Matsui EC. Household smoking behavior: effects on indoor air quality and health of urban children with asthma. *Matern Child Health J.* 2011; 15: 460-468. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
19. Avila-Tang E, Al-Delaimy WK, Ashley DL, Benowitz N, Bernert J, Kim S, Hecht S. Assessing secondhand smoke using biological markers. *Tobacco Control.* 2013; 22: 164-171. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
20. Grijalba A, Uriarte F, Logroño J, Rivero A, García M. Tiocianato en suero y orina y cotinina en orina como marcadores bioquímicos de tabaquismo. *Quim clin.* 2001; 20: 419-424. [[Google Scholar](#)]
21. Sánchez J, Márquez B. Pulsicoximetría, cooximetría en aire espirado y análisis de cotinina en orina en la valoración del consumo de tabaco y factores de riesgo cardiovascular en fumadores en deshabituación [Tesis Doctoral]. Valladolid: Departamento de Medicina, dermatología y Toxicología, Universidad de Valladolid; 2012. [[Google Scholar](#)]
22. Kim S, Apelberg BJ, Avila-Tang E. Utility and Cutoff Value of Hair Nicotine as a Biomarker of Long-Term Tobacco Smoke Exposure, Compared to Salivary Cotinine. *Int J Environ Res Public Health.* 2014; 11: 8368-8382. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
23. Aranda J, Vílchez P, González A, Sánchez F, Luna J. Validez de distintas medidas de consumo de tabaco durante el embarazo: especificidad, sensibilidad y puntos de cortes dónde y cuándo. *Rev. Esp. Salud Pública.* 2008; 82: 535-545. [[Google Scholar](#)]
24. López C, Sassone M, Rodríguez G. Quantification of cotinine in plasma and urine by HPLC-UV detection. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 2004; 27: 2371-79. [[Google Scholar](#)]
25. Coopman M. Corrección de Indicadores Biológicos por Creatinina. ¿Alternativa Correcta? *Ciencia y Trabajo.* 2007; 76-80. [[Google Scholar](#)]
26. Donis J. Evaluación de la validez y confiabilidad de una prueba diagnóstica. *Avan Biomed.* 2012; 1: 73-81. [[Google Scholar](#)]
27. Salech F, Mery V, Larrondo F, Rada G. Estudios que evalúan un test diagnóstico: interpretando sus resultados. *Rev méd Chile.* 2008; 136: 1208-1208. [[Google Scholar](#)]
28. Ruiz R. Eficacia de una prueba diagnóstica: parámetros utilizados en el estudio de un test. *JANO.* 2009; 30-32. [[Google Scholar](#)]
29. OPS/OMS. Encuesta Mundial de Tabaquismo en Jóvenes. Washington: OPS; 2010. [[Google Scholar](#)]
30. World Health Organization. MPOWER: un plan de medidas para hacer retroceder la epidemia de tabaquismo. Geneva: WHO; 2008. [[Google Scholar](#)]
31. Salahuddin S, Prabhakaran D, Roy A. Pathophysiological Mechanisms of Tobacco-Related CVD. *Glob Heart.* 2012; 7: 113-20. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
32. Leon ME, Peruga A, McNeill A, Kralikova E, Guha N, Minozzi S, Espina C, Schüz J. European Code against Cancer, 4th Edition: Tobacco and cancer. *Cancer Epidemiol.* 2015; 39: S20-33. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
33. Arango S. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Rev Fac Nac Salud Pública.* 2012; 30: 75-82. [[Google Scholar](#)]
34. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Evaluación de pruebas diagnósticas. [internet]. 2007 [cited 2015 Dec 14]. Available from: <http://ow.ly/Xbkhi>
35. González F, Takkouche B, Valdés L, Temes E, Leis R, Cabanas R, Rodríguez J, Tojo R. Tabaquismo parental y función pulmonar en niños y adolescentes sanos. *Arch Bronconeumonol.* 2007; 43: 81-85. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
36. Flores A, Iglesias V, Oyarzún M. Exposición al humo de tabaco ambiental: efectos sobre la salud respiratoria infantil. *Neumol Pediatr.* 2011; 16-21. [[Google Scholar](#)]
37. Goniewicz ML, Eisner MD, Laczano-Ponce E, Zielinska-Danch W, Koszowski B, Sobczak A, Havel C, Jacob P, Benowitz NL. Comparison of urine cotinine and the tobacco-specific nitrosamine metabolite 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL) and their ratio to discriminate active from passive smoking. *Nicotine Tob Res.* 2011; 13: 202-8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
38. Zielinska-Danch W, Wardas W, Sobczak A, Szołtysek-Bołdys I. Estimation of urinary cotinine cut-off points distinguishing non-smokers, passive and active smokers. *Biomarkers.* 2007; 12: 484-496. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
39. Yeh E, Levasseur G, Kaiserman MJ. Evaluation of Urinary Cotinine Immunoassay Test Strips Used to Assess Smoking Status. *Nicotine Tob Res.* 2011; 13: 1045. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
40. Kim S, Jung A. Optimum cutoff value of urinary cotinine distinguishing South Korean adult smokers from nonsmokers using data from the KNHANES (2008-2010). *Nicotine Tob Res.* 2013; 15: 1608-16. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
41. Barcelo B, Ruiz O, Puiguiriguer J, Castanyer B. Detección de cotinina para identificar



- intoxicaciones por nicotina: validez de la muestra de orina y establecimiento de un punto de corte del cociente cotinina creatinina. *Rev toxicol.* 2005; 22: 143. [\[Google Scholar\]](#)
42. Mateos-Vílchez PM., Aranda-Regules JM, Díaz-Alonso G, Mesa-Cruz P, Gil-Barcenilla B, Ramos-Monserrat M, Moreno-Peral P, Castro-Barea J, Luna J. Prevalencia de tabaquismo durante el embarazo y factores asociados en Andalucía 2007-2012. *Rev. Esp. Salud Pública.* 2014; 88: 369-381. [\[Google Scholar\]](#)
43. Benowitz NL, Bernert JT, Caraballo RS, Holiday DB, Wang J. Optimal serum cotinine levels for distinguishing cigarette smokers and nonsmokers within different racial/ethnic groups in the United States between 1999 and 2004. *Am J Epidemiol.* 2009; 169: 236-48. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
44. Keskinoglu P, Cimrin D, Aksakoglu G. Relationship between cotinine, lower respiratory tract infection, and eosinophilic cationic protein in children. *Eur J Pediatr Int.* 2007; 166: 455-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
45. Meyer M, Maurer H. Absorption, distribution, metabolism and excretion pharmacogenomics of drugs of abuse. *Pharmacogenomics.* 2011; 12: 215-233. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
46. Ino T, Ohtani T, Yoshimi I. Urinary biomarkers for secondhand smoke. *J Clin Lab Anal.* 2011; 25: 354-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
47. Matt G, Hovell M, Quintana P, Zakarian J, Liles S, Meltzer S. The variability of urinary cotinine levels in young children: Implications for measuring ETS exposure. *Nicotine Tob Res* 2007; 9: 83-92. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
48. Balhara YP, Jain R. A receiver operated curve-based evaluation of change in sensitivity and specificity of cotinine urinalysis for detecting active tobacco use. *J Cancer Res Ther.* 2013; 9:84-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
49. Martínez-Cambolor P. Comparación de pruebas diagnósticas desde la curva ROC. *Rev Colomb Estad.* 2007; 30: 163-167. [\[Google Scholar\]](#)
50. Simoni M, Baldacci S, Puntoni R, Pistelli F, Farchi S, Lo Presti E, Pistelli R, Corbo G, Agabiti N, Basso S, Matteelli G, Di Pede F, Carrozzi L, Forastiere F, Viegi G. Plasma, salivary and urinary cotinine in non-smoker Italian women exposed and unexposed to environmental tobacco smoking (SEASD study). *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44: 632-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
51. Akobeng AK. Understanding diagnostic tests 3: receiver operating characteristic curves. *Acta Paediatr.* 2007; 66:644-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
52. Cerda J, Cifuentes L. Uso de curvas ROC en investigación clínica. Aspectos teórico-prácticos. *Rev Chil Infectol.* 2012; 29: 138-141. [\[Google Scholar\]](#)

**Como citar este artículo:**

Palencia A, Romero G, Vespa M, Solórzano A, Vargas M. Punto de corte de la cotinina urinaria y cotinina/creatinina en niños. *Avan Biomed* 2016; 5: 10-8.