



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISION DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**SECRETARIA DE SALUD**

**INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA**

**MORBILIDAD RESPIRATORIA EN NIÑOS  
EXPUESTOS A TABAQUISMO PASIVO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN:**

**NEUMOLOGIA PEDIATRICA**

**P R E S E N T A:**

**DR. ADONIRAM CARRASCO CASTILLO.**

**TUTORES:**

**DR. FRANCISCO CUEVAS SCHACHT.**

**M. EN C. IGNACIO MORA MAGAÑA.**



**MÉXICO, D.F.**

**2009**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**

**Tesis Digitales**

**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# **MORBILIDAD RESPIRATORIA EN NIÑOS EXPUESTOS A TABAQUISMO PASIVO.**

---

**DR. JOSE N. REYNES MANZUR**  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

---

**DRA. MIRELLA VÁZQUEZ RIVERA**  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO

---

**DR. LORENZO FELIPE PÉREZ FERNÁNDEZ**  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE NEUMOLOGIA PEDIATRICA  
Y CIRUGIA DE TORAX PEDIATRICA

---

**DR. FRANCISCO CUEVAS SCHACHT.**  
TUTOR DE TESIS

---

**M. EN C. IGNACIO MORA MAGAÑA.**  
TUTOR DE TESIS

## DEDICATORIA.

A Dios, de quien dependemos todos.

## DEDICATORIA.

Motivo de mis oraciones, razón de mi perseverancia, Te Amo Hijo.  
Dony.

# Índice

|                                    | Pág. |
|------------------------------------|------|
| 1. Índice.....                     | 4    |
| 2. Resumen estructurado.....       | 5    |
| 3. Antecedentes.....               | 8    |
| 4. Planteamiento del problema..... | 16   |
| 5. Justificación .....             | 17   |
| 6. Hipótesis.....                  | 18   |
| 7. Objetivos.....                  | 18   |
| 8. Material y método.....          | 19   |
| 9. Análisis estadístico.....       | 25   |
| 10. Resultados.....                | 26   |
| 11. Discusión.....                 | 27   |
| 12. Conclusiones.....              | 29   |
| 13. Cronograma.....                | 30   |
| 14. Anexos, tablas y gráficas..... | 31   |
| 15. Referencias.....               | 48   |

# **MORBILIDAD RESPIRATORIA EN NIÑOS EXPUESTOS A TABAQUISMO PASIVO.**

## **RESUMEN ESTRUCTURADO.**

### **ANTECEDENTES.**

El tabaquismo es la segunda causa de muerte y el cuarto factor de riesgo para enfermedad en el mundo.<sup>1</sup> En México se reporta que en la población urbana 26.4% de los individuos de 12 a 65 años de edad eran fumadores, lo que representa casi 14 millones de individuos (13'958,232). Con relación a la población urbana que mencionó estar expuesta involuntariamente al humo del tabaco (constituida por no fumadores y ex-fumadores), se encontró una prevalencia de 36.1% (14'070,264) entre los individuos de 12 a 65 años de edad, con más de la mitad (57.4%) de fumadores pasivos entre los 12 a 29 años de edad, lo que equivale a 8'083,053 personas expuestas involuntariamente al humo del tabaco. Con relación a los fumadores pasivos, el 36.1% de la población urbana se encuentra comprendido en esta categoría, con el mayor porcentaje en la Región Centro (43.7%). La mayor exposición involuntaria al humo de tabaco se registra en la vivienda de los entrevistados en la población rural de la Región Norte (31.9%)<sup>2</sup>. Los cuestionarios se consideran el abordaje preferido para valorar la existencia de exposición al humo del tabaco, ya que estos son un método no invasivo, barato, que se puede utilizar en grandes sectores de población y válido para determinar la exposición a tabaquismo pasivo.<sup>5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13</sup> No hay un biomarcador ideal, sin embargo hasta el momento la cotinina medida en sangre, saliva, orina o cabello parece ser el más específico y sensible de todos.<sup>5, 15, 18, 19</sup> La nicotina es metabolizada a más de 20 diferentes derivados. En humanos 70% de la nicotina se oxida a cotinina, 4% se oxida hacia otras sustancias, 9% se excreta sin metabolizar por la orina y el 17% restante aún se desconoce hacia qué se metaboliza.<sup>18</sup>

### **HIPOTESIS.**

El tabaquismo pasivo incrementa el riesgo de padecer enfermedades respiratorias, especialmente aquellas enfermedades de tipo agudo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS.**

a) TIPO DE ESTUDIO.

Es un estudio prospectivo, transversal, comparativo, observacional.

b) MATERIAL.

CASOS:

Población Objetivo:

Niños comprendidos desde el momento del nacimiento hasta los 12 años.

Pacientes con enfermedades agudas y crónicas de vías aéreas, menores de 12 años de edad.

Población Elegible:

Que acuden a la consulta externa de pediatría y de urgencias, del Instituto Nacional de Pediatría durante el mes de Marzo.

REFERENTES:

Población Objetivo:

Sujetos menores de 12 años de edad, sin patología de vías aéreas.

Población Elegible:

Que asistan a la consulta externa de de pediatría y de urgencias, del Instituto Nacional de Pediatría.

UBICACIÓN DEL ESTUDIO.

El presente estudio se realizará en el Instituto Nacional de Pediatría en los servicios de Consulta Externa de Pediatría y Urgencias.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Pacientes de 0 a 12 años.

Niños y niñas.

CRITERIOS DE EXCLUSION.

Pacientes cuyos padres o tutores se nieguen a responder la encuesta.

Pacientes que sean fumadores activos.

**RESULTADOS.**

En nuestra muestra de población estudiada de 34 pacientes encontramos que 10.8 (34%) fueron del género femenino y 23.1 (68%) del género masculino.

Del total de 34 padre y 34 madres, 9 madres (26.4%) y 12 padres (35.2%) eran fumadores activos al momento del estudio y 70.5% de los niños estaban expuestos por lo menos una vez a la semana por alguna otra persona que no vive en el mismo domicilio.

La encuesta tiene una sensibilidad de 91% y una especificidad de 78%, con un valor predictivo positivo de 67% y valor predictivo negativo de 94%. La

prueba de la tira reactiva para cotinina urinaria muestra mayor utilidad ya que nos dice cerca del 80% de los pacientes que verdaderamente se encuentran expuestos y 91% de aquellos de los que supuestamente no están expuestos.

### **CONCLUSIONES.**

En general la correlación de los cuestionarios con los biomarcadores es de por lo menos 70%. La relación encuesta/tabaquismo pasivo es directamente proporcional a las respuestas afirmativas obtenidas en el interrogatorio.

La encuesta tiene una especificidad menor (78%) que sensibilidad (91%) haciendo evidente la utilidad de la tira reactiva en aquellos casos en que la encuesta resulte con la mayoría de las preguntas negadas.

No se debe olvidar que en el presente estudio el tamaño de la muestra comprende a un estudio piloto y que deberán hacerse estudios con una *n* apropiada.

## **ANTECEDENTES.**

El tabaquismo es la segunda causa de muerte y el cuarto factor de riesgo para enfermedad en el mundo. <sup>i</sup>

La exposición al tabaquismo pasivo es, en la mayoría de los casos, una exposición involuntaria que afecta a un gran porcentaje de la población mundial. Dado que alrededor de más de mil millones de adultos fuman en el mundo la OMS estima que aproximadamente 700 millones o casi la mitad de la población mundial de niños respiran aire contaminado por el humo del tabaco, particularmente en su casa. <sup>1</sup>

En México se reporta que en la población urbana 26.4% de los individuos de 12 a 65 años de edad eran fumadores, lo que representa casi 14 millones de individuos (13'958,232). Con relación a la población urbana que mencionó estar expuesta involuntariamente al humo del tabaco (constituida por no fumadores y ex-fumadores), se encontró una prevalencia de 36.1% (14'070,264) entre los individuos de 12 a 65 años de edad, con más de la mitad (57.4%) de fumadores pasivos entre los 12 a 29 años de edad, lo que equivale a 8'083,053 personas expuestas involuntariamente al humo del tabaco. Con relación a los fumadores pasivos, el 36.1% de la población urbana se encuentra comprendido en esta categoría, con el mayor porcentaje en la Región Centro (43.7%). La mayor exposición involuntaria al humo de tabaco se registra en la vivienda de los entrevistados en la población rural de la Región Norte (31.9%). <sup>ii</sup>

El tabaquismo pasivo (segunda mano), se define como la inhalación involuntaria por no fumadores del humo del tabaco presente en el ambiente y generado por fumadores. <sup>iii</sup> El tabaquismo de segunda mano, es una mezcla compleja de partículas, gases y vapores en la cual se han identificado más de 4,000 sustancias. El humo del cigarro que es aspirado dentro de la boca y vías aéreas, es considerado como corriente principal, mientras que el humo emitido por la combustión de la punta del cigarro que no es aspirado se define como corriente lateral, y es la que se encuentra en mayor cantidad en el ambiente. <sup>iv</sup>

La concentración del humo se relaciona directamente con el número de fumadores en un espacio dado, e inversamente con el tamaño del espacio y la ventilación. Consecuentemente, el rango de exposición en diferentes localidades puede variar grandemente, como se ha observado mediante mediciones directas. La exposición al tabaquismo pasivo en lugares públicos (centros de salud y hospitales, escuelas, transporte públicos, edificios públicos y de gobierno, lugares de trabajo, etc.) depende en su mayoría, de la presencia y acatamiento de las regulaciones sobre el fumar.<sup>1, v</sup>

La evaluación del tabaquismo de segunda mano puede basarse en cuestionarios, que caracterizan la exposición al tabaquismo pasivo; o medición directa ya sea por monitorización personal, del lugar o al usar biomarcadores. El método para obtener o para medir, la exposición a tabaquismo pasivo, depende de los objetivos del estudio. Los cuestionarios pueden medir de manera cualitativa la exposición a tabaquismo pasivo pero no dan información cuantitativa. En contraste los biomarcadores dan una información cuantitativa sobre el grado de exposición al mismo.<sup>5, vi, vii, viii, ix, x, xi, xii, xiii, xiv, xv, xvi</sup>

Al utilizar sólo cuestionarios para evaluar la exposición a tabaquismo pasivo se puede hacer una mala clasificación del verdadero nivel de exposición por ciertos factores como preguntas limitadas en cuanto a la exposición, que el entrevistado no de una información veraz o que ésta no sea exacta; sin embargo se han reconocido estas limitantes y se han tomado medidas para minimizar estos sesgos realizando cuestionarios sencillos y solamente cualitativos.<sup>5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14</sup>

Se han realizado diseños de encuesta y re-encuesta donde se aplica el mismo cuestionario a la misma persona con un intervalo de 6 meses y se ha visto concordancia en cuanto a exposición de hasta 94%, sin embargo la información sobre la cantidad de cigarrillos fumados es menos confiable.<sup>12</sup> Además se ha evaluado la confiabilidad de los cuestionarios cuando la información es provista por otra persona que no es el sujeto de estudio (padres o esposos) y también se ha encontrado una correlación mayor de 93%.<sup>13</sup>

Los métodos utilizados para validar la exposición pasiva al humo del tabaco incluyen: recopilar información de la frecuencia con que los no fumadores

reportan la exposición fuera de su hogar, comparar los niveles de biomarcadores para tabaquismo pasivo entre las personas con parejas fumadoras y no fumadoras y comparar los niveles de nicotina en dentro de los hogares donde hay fumadores y donde no hay no fumadores. Todo esto ya se ha realizado y se ha encontrado que no hay correlación entre el reporte de no exposición y los biomarcadores en cuestionarios que no incluyen preguntas sobre fumadores en el hogar que no son la pareja o los padres y en aquellos que no preguntan sobre exposición fuera del hogar. <sup>5</sup>

También se ha visto que la información detallada en los cuestionarios como la duración de tabaquismo dentro del hogar o número de cigarrillos fumados no proveen información adicional significativa sobre el grado de exposición al humo del tabaco ni son mejores para predecir los niveles de cotinina urinaria respecto a encuestas más sencillas que cuestionan sólo si los padres o alguna otra persona fuma frente al niño y si fuman dentro de la casa. <sup>xvii</sup> Se han diseñado cuestionarios sencillos de 3 a 5 preguntas que han sido validados para determinar la exposición al humo del tabaco en niños con información provista por los padres. En general la correlación de los cuestionarios con los biomarcadores es de por lo menos 70%. <sup>14, 16</sup>

Por todo lo anterior los cuestionarios se consideran el abordaje preferido para valorar la existencia de exposición al humo del tabaco, ya que estos son un método no invasivo, barato, que se puede utilizar en grandes sectores de población y válido para determinar la exposición a tabaquismo pasivo. <sup>5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13</sup>

Los biomarcadores son el método de elección para cuantificar la exposición al humo del tabaco y para predecir los potenciales riesgos de salud de los individuos expuestos. Se han propuesto varios biomarcadores como la nicotina, cotinina, tiocianato, carboxihemoglobina, hidroxiprolina, N-nitrosoprolina, aminas aromáticas y ciertas proteínas o aductos al ADN como el benzopireno. El biomarcador apropiado depende del objetivo del estudio y del tipo de exposición que se está evaluando (reciente o a largo plazo). El National Research Council de los Estados Unidos ha propuesto los siguientes criterios para considerar válido a un biomarcador: a) El marcador debe ser exclusivo o casi exclusivo para el humo del tabaco de manera que otras fuentes sean

mínimas en comparación, b) Debe ser fácilmente detectable, c) Sus niveles de emisión debe ser semejante en todos los productos del tabaco y debe encontrarse en proporción constante con otros componentes del humo de tabaco en una variedad de condiciones encontradas. Además la validez de un biomarcador depende de que la medición la muestra biológica refleje la cantidad de marcador químico inhalado lo cual a su vez puede estar influenciado por diferencias individuales en la velocidad o patrón del metabolismo o excreción, la presencia de otras fuentes (como la dieta) y la sensibilidad y especificidad de los métodos analíticos para su medición. No hay un biomarcador ideal, sin embargo hasta el momento la cotinina medida en sangre, saliva, orina o cabello parece ser el más específico y sensible de todos.

5, 15, xviii, xix La nicotina es metabolizada a más de 20 diferentes derivados. En humanos 70% de la nicotina se oxida a cotinina, 4% se oxida hacia otras sustancias, 9% se excreta sin metabolizar por la orina y el 17% restante aún se desconoce hacia qué se metaboliza.<sup>18</sup>

La nicotina en el aire y la medición de su metabolito, la cotinina, en muestras biológicas cumplen con los criterios mencionados para validar un biomarcador y aunque existe variabilidad interindividual, como en cualquier otro biomarcador, que pudiera limitar el valor de predicciones basadas en mediciones individuales, que en el caso de la cotinina varía su conversión en un rango de 55% a 92%, sin embargo se compensa en estudios hechos con una muestra grande de sujetos como estudios epidemiológicos. Además los niveles de cotinina en no fumadores se han correlacionado con los riesgos de algunas complicaciones relacionadas con la exposición pasiva al humo de tabaco en niños. Por lo anterior la cotinina se considera un biomarcador que provee información válida y cuantitativa de exposición actual al humo del tabaco. La principal limitante al utilizar cotinina es que no mide la exposición a largo plazo lo cual pudiera ser de mayor utilidad en estudios epidemiológicos.<sup>5,</sup>

15

Cuando se utilizan biomarcadores, se prefiere utilizar especímenes biológicos que se puedan obtener de una forma no invasiva.<sup>xx</sup>

En cuanto a la medición de cotinina, la sangre es el espécimen de elección, aunque la saliva y la orina se consideran métodos aceptables. Los niveles de

cotina en plasma y saliva son similares, mientras que la cotina urinaria su valor es 5 a 6 veces mayor que el plasma. La excreción urinaria de cotina es variable entre individuos ya que depende de la función renal, gasto urinario y pH urinario. Los resultados urinarios se expresan en nanogramos de cotina por miligramos de creatinina para poder corregir en parte las diferencias de dilución. Debido a que la cantidad endógena de creatinina producida depende de la masa muscular y por lo tanto del sexo y edad, la excreción individual es variable. Además los niveles bajos de creatinina en los niños pudieran mostrar niveles de cotina urinaria similar a la de fumadores activos. En general es preferible hacer una recolección de orina de 24 horas aunque esto es impráctico para la mayoría de los estudios.<sup>5</sup>

La vida media de la cotina en plasma, saliva y orina es similar, aproximadamente 15 a 19 horas, lo cual la hace un buen marcador de exposición al humo del tabaco en los últimos 2 a 3 días. La vida media es mayor en niños, con un promedio de 65 horas en neonatos, 60 horas en niños menores de 18 meses y 40 horas en niños mayores de 18 meses.<sup>5</sup> La nicotina en cabello se ve menos afectada por las fluctuaciones en la exposición diaria al humo del tabaco (debido al crecimiento lento del cabello) y provee una información sobre la exposición a largo plazo; cada centímetro de cabello representa aproximadamente un mes de exposición, sin embargo los químicos como los decolorantes y la variación interindividual del crecimiento del cabello pueden afectar los niveles de nicotina, además existen dificultades analíticas para extraer y cuantificar la nicotina en laboratorios de una manera reproducible y consistente.<sup>xxi, xxii</sup>

Existen numerosas técnicas analíticas para determinar cotina en diversos especímenes biológicos incluyendo colorimetría; métodos de cromatografía como cromatografía de gases, cromatografía de gases con espectrometría de masas, cromatografía líquida de alto desempeño con siglas en inglés HPLC; radioinmunoensayo e inmunoensayo ligado a enzimas con sus siglas en inglés ELISA).<sup>18, xxiii-xxiv</sup> De los especímenes biológicos para cuantificar cotina, la orina da una concentración del biomarcador más exacta que la saliva con buena correlación utilizando cromatografía de gases, HPLC y ELISA, sin embargo la cotina medida en saliva no muestra buena correlación cuantificada con ELISA con HPLC y cromatografía de gases. Además la

recolección de la muestra de orina es sencilla y se puede analizar inmediatamente o congelarse a -20°C y analizarse después.<sup>21</sup> Cuando se decide congelar la orina es mejor hacerlo inmediatamente después de la recolección de la muestra ya que se ha visto que cuando se congela la muestra después de 24 horas disminuyen las concentraciones de cotinina.<sup>22</sup>

Para la monitorización de la exposición al humo del tabaco en humanos la colorimetría es un buen método ya que es simple, barato y da un estimado del total de metabolitos producidos de la nicotina e inhalados durante la exposición. Sin embargo no tiene especificidad y la concentración en orina tiende a ser mayor que la reportada por cromatografía de gases, además hay medicamentos como la isoniazida, nicotinamida y ácido nicotínico que pueden interferir en la medición colorimétrica. Por lo anterior hay que considerar que la colorimetría no es un método a prueba de errores para monitorizar la exposición al humo del tabaco, pero no deja de ser un buen método ya que es barato, accesible y no invasivo.<sup>21, xxv</sup>

Las técnicas de cromatografía se prefieren sobre los otros métodos ya que son muy sensibles y específicos y pueden analizar nicotina y cotinina en un mismo ensayo; también son menos susceptibles a interferir con factores no específicos, es un método barato y se pueden detectar concentraciones desde 0.1 ng/ml por lo que es el método de elección para cuantificación de cotinina y nicotina en plasma y saliva.<sup>21</sup>

En general se considera que para evaluar la exposición a tabaquismo pasivo lo mejor es utilizar cuestionarios en combinación con biomarcadores ya que éstos sirven para validar la información obtenida por el cuestionario.<sup>5, xxvi, xxvii, xxviii, xxix</sup>

La mayoría de los niños expuestos al humo del tabaco, no eligen estar expuestos. La exposición en los niños es involuntaria, como consecuencia de fumar principalmente por adultos en lugares donde los niños viven, juegan o trabajan.<sup>1</sup>

Además de estos efectos molestos e irritantes, el tabaquismo de segunda mano pone en riesgo la salud de los fumadores pasivos, sean niños o adultos. En los niños se ha asociado al síndrome de muerte súbita y enfermedades

respiratorias severas como neumonía y bronquitis, tos y sibilancias, agravamiento del asma y otitis media. <sup>1, 4, 5, 14, xxx, xxxi, xxxii, xxxiii, xxxiv, xxxv, xxxvi, xxxvii, xxxviii</sup>

La exposición constante al humo del tabaco en niños aumenta el riesgo de enfermedades respiratorias y la combinación de ambas aumentan en 2 a 4 veces el riesgo de presentar sibilancias durante el primer año de vida. <sup>14, 15, 16, 17, 24, 32, xxxix, xl, xli</sup> El tabaquismo de los padres es una causa importante de enfermedades de vías respiratorias inferiores (croup, bronquitis, bronquiolitis y neumonía), los niños que su madre fuma tienen 1.7 mayor riesgo de tener cualquiera de estas enfermedades que los niños de madres que no fuman y el hecho de que sólo el padre fume aumenta en 1.3 veces para las mismas enfermedades. <sup>1, 5, 14, 15, 16, 19, 23, 27</sup> En los niños con diagnóstico de asma el hecho de que los padres fumen se asocia a enfermedad más severa. <sup>1, 4, 5, 14, 15, 16, 19, 22, 23, 24, 32, xlii, xliii, xliv</sup> También se ha visto una mayor utilización de los servicios de salud así como índice de hospitalizaciones para cualquier enfermedad en los hijos de fumadores así como mayor ausentismo escolar por enfermedades respiratorias. <sup>24, 27, 32, xlv, xlvi</sup> En cuanto a la función pulmonar todos los índices espirométricos se encuentran disminuidos en los niños expuestos a tabaquismo pasivo. <sup>1, 4, 5, 15, 16, 22, 23, 24, 27, xlvii, xlviii</sup>

Los estudios epidemiológicos han encontrado una fuerte relación entre la exposición domiciliar al humo del tabaco y la otitis media aguda con y sin derrame, particularmente en niños menores de 2 años; <sup>1, 5, 15, 16, 19</sup> además hay evidencia consistente de que si uno de los padres fuma existe un riesgo de 1.48 para desarrollar otitis media recurrente, hay un riesgo de 1.38 para presentar derrame en oído medio y de 1.21 para cirugía por otitis media con derrame por lo que hay una relación causal entre el tabaquismo de los padres y la otitis media aguda y crónica en niños. <sup>1, 5, 14, 19, 32</sup>

Otro problema de salud importante relacionado con el tabaquismo pasivo es el Síndrome de Muerte Súbita Infantil. En varios estudios se ha encontrado una relación causal entre ambos y se reporta que hay el doble de riesgo de muerte súbita en lactantes con madres fumadoras, sin embargo se necesitan más estudios para diferenciar si la relación es con la exposición prenatal o postnatal o ambas ya que la mayoría de las madres que fuman durante el embarazo

continúan haciéndolo después de éste.<sup>32, xlix</sup> Los últimos estudios ahora que es efectiva la campaña para dormir a los bebés en decúbito dorsal en países desarrollados han reforzado esta relación; el riesgo de muerte súbita con relación a la exposición al humo del tabaco va de 3.3 a 6.0 según el estudio y esta relación es dosis-dependiente, además se reporta que los niños que duermen con su madre también es un factor de riesgo para muerte súbita sólo cuando la madre es fumadora.<sup>1, 5, 14, l, li</sup>

Hay evidencia que en los niños y adultos jóvenes la exposición pasiva al humo del tabaco puede acelerar la evolución de enfermedad cardiovascular, esto es por un deterioro en la capacidad de transporte de oxígeno de las lipoproteínas de alta densidad y posiblemente en la función endotelial.<sup>1, 8, 32, lii</sup> Además se ha visto que los hijos de padres fumadores tiene hábitos saludables deficientes como falta de actividad física y sobrepeso.<sup>liii</sup>

En cuanto a las alteraciones cognitivas y de comportamiento que están bien fundamentadas en múltiples estudios con niños que tuvieron exposición prenatal, ninguno ha logrado demostrarla en niños con exposición postnatal.<sup>1, 5</sup> Aunque se ha demostrado que fumar durante el embarazo se relaciona con peso bajo al nacimiento, no hay estudios que demuestren que la exposición a tabaquismo pasivo en niños tenga algún efecto negativo sobre la talla.<sup>1</sup> Se han hecho estudios grandes para leucemia linfoblástica aguda y tumores de sistema nervioso central, que son los principales tipos de cáncer en niños y no se ha logrado demostrar una asociación entre un aumento en la incidencia de éstos y la exposición al humo del tabaco; en cuanto a otros tipos de cáncer de la infancia no hay estudios con una muestra suficiente para demostrar la asociación.<sup>1, 5</sup>

Aunque existen algunas preguntas, que aún necesitan mayor investigación, existe más que suficiente evidencia del daño para exigir una acción para reducir la exposición involuntaria de los niños al tabaquismo pasivo.

---

---

·  
·

---

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

### **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cómo se asocian las enfermedades de vías respiratorias con la exposición pasiva al humo del tabaco en niños?

## **JUSTIFICACIÓN.**

El tabaquismo pasivo se ha convertido en un problema de salud pública adicional al provocado por el tabaquismo activo. La exposición al humo de tabaco que aparentemente sólo afecta a los fumadores, en realidad también afecta a los no fumadores.

Existe estrecha relación entre los datos obtenidos por medio de la medición de biomarcadores, y la aplicación de encuestas.

La utilización de biomarcadores es en general más costosa y más difícil de llevar a cabo, pues requiere la obtención de muestras ya sean sanguíneas, urinarias o de cabello, en relación a la aplicación de cuestionarios.

Es muy importante disponer de datos objetivos para la promoción de espacios sin humo, y así como para la evaluación de normativas de control del tabaquismo.

En definitiva, creemos que en un momento como el actual, se requiere la implementación de la ley de medidas sanitarias frente al tabaquismo.

## **HIPÓTESIS.**

El tabaquismo pasivo incrementa el riesgo de padecer enfermedades respiratorias, especialmente aquellas enfermedades de tipo agudo.

## **OBJETIVOS.**

### **OBJETIVO GENERAL**

Estimar de manera sencilla el riesgo relacionado con la exposición involuntaria al humo de tabaco y su potencial impacto en la salud del grupo pediátrico.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

Investigar si existe dicha exposición y los daños a la salud en el grupo pediátrico.

Diseminar los resultados para apoyar políticas y programas que reduzcan la exposición a tabaquismo pasivo.

## **MATERIAL Y MÉTODO.**

### **a) TIPO DE ESTUDIO.**

Es un estudio prospectivo, transversal, comparativo, observacional.

### **b) MATERIAL.**

#### **CASOS:**

##### Población Objetivo:

Niños comprendidos desde el momento del nacimiento hasta los 12 años.

Pacientes con enfermedades agudas y crónicas de vías aéreas, menores de 12 años de edad.

##### Población Elegible:

Que acuden a la consulta externa de pediatría y de urgencias, del Instituto Nacional de Pediatría.

#### **REFERENTES:**

##### Población Objetivo:

Sujetos menores de 12 años de edad, sin patología de vías aéreas.

##### Población Elegible:

Que asistan a la consulta externa de de pediatría y de urgencias, del Instituto Nacional de Pediatría durante el mes de Marzo.

#### **UBICACIÓN DEL ESTUDIO.**

El presente estudio se realizará en el Instituto Nacional de Pediatría en los servicios de Consulta Externa de Pediatría y Urgencias.

#### CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Pacientes de 0 a 12 años.

Niños y niñas.

#### CRITERIOS DE EXCLUSION.

Pacientes cuyos padres o tutores se nieguen a responder la encuesta.

Pacientes que sean fumadores activos.

#### c) METODOS:

##### DISEÑO DEL ESTUDIO:

Después de obtenido el consentimiento de uno de los padres o tutores, se aplicará la encuesta que consta de 7 reactivos y se tomará como positiva para exposición a tabaquismo si por lo menos uno de los reactivos es positivo. Anexo 1

La encuesta que se va a aplicar se basa en una encuesta validada en Denver, Colorado, Estados Unidos por Seifert y colaboradores en Agosto de 2000.<sup>8</sup> La encuesta realizada por Seifert consta de 5 preguntas sobre si el padre o la madre fuman, si lo hacen es dentro de la casa y si en algún momento el paciente ha estado expuesto al humo del tabaco durante el último mes. Se aplicó en niños entre 3 meses y 14 años y se observó que si por lo menos una pregunta era positiva, cualquiera que esta fuera, había una correlación del 80% con cotinina urinaria ajustada a creatinina urinaria mayor de 30 ng/mg, que fue el valor de corte, por lo que se validó como un instrumento para documentar si hay o no exposición involuntaria al humo del tabaco en niños.<sup>8</sup> Se tomó este cuestionario y se tradujo, posteriormente se transculturizó. Se agregaron dos preguntas, la primera es si alguien más

que vive con el niño fuma y si lo hace dentro de la casa. Esto se realizó por las características de la población objetivo ya que la mayoría de los pacientes son de nivel socioeconómico bajo y generalmente el tipo de familia es extensa y no tanto nuclear como en el estudio original.

Se clasificará a los pacientes en dos grupos, uno que corresponde a pacientes con enfermedad respiratoria y el segundo con enfermedad no respiratoria. A su vez cada uno de estos grupos, mediante la información obtenida con la aplicación de la encuesta, se dividirá en otros dos, pacientes expuestos y no expuestos a tabaquismo pasivo.

Para la medición de cotinina se utilizará NicAlert™ que es una prueba inmunocromatográfica. Utiliza tecnología patentada (Patentes en Estados Unidos números 5,527,686; 5,710,009; 6,087,185 y 6,121,008). Consta de una tira con un extremo para sumergir en orina que contiene partículas de oro cubiertas con anticuerpos monoclonales contra cotinina, una vez colocada la muestra el oro migra a través de la tira la cual contiene unas trampas donde se van depositando las partículas y se observa claramente un cambio de color que marca de manera semicuantitativa la cantidad de cotinina que contiene la muestra. Se recolectarán 30 ml de orina de cada paciente al que se le aplique la encuesta, la orina es útil si se utiliza hasta 4 horas después de haber sido recolectada. Posterior a esto se sumerge la tira hasta el nivel que viene marcado que aproximadamente un centímetro y se mantiene sumergida por 20 segundos. Se coloca la tira sobre una superficie plana no absorbente y en 15 minutos hasta que desaparece el indicador azul que se encuentra en un extremo opuesto al que fue sumergido y aparece por lo menos una banda roja. La tira cuenta con 7 niveles, el nivel 00 se marca cuando la cotinina urinaria es de 0 a 10 ng/ml y significa que el paciente no es fumador y su exposición a nicotina es nula o mínima; el nivel 11 marca cuando hay de 10 a 30 ng/ml y significa que el paciente es no fumador pero con exposición moderada a nicotina; el nivel 22 marca cuando hay de 30 a 100 ng/ml y significa que el paciente es no fumador pero tiene una exposición elevada a nicotina; el nivel 33 marca de 100 a 200 ng/ml, el nivel 44 marca de 200 a 500 ng/ml, el nivel 55 marca de 500 a 1000 ng/ml y el nivel 66 marca niveles

de cotinina urinaria mayores de 1000 ng/ml, significando estos últimos que se trata de un paciente fumador. Para leer la tira debe de aparecer por lo menos una banda roja en el nivel 00, si no aparece, los resultados no son válidos. Se toma en cuenta el último nivel en el que aparece la banda roja independientemente de si se marca en niveles inferiores o la intensidad de ésta. Anexo 2

Para fines del estudio se tomará como positivo los valores por arriba de 10 ng/ml. La prueba está diseñada para detectar tabaquismo y tiene una sensibilidad de de 100% y especificidad es de 100%. Ésta no hace reacción cruzada con nicotina, nicotinamida ni ácido nicotínico como en otras pruebas colorimétricas por espectrofotometría. Tampoco se ve afectada por la densidad, el pH ni la presencia de sangre, proteínas, bilirrubinas, ácido ascórbico, bacterias ni glucosa en la orina.

#### LIMITANTES

La medición de cotinina urinaria nos da información sobre exposición reciente pero no a largo plazo lo cual nos daría información sobre la exposición habitual. El método utilizado es semicuantitativo sin embargo para propósitos del estudio sólo se requiere saber si hay o no exposición al humo del tabaco.

#### d) DEFINICIONES OPERACIONALES.

##### TABAQUISMO PASIVO

Es la exposición al tabaquismo de segunda mano, que es la inhalación de la mezcla del humo exhalado de la corriente principal, y de la corriente lateral, del tabaco.

Variable cualitativa, nominal y dicotómica. Si/No.

##### ENFERMEDADES DE VIAS REPIRATORIAS

Son las que afectan tanto las vías respiratorias superiores como las inferiores y se incluyen las agudas y crónicas comprendidas en el Código Internacional de Enfermedades (CIE 10, 2007). Además se incluyen la Otitis media aguda y crónica que, aunque no están

catalogadas dentro de las enfermedades de vías respiratorias, son complicaciones de éstas. Anexo 3

Variable cualitativa, nominal y dicotómica. Si/No.

#### ENFERMEDADES NO RESPIRATORIAS

Es toda enfermedad que cuya afección principal no es aparato respiratorio.

Variable cualitativa, nominal y dicotómica. Si/No.

#### COTININA.

La cotinina (1-metil-5-(3-piridinil)-2-pirrolidinona,  $C_{10}H_{12}N_2O$ ) es un metabolito de la nicotina (es decir un producto de su transformación por el organismo), y se utiliza para medir la exposición al humo activo y, sobre todo, al pasivo. La cotinina permanece bastante tiempo en el organismo: sólo después de 20 horas se demedia en la sangre. Es posible dosificarla también en la saliva o en la orina, lo que permite hacer un examen sin extracción de sangre. La concentración media de la cotinina en la orina de los no-fumadores expuestos al humo ambiental ha sido medida en 40 mg/ml. La concentración media en los fumadores activos es más o menos de 1500 mg/ml.

Variable cualitativa, nominal y dicotómica. Si/No.

## TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Debido a que se trata de un piloto el tamaño de la muestra son 34 pacientes, 17 cuyo motivo de consulta sea enfermedad respiratoria y 17 que acudan por una enfermedad no respiratoria. El tamaño de la muestra se calculó usando el método de Poisson el cual se basa en la fórmula descrita por Sahai, 1996: <sup>i</sup>

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 (P_c + \frac{P_n}{k})}{\delta^2}$$

$Z\alpha= 1.96$

$Z\beta= 0.84$

$P_c$ = Proporción esperada del grupo control.

$P_n$ = Proporción esperada del grupo nuevo ( $P_n= P_c*RR$ ).

$k$ = Tasa de asignación del grupo nuevo al grupo control (1 o 2).

$\delta= P_c-P_n$

$RR$ = Riesgo Relativo

$$n= 14$$

$$n= 14*1.2=16.8\approx 17$$

$$n= 17$$

Al número obtenido al calcular el tamaño de la muestra se le agregó el 20% considerando las pérdidas. Si bien es un estudio transversal, y por lo mismo no hay pérdidas, es necesario considerar, la inutilización de cuestionarios o cuestionarios incompletos, por lo cual estamos considerando este incremento muestral.

## **ANALISIS ESTADÍSTICO.**

Se sistematizará la información en una base de datos realizada en Microsoft Excel.

Las variables clínicas y demográficas de cada paciente se registrarán en un formato diseñado ex profeso para la investigación. Anexo 4

Se realizará un análisis univariado para describir cada una de las variables del estudio utilizando medidas de resumen y tendencia central.

La asociación se medirá, Si se trata de dos variables cualitativas, a través de  $\chi^2$  o prueba exacta de Fisher. Si se trata de una variable cualitativa y otra cuantitativa, se medirá a través de t-student ó ANOVA.

## **ÉTICA**

Este estudio corresponde a un estudio con riesgo menor que el mínimo, sin embargo se solicitará a los padres del menor su autorización para la participación por medio de firma de Consentimiento Informado. Anexo 5

---

## RESULTADOS.

Los cuestionarios son considerados como uno de los abordajes preferidos en la valoración de la exposición al humo del tabaco, debido a que son un método no invasivo, más económico, que se puede usar en poblaciones grandes y que es válido para determinar el tabaquismo pasivo.

Comparar los niveles de biomarcadores para tabaquismo pasivo y su correlación con el cuestionario parece ser directamente proporcional entre el número de respuestas afirmativas y el nivel de cotinina urinaria

En nuestra muestra de población estudiada de 34 pacientes encontramos que 10.8 (34%) fueron del género femenino y 23.1 (68%) del género masculino. Grafica 1 y 2.

Del total de 34 padres y 34 madres, 9 madres (26.4%) y 12 padres (35.2%) eran fumadores activos al momento del estudio y 70.5% de los niños estaban expuestos por lo menos una vez a la semana por alguna otra persona que no vive en el mismo domicilio. Sin embargo llama la atención que es gradual el incremento en los niveles de cotinina urinaria según el número de personas con las que se encuentra en contacto el paciente, y aún en aquellos en quienes al momento de la entrevista manifestaban no tener ningún tipo de riesgo o contacto con el humo del tabaco se encontraron niveles leves (10-30 ng/ml) de cotinina en orina. Gráfica 3.

Respecto a la encuesta, muestra que tiene una sensibilidad de 91% y una especificidad de 78%, con un valor predictivo positivo de 67% y valor predictivo negativo de 94% (Tabla 1). Lo que traduce que ante un mayor número de respuestas afirmativas de la encuesta los niveles de cotinina urinaria serán por lo menos positivos independientemente del grado que presenten (leve, moderado o alto) pero no así en aquellas encuestas en las que se obtienen respuestas negativas ya que esto no significa que no se trate de un paciente expuesto al humo del tabaco y por lo tanto un fumador pasivo. En este caso la prueba de la tira reactiva para cotinina urinaria muestra mayor utilidad ya que nos dice cerca del 80% de los pacientes que verdaderamente se encuentran expuestos y 91% de aquellos de los que supuestamente no están expuestos. El valor predictivo positivo (0.67) demuestra que el cuestionario falla en identificar a los pacientes verdaderamente no expuestos al humo del tabaco.

## DISCUSIÓN.

Los cuestionarios practicados a los padres para identificar a niños expuestos a humo de tabaco son ampliamente utilizados en programas de detección oportuna de tabaquismo pasivo, sin embargo en nuestro estudio hemos detectado que hasta un tercio de los padres encuestados probablemente mienten o no están enterados del grado ni tipo de exposición al humo de tabaco en sus hijos, probablemente relacionados a situaciones muy particulares como desconocimiento de las practicas de los cuidadores de niños, tiempo de exposición en la vía publica, o por personas que no viven en el mismo domicilio pero que por algún motivo se ponen en contacto con los pacientes como lo hemos encontrado en nuestro estudio hasta en un 70.5%.

Del total de nuestra muestra 34 (100%) resalta el aspecto y grado de exposición en aquellos pacientes cuyo motivo de consulta fue algún tipo de infección respiratoria 17 (50%) ya que tuvieron los niveles mas altos de cotinina urinaria, y coincidió que fueron los pacientes en quienes ambos padres eran fumadores activos al momento de la encuesta, como lo muestra la Gráficas 5 y 6.

En diversos estudios se ha demostrado que la exposición constante al humo de tabaco incrementa el riesgo de enfermedades respiratorias. El tabaquismo activo en los padres es una causa importante para que sus hijos presenten enfermedades de vías respiratorias inferiores tales como croup, bronquitis, bronquiolitis y neumonía. Los niños que su madre fuma tienen 1.7 mayor riesgo de tener cualquiera de estas enfermedades que los niños de madres que no fuman y el hecho de que sólo el padre fume aumenta en 1.3 veces para las mismas enfermedades. Los niños que padecen asma y sus padres fuman se asocia con enfermedad más severa.<sup>1, 5, 14, 16, 19, 23, 24, 32, i.</sup> En cuanto a la función pulmonar todos los índices espirométricos se encuentran disminuidos en los niños expuestos a tabaquismo pasivo.<sup>1, 4, 5, 15, 16, 22, 23, 24 27, ii, iii</sup>

El uso de tiras reactivas que detecten cotinina urinaria, o algún otro metabolito de la nicotina es de gran utilidad para detectar aquellos pacientes que por razones comentadas anteriormente no es posible detectar como fumadores pasivos, siendo esta una medida útil y de gran valor en el estudio de pacientes que por la

complejidad de enfermedades respiratorias, falta de control o exacerbación de alguna enfermedad respiratoria preexistente. Sin embargo no es factible en aquellos centros de primer nivel de atención, ni con personal medico de primer contacto, siendo el Neumólogo Pediatra el especialista con el perfil apropiado para abordar con este método aquellos pacientes que llegan a solicitar atención médica especializada.

Es apropiado comentar la utilidad diagnostica de un cuestionario validado para niños Vs. Tira reactiva para cotinina urinaria, ante la presencia cada vez mayor de enfermedades respiratorias propiciadas o exacerbadas por la presencia de humo de tabaco, si bien es un tamaño de muestra reducido, este ha sido calculado apropiadamente y permitirá un mejor abordaje posteriormente.

---

## CONCLUSIONES.

El tabaquismo es el cuarto factor de riesgo para enfermedad en el mundo.

Casi la mitad de la población mundial de niños respiran aire contaminado por el humo del tabaco, particularmente en su casa. <sup>1</sup>

Los cuestionarios pueden medir de manera cualitativa la exposición a tabaquismo pasivo.

En general la correlación de los cuestionarios con los biomarcadores es de por lo menos 70%. <sup>14, 16</sup>

El tabaquismo de los padres es una causa importante de enfermedades de vías respiratorias inferiores.

La relación encuesta/tabaquismo pasivo es directamente proporcional a las respuestas afirmativas obtenidas en el interrogatorio.

La encuesta tiene una especificidad menor (78%) que sensibilidad (91%) haciendo evidente la utilidad de la tira reactiva en aquellos casos en que la encuesta resulte con la mayoría de las preguntas negadas.

No se debe olvidar que en el presente estudio el tamaño de la muestra comprende a un estudio piloto y que deberán hacerse estudios con una *n* apropiada.

## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

|                             |                                                                                                             |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NOVIEMBRE-DICIEMBRE DE 2008 | REVISIÓN DE LA LITERATURA                                                                                   |
| Enero-Febrero de 2009       | Diseño del protocolo, presentación del protocolo al comité académico.                                       |
| Marzo- Mayo de 2009         | Presentación del protocolo al comité de investigación.                                                      |
| Junio- Julio de 2009        | Aplicación de encuesta y medición de cotinina. Análisis de la información y presentación del trabajo final. |

## ANEXOS, TABLAS Y GRAFICAS.

### ANEXO 1. Cuestionario.

Morbilidad en niños expuestos a tabaquismo pasivo.  
Servicio de Neumología

Dr. Francisco Cuevas Schacht.  
INP

#### CUESTIONARIO PARA DETECTAR TABAQUISMO PASIVO Morbilidad en niños expuestos a tabaquismo pasivo

**Sr(a) le agradecemos su participación en este estudio cuyo propósito es ver si hay asociación entre el tabaquismo pasivo y las enfermedades respiratorias.**

**Sabemos que usted esta preocupado por la salud de su hijo por lo que le solicitamos que conteste HONESTA y SINCERAMENTE a las siguientes preguntas:**

1. ¿LA MADRE DE \_\_\_\_\_ FUMA ACTUALMENTE?
  - a. SI
  - b. NO
2. ¿DENTRO DE SU HOGAR?
  - a. SI
  - b. NO
3. ¿EL PADRE DE \_\_\_\_\_ FUMA ACTUALMENTE?
  - a. SI
  - b. NO
4. ¿DENTRO DE SU HOGAR?
  - a. SI
  - b. NO
5. ¿ALGUNA DE LAS PERSONAS QUE VIVEN CON \_\_\_\_\_ FUMA ACTUALMENTE?
  - a. SI
  - b. NO
6. ¿DENTRO DE SU HOGAR?
  - a. SI
  - b. NO
7. ¿SU HIJO ESTA EXPUESTO AL HUMO DEL TABACO (CUALQUIER EXPOSICION POR LO MENOS UNA VEZ POR SEMANA) POR ALGUIEN QUE NO VIVA EN SU CASA?
  - a. SI
  - b. NO

Investigador Asociado:

Dr. Adoniram Carrasco Castillo.

### ANEXO 2. Folleto Informativo de NicAlert™.

## NEVER PLACE NICALERT™ STRIP IN MOUTH

### INTENDED USE

NicAlert™ is intended for in vitro diagnostic professional use for the semi-quantitative determination of cotinine in urine for the purpose of determining if an individual has been exposed to tobacco products such as cigarettes, pipes, or chewing tobacco within the past 48 hours. The cutoff concentration for the NicAlert™ test is 100 ng/mL. Second hand smoke exposure (environmental tobacco smoke) may cause a positive result in a non-user of tobacco products. The NicAlert™ Positive and Negative Controls are intended for in vitro diagnostic use for the quality control of the NicAlert™ test.

### BACKGROUND

The knowledge and awareness of the health hazards associated with exposure to tobacco products, especially smoking cigarettes, is well established.<sup>1-5</sup> Cigarette smoking has been identified as one of the most significant causes of death and disease in the U.S. (Surgeon General's Report of the U.S. Public Health Service, Year 2000). Smoking has been cited as being responsible for 87% of deaths from lung cancer, 41% of deaths from coronary heart disease, 18% of deaths from stroke, and 52% of deaths from chronic obstructive pulmonary disease. Significantly elevated risks of disease and death are also associated with other forms of tobacco use such as pipe and cigar smoking and the use of chewing tobacco.

As an adjunct to self-reporting of smoking behavior, and as a more objective approach, the assay of biochemical markers is of established importance. Urinary nicotine is not a reliable indicator of smoking status as it has a comparatively short half-life.<sup>6</sup> Cotinine is a major metabolite of nicotine and it has a relatively long half-life (10-40 hours). Cotinine has been shown to be more sensitive and specific than CO monitoring for measuring smoking status.<sup>7-11</sup> The reference method used for measuring cotinine is Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)<sup>12</sup>, or Liquid Chromatography / Mass Spectrometry (LC/MS/MS)<sup>13</sup>.

### PRINCIPLE OF THE TEST

NicAlert™ is an immunochromatographic assay that uses monoclonal antibody-coated gold particles and a series of avidity traps that allow quantification. It employs patented technologies, (U.S. Patent Nos. 5,527,886; 5,710,009; 6,087,185 and 6,121,038). The sample collection end of the strip contains gold particles coated with monoclonal antibodies to cotinine, a relatively long-lived metabolite of nicotine. The distance the reagent migrates on the strip is shown by a clear color change and provides an accurate measure of the amount of cotinine in the sample.

### MATERIALS PROVIDED

NicAlert™ Strip. Each NicAlert™ test strip is individually packaged in a sealed labeled plastic pouch. Each test strip is composed of the following:

- 5mm X 50mm nitrocellulose impregnated with:
- Mouse monoclonal antibodies reactive to cotinine, conjugated to colloidal gold particles.
- Rabbit anti-mouse polyclonal antibodies reactive to mouse antibodies.
- 1% Cobalt blue dye #2.
- Carboxycotinine, isopropyl carboxymonocotinine, carboxyphenylethylcotinine bromide.
- 50mM sodium phosphate buffer pH 7.2, bulking agents, stabilizers.
- Cotton pads, filters.

### OPTIONAL MATERIALS

#### Controls:

- NicAlert™ Negative Control (cotinine 0 ng/mL)
  - NicAlert™ Low Positive Control (cotinine 400 ng/mL)
  - NicAlert™ High Positive Control (cotinine 2000 ng/mL)
- The NicAlert™ Positive and Negative Controls are human urine-based liquid and are ready to use. These Controls each contain a known concentration of cotinine (Negative: 0 ng/mL; Low Positive: 400 ng/mL; High Positive: 2000 ng/mL). The NicAlert™ Positive Control is prepared by spiking known concentrations of cotinine into the NicAlert™ Negative Control, which is preserved human urine with no detectable amount of cotinine by LC/MS/MS. Negative Control human urine is tested negative for human pathogens (including HIV, HCV, HTLV). The normal concentrations of cotinine in the NicAlert™ Controls are determined and confirmed by LC/MS/MS. See vial labels for expiration date and for opened and closed vial stability.

#### Materials Required But Not Provided:

A timer or clock.  
For urine sample collection a clean, leak-proof, disposable container (urine specimen container) is required.  
For urine samples, latex or rubber gloves are needed for urine collection, and forceps, tweezers or gloves are preferred for holding the strip when dipping it into the urine sample.

### QUALITY CONTROL

Good laboratory practice recommends periodic use of quality control procedures. It is recommended that the NicAlert™ Human Urine Positive and Negative Test Controls be run at least once per day when clinical specimens are tested. The use of controls from other commercial vendors is also recommended. Users should follow the appropriate federal, state and local guidelines concerning the running of external quality controls. The NicAlert™ Positive and Negative Test Controls are intended for in vitro diagnostic use for the quality control of the NicAlert™ test. The NicAlert™ Negative Controls consist of cotinine-free (NicAlert™ Level 0\*) human preserved pathogen-free urine. The NicAlert™ Positive Controls consist of cotinine-free urine spiked with cotinine to concentrations of 400 ng/mL cotinine (Low Positive Control, NicAlert™ level 4\*) and 2000 ng/mL cotinine (High Positive Control, NicAlert™ level 6\*).

| Quantity | Product Description                                                                                               |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 500 µL   | NicAlert™ Negative Control - Preserved human urine tested to be negative for cotinine, verified by LC/MS/MS.      |
| 500 µL   | NicAlert™ Low Positive Control - Preserved human urine containing cotinine 400 ng/mL ± 10%, verified by LC/MS/MS. |
| 500 µL   | NicAlert™ High Positive Control - Preserved human urine containing 2000 ng/mL ± 10%, verified by LC/MS/MS.        |

### STORAGE

Store NicAlert™ at room temperature, out of direct sunlight, in the sealed pouches. The test strips can be used up until the expiration date indicated on the label. Once the package is opened, the strip should be used within 10 minutes. NicAlert™ Positive and Negative Controls should be stored at 2°-8°C. After opening, do not use the Controls if the contents become cloudy or altered in appearance.

### WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Do not put any part of the NicAlert™ strip in your mouth.
- Treat samples as a potential biohazard and discard appropriately after testing.
- Use the NicAlert™ strip within 10 minutes of opening the pouch.
- Discard any samples if contamination is suspected and obtain another sample.
- Do not consume or handle food or drink near the NicAlert™ strip or when performing the test.
- Test samples at room temperature.
- The NicAlert™ strip should not be used on cloudy or pink urine samples.

#### WARNING: NEVER PLACE A NICALERT™ STRIP IN YOUR MOUTH

#### TESTING URINE SAMPLES WITH NICALERT™

##### Before Starting

Before starting, you will need:

- a NicAlert™ strip in its pouch with a valid expiry date;
  - a clean, leak-proof, disposable container for the urine sample;
  - a watch, timer, or clock; and,
  - a clean nonabsorbent surface (such as a countertop or a plastic surface) or which to place the NicAlert™ strip (do not use absorbent materials such as paper towels, etc.).
- You may also prefer to use:
- latex or rubber gloves for urine collection;

- forceps, tweezers or gloves to hold the strip when dipping it into the urine sample.

#### COLLECTING AND STORING THE URINE SAMPLE

**Caution:** Handle any urine sample as if it was a potential biohazard. Discard appropriately after testing.

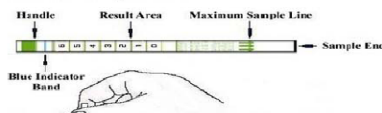
- Use a clean leak-proof, disposable container such as a urine specimen container. Label the container if more than one person is being tested at a time. Do not re-use containers. Dispose of containers after use.
- Collect approximately 25 mL (1 fluid oz.) of urine. The person providing the sample should wash his or her hands both before and after providing the sample. The person should collect a mid-stream sample by collecting the sample after a few seconds of the start of urination. If needed, use latex or rubber gloves.
- Visually check the urine sample for signs of contamination (foreign material such as bathroom tissue or hair, cloudiness, particles, blood, etc.). Do not use the sample if contamination is suspected and obtain another sample instead.
- Test the sample within 4 hours of collection. Urine samples can be stored for up to 3 days if refrigerated at 35° F (4° C) immediately after collection or stored indefinitely if frozen at -20° F (-20° C) immediately after collection. Use a screw top tube or similar sealed container for storage. Allow refrigerated or frozen samples to reach room temperature before testing.

#### OPENING THE SEALED NICALERT™ PLASTIC POUCH

- Open the NicAlert™ pouch by tearing at the slit on the end.
- Remove the NicAlert™ strip and lay the strip on a flat dry surface.
- Use the NicAlert™ strip within 10 minutes of opening the pouch.

#### TESTING THE URINE SAMPLE WITH NICALERT™

##### NicAlert™ Strip (Urine Test)



- Holding strip by the handle, dip the sample end (the exposed soft cotton end of the strip) into the urine sample to a depth of 1/2 inch (1 cm) holding the strip with forceps, tweezers or gloves if preferred. Do not immerse the strip lower than the maximum sample line on the strip.
- Hold the strip in the urine for twenty seconds. Do not over-saturate.
- Remove the strip and lay it flat on a nonabsorbent surface to develop for approximately 10 to 15 minutes until the blue indicator band (Figure 2) substantially fades or disappears. During this period, you should see at least one reddish band appear in the numbered white zones in the strip.

#### HOW TO READ AND INTERPRET NICALERT™ RESULTS FOR URINE SAMPLES

- A reddish color must appear in at least one of the numbered zones (Levels 0 – 6) on the strip and there must not be any noticeable color in the area between the sample end (the exposed soft cotton end of the strip) and Level 0. Otherwise the results are not valid and the test must be repeated with a new NicAlert™ strip. If the color appears as an indistinct smear throughout the strip, the results are not valid and the test must be repeated with a new NicAlert™ strip.
- The lowest numbered zone (Level 0 – 6) on the strip with a reddish color in it. This lowest level is the NicAlert™ test result. Note: The strip may have more than one level in which there is a reddish band or color. Different levels may have different shades or colors in them. The presence of a reddish color in the lowest numbered level is the test result (see Figure 2).
- The NicAlert™ test result is the lowest numbered level on the strip with a reddish band or color in it. If there is doubt as to the lowest level, express the result as a range of 2 levels, eg. "1-2" or "5-6," etc., or repeat the test. Note: The lowest band is not always the darkest band.
- For urine samples, a NicAlert™ result of:
  - Level 3 or higher (Level 4, 5, or 6) indicates use of tobacco products;
  - Level 0 indicates no detectable level of cotinine or tobacco product use;
  - Levels 1 (10-30 ng/mL) and Level 2 (30-100 ng/mL) indicate no use of tobacco products.
  - A borderline result at the cutoff (i.e. NicAlert™ level "2-3") could be a smoker or a non-smoker. Repeat testing with another urine sample is recommended.

#### EXPRESSING THE NICALERT™ TEST RESULTS AS COTININE CONCENTRATION RANGES

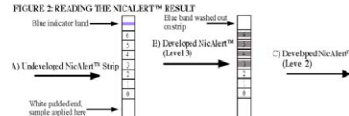


TABLE 1: COTININE CONCENTRATIONS FOR EACH LEVEL

| Level | Cotinine Concentration (ng/mL)       | Interpretation (See "Clinical Studies" below) |
|-------|--------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 0     | 1-10                                 | Non-user of tobacco products                  |
| 1     | 10-30                                | Non-user of tobacco products                  |
| 2     | 30-100 (Below the cutoff, negative)  | Non-user of tobacco products                  |
| 3     | 100-250 (Above the cutoff, positive) | User of tobacco products                      |
| 4     | 200-500                              | User of tobacco products                      |
| 5     | 500-1000                             | User of tobacco products                      |
| 6     | >1000                                | User of tobacco products                      |

#### LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

NicAlert™ is only for use with human urine. A positive result indicates tobacco product exposure and the presence of cotinine in the sample. Erroneous results can be caused by technical or procedural errors or by adulteration or contamination of the sample. NicAlert™ should not be used if the urine is dark, red, or otherwise abnormally colored. The test should be delayed until the urine is clear and normal in appearance. The assay provides only a preliminary result. Clinical consideration and professional judgment must be applied to any test result, particularly in evaluating a preliminary positive result. In order to obtain a confirmed analytical result, a more specific alternate chemical method is needed. Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) is the preferred confirmation method.

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

##### Stability

Stability testing has demonstrated that NicAlert™ strips have a shelf life of at least two years when stored at ambient temperatures.

#### Limit of Detection

The lower limit of detection of the NicAlert™ test was determined by the addition of various amounts of cotinine (50 ng/mL, 25 ng/mL, 10 ng/mL, 5 ng/mL, confirmed by mass spectrometry) to aliquots of human urine obtained from non-users of tobacco products (spiked negative (C-) urine). Results from three lots in duplicate were read by three trained individuals. The lowest cotinine concentration at which a clearly discernible reading ("1") was visible in 100% of test runs was 10 ng/mL.

#### Accuracy and Cutpoint

Urine samples (N = 174) from smokers (N = 181) and non-smokers (N = 55) were collected from patients at 4 point of care (POC) sites (medical clinics). Individuals were classified as: A) Smokers and other tobacco product users (such as users of chewing tobacco), and, B) Non-smokers, on the basis of self-reporting by questionnaire. The inclusion criteria for smokers were: any individual who self-reported to have consumed any amount and any type of tobacco product (cigarettes, cigars, or chewing tobacco) within 48 hours prior to collection of the sample. The inclusion criteria for non-smokers were: any individual who self-reported not to have consumed any tobacco products within 2 months prior to collection of the sample. Exposure to second hand smoke was not considered during enrollment. The samples were tested at 4 sites by a total of 7 different, non-laboratory individuals (2, 2, 2, and 1 individuals per site). Urine samples were assayed for cotinine by liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS/MS) (N = 167), and by gas chromatography. The distribution of NicAlert™ results compared to LC/MS/MS (N = 167) according to smoker versus non-smoker is summarized in Table 2.

TABLE 2: ACCURACY STUDY RESULTS

#### A. Non-Smokers

| Cotinine Concentration by LC/MS/MS (ng/mL) | Number of Samples | NicAlert™ Reading of "0" | NicAlert™ Reading of "1" | NicAlert™ Reading of "2" |
|--------------------------------------------|-------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Not detected                               | 30                | 24                       | 6                        | 0                        |
| <10                                        | 13                | 0                        | 0                        | 1                        |
| <10                                        | 6                 | 2                        | 2                        | 2                        |
| 31-110                                     | 1                 | 0                        | 0                        | 1                        |

#### D. Smokers

| Cotinine Concentration by LC/MS/MS (ng/mL) | Number of Samples | NicAlert™ Reading of "0" | NicAlert™ Reading of "1" | NicAlert™ Reading of "2" | NicAlert™ Reading of "3" | NicAlert™ Reading of "4" | NicAlert™ Reading of "5" | NicAlert™ Reading of "6" |
|--------------------------------------------|-------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <10                                        | 2                 | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| <10                                        | 4                 | 3                        | 1                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| <10                                        | 8                 | 0                        | 2                        | 3                        | 1                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| 11-30                                      | 8                 | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| 31-110                                     | 12                | 0                        | 2                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 1                        |
| 111-200                                    | 14                | 0                        | 0                        | 0                        | 1                        | 3                        | 7                        | 3                        |
| 201-500                                    | 20                | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 2                        | 7                        | 15                       |
| 501-1000                                   | 41                | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 1                        | 3                        | 35                       |
| >1000                                      | 10                | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 2                        | 8                        |

#### Cross Reactors

NicAlert™ detects cotinine, a metabolite of nicotine, in urine. The following structurally-related compounds were tested for cross-reactivity at concentrations up to and including 100,000 ng/mL.

| Compound               | Concentration Tested, ng/mL | % Cross Reactivity |
|------------------------|-----------------------------|--------------------|
| Niacinamide            | 100,000                     | n.d.               |
| Nicotine               | 100,000                     | n.d.               |
| Nicotinic Acid         | 100,000                     | n.d.               |
| Nicotinic Acid N-Oxide | 100,000                     | n.d.               |

n.d. = not detected

3-OH cotinine is a known cross-reactant with cotinine in immunoassays. 3-OH cotinine was spiked into cotinine negative ("0" NicAlert™) urine at the following concentrations: 50 ng/mL, 150 ng/mL, 250 ng/mL, 750 ng/mL, and 1200 ng/mL. 3-OH cotinine showed a 12-41% cross-reactivity with cotinine in the NicAlert™ assay.

#### Interference Studies

The following additional compounds were added to normal human urine negative for cotinine ("0" NicAlert™), and tested for cross-reactivity at concentrations of 10,000 ng/mL and 100,000 ng/mL. The added compounds were also tested for cross-reactivity at the above concentrations (10,000 and 100,000 ng/mL) when added to urine spiked with cotinine at the following concentrations: 50 ng/mL (NicAlert™ "2", negative), 150 ng/mL (NicAlert™ "3", positive), and 1500 ng/mL (NicAlert™ "5", positive). Additional compounds tested for cross-reactivity included: aspirin, acetaminophen (Tylenol), ibuprofen, penicillin, caffeine, niacin, phenylamine, brompheniramine, chlorpheniramine. The results were compared to controls obtained for unadulterated, spiked normal human urine. The substance was considered not to interfere if there was no change in the NicAlert™ reading as compared to the control materials. Using these criteria, none of the substances were found to have a positive or a negative effect on the NicAlert™ readings at the levels tested. The effects of other interfering substances and variables were examined in the NicAlert™ test. Ascorbic acid, pH, specific gravity, bacteria, penicillin, ibuprofen, and glucose were spiked into urine containing 3, 100, 750, and 1500 ng/mL cotinine. The results were compared to controls obtained for unadulterated, spiked normal human urine. The substance or variable was considered not to interfere if there was no change in the NicAlert™ reading as compared to the control materials. Using these criteria, none of the substances or variables were found to have a positive or negative effect on the NicAlert™ readings.

| Interferent      | Level Tested        |
|------------------|---------------------|
| Ascorbic Acid    | 10, 20, 50 mg/dL    |
| pH               | 4, 5, 7, 8          |
| Specific Gravity | 1.000, 1.015, 1.030 |
| Penicillin       | 25, 100, 750 mg/dL  |
| Hemoglobin       | 0.3, 0.1 mg/dL      |
| Diuretic         | 5 mg/dL             |
| Glucose          | 10, 100, 500 mg/dL  |
| Bacteria         | (-) and (+)         |

It is possible that other substances and / or factors not listed above may interfere with the test and cause false results, e.g., technical or procedural errors.

#### Reproducibility Studies

At each of three clinical sites, assay precision near the cutoff level was assessed by examining the performance of the NicAlert™ test in duplicate samples on four separate occasions from each of two lots of 5 urine specimens provided by Nymox, consisting of spiked urines near the cutoff level (50 ng/mL (NicAlert™ "2"), 75 ng/mL (NicAlert™ "2"), 125 ng/mL (NicAlert™ "3"), 150 ng/mL (NicAlert™ "3").

At three sites, a total of four untrained non-laboratory individuals (consisting of nurses and paramedical workers) performed the NicAlert™ test under blinded random code to establish assay precision near the cutoff. The operators read 100% of the 125 ng/mL samples as NicAlert™ "3" (positive, above the cutoff) and 52.5% of the 50 ng/mL samples as NicAlert™ "2" (negative, below the cutoff), indicating an overall assay precision near the cutoff (50 ng/mL (NicAlert™ "2", below the cutoff) and 125 ng/mL (NicAlert™ "3", above the cutoff) of 56.4%. (Data summarized in Table 3, below).

Cotinine free urine (NicAlert™ Level "2") samples were spiked with known amounts of cotinine. All samples were confirmed by mass spectrometry (LC/MS/MS). Table 3 includes precision and recovery studies from readings performed by a total of 8 individuals on a total of 551 samples.

TABLE 3: REPRODUCIBILITY STUDIES

| Concentration | Number of Positives (NicAlert™ level reading of 3 or higher) | Number of Negatives (NicAlert™ level reading of 2 or lower) |
|---------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| 0 ng/mL       | 0                                                            | 60                                                          |
| 20 ng/mL      | 0                                                            | 60                                                          |
| 50 ng/mL      | 9                                                            | 14                                                          |
| 125 ng/mL     | 128                                                          | 0                                                           |
| 250 ng/mL     | 60                                                           | 0                                                           |
| 750 ng/mL     | 60                                                           | 0                                                           |
| 1500 ng/mL    | 60                                                           | 0                                                           |

\* These studies were performed by Nymox.

\*\* Theco concentrations were performed by POC personnel

#### REFERENCES

- Centers for Disease Control and Prevention. Reducing the Health Consequences of Smoking: 25 Years of Progress. A Report of the Surgeon General. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1989.
- World Health Organization. The World Health Report 1989. Making a Difference. Chapter 5. Combating the Tobacco Epidemic. World Health Report. Geneva, Switzerland 1989.
- Centers for Disease Control and Prevention. Cigarette Smoking-Attributable Mortality and Years of Potential Life Lost: United States, 1950, 1963 MMWR 1993; 42:33, 645-9.
- Centers for Disease Control and Prevention. Reducing Tobacco Use: A Report of the Surgeon General. US Department of Health and Human Services. CDC, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2000.
- Centers for Disease Control and Prevention. Preventing Tobacco Use Among Young People: A Report of the Surgeon General. US Department of Health and Human Services, CDC, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 1994.
- Centers for Disease Control and Prevention. The Health Consequences of Smoking: Nicotine Addiction. A Report of the Surgeon General. US Department of Health and Human Services, CDC, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 1988.
- U.S. Department of Health and Human Services. Healthy People 2010 (2nd ed.), Chapter 27. Tobacco Use. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, November 2000.
- Centers for Disease Control and Prevention. National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. US Department of Health and Human Services, CDC, National Center for Environmental Health, 2001.
- Kenowitz NL. "Biomarkers of Environmental Tobacco Smoke Exposure." Environ Health Perspect 107 Suppl 2: 349-55, 1999.
- Poirer R, Whitfield JS, Poulet V, Eckhardt JF, Richmond R, Hanley WJ. Carboxyhaemoglobin, cotinine and thiocyanate assays compared for distinguishing smokers from non-smokers. Clin Chem 1981; 30:1377-1380.
- Janve MJ, Tunstall-Pedoe H, Feyereisen C, Vesey C, Salcoose Y. Comparison of tests used to distinguish smokers from non-smokers. Brit J Public Health 1997; 77:1435-1438.
- Coffin A. A comparison of three methodologies to detect the presence of cotinine in urine. International Colloquium on Prospective Biology. Nancy/France 1988.
- Flisatich J. Urinary Cotinine. Clin Chem News 1991; 11. Flisatich J, Lenda R. Chromatographic immunoassay device and method utilizing particle valency for quantitation. PCTUS97/05077.
- Jacob, III, P. and Byrd, G.D. "Use of gas chromatographic and mass spectrometric techniques for the determination of nicotine and metabolites." pp 131-234. In: Analytical Determination of Narcotics and Related Compounds and Their Metabolites. Ed: Simon, J.W. and Jacob III, P. Elsevier 1995.
- Emmert J.T., Turner W.E., Pirko J.L., et al. Development and measurement of a sensitive measurement of serum cotinine in both smokers and non-smokers by liquid chromatography / atmospheric pressure ionization tandem mass spectrometry. Clin. Chem. 1997; 43:2261-2291.



Nymox Pharmaceutical Corporation



9500 Cavendish Blvd., St. Laurent, QC Canada H4M 2V2

777 Terrace Ave., Hasbrouck Heights, NJ, USA, 07604

1.800.934.NYMOX

1.514.332.3222

Fax 1.514.332.2227

Email: [nicalert@nymox.com](mailto:nicalert@nymox.com) and [info@nymox.com](mailto:info@nymox.com)

Web: <http://www.nymox.com>



CEPartner4U, Ecdroomleion 13,395/DB Maarn. The Netherlands.

Tel: +31 (0)6.616.536.26

### **ANEXO 3. Enfermedades respiratorias comprendidas en el CIE 10.**

#### **J00. RINOFARINGITIS AGUDA (RESFRIADO COMUN)**

Es una inflamación de la mucosa de la nariz y faringe que se caracteriza por congestión nasal y rinorrea, aunque se puede acompañar de odinofagia, estornudos y tos.

#### **J01. SINUSITIS AGUDA**

Es una infección de uno o más de los senos paranasales los cuales son normalmente estériles. La infección aguda implica la presencia de signos y síntomas que duran cuatro semanas o menos; y el seno maxilar es el más frecuentemente afectado.

#### **J02. FARINGITIS AGUDA**

Es un proceso inflamatorio difuso de los folículos linfoides de la faringe, con participación de las estructuras subyacentes. Dada la continuidad anatómica suelen afectarse zonas tales como las amígdalas (amigdalitis), la mucosa nasal (rinitis), la úvula y el paladar blando.

#### **J03. AMIGDALITIS AGUDA.**

Es una enfermedad que engloba de manera inespecífica la inflamación de la orofaringe y de las formaciones linfoides de la orofaringe, las tonsilas o amígdalas palatinas, apareciendo habitualmente en la clínica en forma de faringoamigdalitis aguda.

#### **J04. 0. LARINGITIS AGUDA**

La laringitis es la inflamación de la membrana mucosa de la laringe, con inflamación de las cuerdas vocales y afonía o pérdida de la voz.

#### **J04.1. TRAQUEITIS**

Es una inflamación secundaria a infección viral o bacteriana, de la tráquea que se caracteriza clínicamente con estridor inspiratorio, tos perruna y ronquera pero con fiebre elevada, apariencia tóxica y la dificultad respiratoria se instala rápidamente.

#### J05. 0. CROUP (LARINGOTRAQUEOBRONQUITIS).

Es una enfermedad infecciosa aguda de etiología viral que afecta fundamentalmente a la laringe y a las estructuras que se localizan por debajo de las cuerdas vocales, en donde los tejidos blandos subglóticos inflamados producen obstrucción de la vía aérea en grado variable. Se caracteriza clínicamente por tos perruna, estridor inspiratorio y ronquera.

#### J05.1.EPIGLOTITIS

Es una inflamación secundaria a infección, usualmente bacteriana, de la epiglotis y estructuras adyacentes incluyendo los pliegues ariepiglóticos. Se caracteriza clínicamente por ronquera, sialorrea, apariencia tóxica y dificultad respiratoria de rápida evolución.

#### J12, J13, J14, J15 Y J16. NEUMONÍA

Es la inflamación del tejido pulmonar que abarca grandes áreas, (segmentos o lóbulos). Puede desarrollarse en los alvéolos (neumonía alveolar o genuina), o en el intersticio (neumonía intersticial o neumonitis). La triada clínica son fiebre, tos y polipnea. La etiología puede ser viral (J12), bacteriana (J15) siendo los agentes causales más comunes *S. pneumoniae* (J13) y *H. influenzae* (J14) así como hongos y otros organismos (J16).

#### J18.0 BRONCONEUMONIA

En la bronconeumonía están afectadas áreas dispersas del tejido pulmonar, empezando por los bronquios y extendiéndose a uno o varios lóbulos pulmonares, además de existir, por lo general, una bronquitis superpuesta, que casi siempre es la causa inicial de la neumonía. El síntoma característico es la emisión de gran cantidad de esputos de coloración amarilla o verdosa; la fiebre es menos elevada que en el caso de la neumonía lobular y la tos se acompaña de expectoración.

#### J20. BRONQUITIS

Es una enfermedad febril generalmente precedida por infección de vías respiratorias superiores caracterizada por la presencia de tos y estertores roncantes secundario a una inflamación de las vías respiratorias inferiores (tráquea y bronquios).

#### J21. BRONQUIOLITIS

Es una inflamación de los bronquiolos, usualmente como resultado de una infección viral, que se caracteriza clínicamente por polipnea, dificultad respiratoria y sibilancias.

#### J30.0. RINITIS VASOMOTORA

Es un estado patológico con presencia crónica de rinitis caracterizado por episodios intermitentes de episodios de estornudos, rinorrea y congestión de los vasos sanguíneos de la membrana mucosa nasal. Todo esto no asociado a infección ni a alergia, por lo que también se conoce como rinitis no alérgica.

#### J30.1. RINITIS ALERGICA

Es una enfermedad crónica que afecta a la mucosa nasal y produce estornudos, prurito, obstrucción, rinorrea y en ocasiones anosmia.

#### J31. 2. FARINGITIS CRONICA.

Se refiere a aquellos procesos inflamatorios y/o irritativos crónicos de la mucosa faríngea que producen cambios en su trofismo.

#### J32. SINUSITIS CRÓNICA

Es la presencia de signos y síntomas sinusales persistentes durante más de ocho semanas y que no ceden con terapia médica presentando cambios irreversibles en la mucosa.

#### J35. 0. AMIGDALITIS CRONICA

Cuadros repetitivos de amigdalitis aguda bien documentados y evaluados en un periodo de un año como mínimo y hay evidencia de hiperterofia de las amígdalas con cicatrización.

#### J35. 2. ADENOIDITIS

Es la inflamación de las adenoides que condiciona cualquier grado de obstrucción de la vía aérea que clínicamente se manifiesta con respiración oral, alteración de la calidad de la voz, cambios en las estructuras dentarias y oclusión defectuosa, apneas del sueño así como alteraciones cardíacas y pulmonares.

#### J37. 0. LARINGITIS CRONICA

Es cuando los síntomas de laringitis persisten más de una semana en un niño o más de dos semanas en un adulto.

#### J45. ASMA

Es una enfermedad crónica inflamatoria de las vías aéreas en la que muchas células y elementos celulares desempeñan un papel importante, en particular células cebadas, linfocitos T, macrófagos, neutrófilos y células epiteliales. En individuos susceptibles esta inflamación causa episodios recurrentes de sibilancias, constricción torácica y tos, particularmente por la noche y por la mañana. Estos episodios usualmente se asocian a una obstrucción del flujo aéreo generalizada pero variable que usualmente es reversible ya sea espontáneamente o con tratamiento. La inflamación también causa un incremento asociado en la hiperreactividad bronquial a una variedad de estímulos (GINA, 1995).

#### J46. ESTADO ASMÁTICO

Es una condición clínica caracterizada por la progresión de los síntomas iniciales, aumento de la insuficiencia respiratoria y un estado refractario al uso adecuado y oportuno de tratamiento estándar; no incluye un tiempo determinado.

#### H65. 0. OTITIS MEDIA AGUDA

Inflamación aguda del oído medio con signos locales de derrame (hipoacusia brusca, abombamiento o disminución de movilidad) acompañados de síntomas agudos locales (otalgia o equivalente en el lactante) o generales (fiebre o afectación del estado general).

#### H65.2. OTITIS MEDIA CRÓNICA

Perforación timpánica no marginal que persiste más de 3 meses.

## ANEXO 4. Instrumento de recolección de datos.

Morbilidad en niños expuestos a tabaquismo pasivo.  
Servicio de Neumología

Dr. Francisco Cuevas Schacht.  
INP

### INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS Morbilidad en niños expuestos a tabaquismo pasivo

1. Nombre: \_\_\_\_\_ (Iniciales)
2. Expediente/Folio/Ficha: |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|
3. Fecha de nacimiento: |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| (dd/mm/aaaa)
4. Edad: \_\_\_\_\_ (meses)
5. Sexo: | F |<sub>1</sub> | M |<sub>2</sub>
6. Enfermedad Respiratoria: | Si |<sub>1</sub> | No |<sub>0</sub>
7. Pregunta 1: | Si |<sub>1</sub> | No |<sub>0</sub>
9. Pregunta 2: | Si |<sub>1</sub> | No |<sub>0</sub>
9. Pregunta 3: | Si |<sub>1</sub> | No |<sub>0</sub>
10. Pregunta 4: | Si |<sub>1</sub> | No |<sub>0</sub>
11. Pregunta 5: | Si |<sub>1</sub> | No |<sub>0</sub>
12. Pregunta 6: | Si |<sub>1</sub> | No |<sub>0</sub>
13. Pregunta 7: | Si |<sub>1</sub> | No |<sub>0</sub>
14. Cotinina Urinaria:  
| 0-10 ng/ml |<sub>0</sub>  
| 10-30 ng/ml |<sub>1</sub>  
| 30-100 ng/ml |<sub>2</sub>  
| 100-200 ng/ml |<sub>3</sub>  
| 200-500 ng/ml |<sub>4</sub>  
| 500-1000 ng/ml |<sub>5</sub>  
| +1000 ng/ml |<sub>6</sub>

Investigador Asociado:

Dr. Adoniram Carrasco Castillo.

## **ANEXO 5. Consentimiento Informado.**

Morbilidad en niños expuestos a tabaquismo pasivo.  
INP-Servicio de Neumología

Dr. Francisco Cuevas Schacht.  
Dr. Adoniram Carrasco Castillo.

### **FORMATO DE CONSENTIMIENTO E INFORMACION**

#### **Morbilidad en niños expuestos a tabaquismo pasivo**

Investigador Responsable: Dr. Francisco Cuevas Schacht.

Investigador Asociado: Dr. Adoniram Carrasco Castillo.

Padre o Tutor:

Los investigadores del Servicio de Neumología de este Instituto estamos valorando si su hijo esta expuesto al humo del tabaco y si esto contribuye a que tenga más enfermedades de vías respiratorias (resfriados, bronquitis, neumonías, crisis de asma, etc).

Siéntase por favor en la completa libertad de decidir si desea que su hijo participe o no en el estudio. Si usted decide no participar tenga por seguro que su hijo continuará recibiendo la atención médica con la misma calidad.

El estudio no está financiado por ningún laboratorio ni empresa, el costo de la recolección de la muestra y el procesamiento de la misma corren por cuenta de los investigadores.

Por favor tómese el tiempo que necesite para leer cuidadosamente esta carta de consentimiento para participar. Si acepta que su hijo(a) participe en el estudio se le pedirá que firme en la última página de este formato. Le anticipamos que toda la información generada con motivos del estudio se utilizará de forma confidencial y en ningún momento se manejará el nombre de usted o de su hijo.

#### **1. ¿Porqué se está realizando el estudio?**

El propósito de este estudio es ver qué tanto se asocia la exposición al humo el tabaco con enfermedades respiratorias y en un futuro poder establecer medidas preventivas.

**2. ¿En qué consiste la participación de mi hijo(a) y la mía en el estudio?**

La participación en el estudio consiste en contestar un cuestionario sencillo de 7 preguntas y se le solicitará una muestra de por lo menos 30 ml de orina; ya sea mediante la colocación de una bolsa colectora de orina la cual se pone en los genitales. Ésta se retira una vez que orina el paciente y no causa molestia alguna o bien si es un paciente que avisa para orinar se le solicita que deposite la muestra de orina en un vaso el cual será proporcionado por los investigadores.

**3. ¿Por qué su hijo(a) no podría participar en el estudio?**

Si su hijo es mayor de 12 años o si es fumador activo no puede participar ya que esto interfiere con los resultados del estudio.

**4. ¿Cuanto tiempo dura la participación mía y de mi hijo(a) en este estudio?**

La aplicación del cuestionario no lleva más de 10 minutos, la duración de la participación depende del tiempo que se tarde en recolectar la orina. Una vez que se completen estos dos pasos se termina la participación en el estudio.

**5. ¿Cuántos niños aparte del mío participan en el estudio?**

Se espera incluir otros 33 niños en el estudio.

Investigador Asociado:

Dr. Adoniram Carrasco Castillo.

2

Morbilidad en niños expuestos a tabaquismo pasivo.  
Servicio de Neumología

Dr. Francisco Cuevas Schacht.  
INP

**6. ¿Qué información que identifique a mi hijo(a) será recopilada por el médico del estudio?**

Si usted decide que su hijo(a) participe en el estudio, los investigadores utilizarán la información sobre la salud de su hijo para llevar a cabo este estudio. Esta información incluye iniciales del nombre(s) y apellidos, número de ficha, folio o expediente y fecha de nacimiento de su hijo(a).

**7. ¿Hay algún costo involucrado en el estudio?**

No se le cobrará por su participación en este protocolo, los investigadores absorberán los costos de la recolección y procesamiento de la muestra de orina.

**8. ¿Puedo negarme a que mi hijo(a) participe en el estudio?**

Si. La participación de su hijo(a) en el estudio es voluntaria. Usted puede elegir que su hijo(a) no participe en el estudio. También puede retirar a su hijo(a) del estudio en cualquier momento notificándolo al investigador. Si usted decide que su hijo(a) no participe en el estudio o si retira a su hijo(a) del estudio, éste no perderá ningún beneficio, tratamiento médico o derecho legal que, de otra manera, le correspondería.

**9. ¿Puede mi hijo(a) participar en el estudio si no firmo este formato?**

No. Si decide no firmar este formato, su hijo(a) no podrá participar en el estudio. Usted recibirá una fotocopia firmada de este formato de consentimiento.

**10. ¿Puedo conocer los resultados del estudio?**

Si. Los resultados del estudio estarán disponibles a partir del 1 de Junio de 2009. Los podrá obtener llamando al teléfono 1084-0900 extensión 1324 o al 044 (55) 3270-7857 con el Dr. Adoniram Carrasco Castillo.

NOTA: Es importante informarle que usted deberá recibir una copia firmada de este formato de consentimiento que se podrá llevar a su domicilio.

3

He leído y entiendo este formato de consentimiento y autorización. Todas mis preguntas han sido contestadas. Acepto voluntariamente que mi hijo(a) participe en este estudio.

Nombre del Niño(a):\_\_\_\_\_.

Fecha de Nacimiento:\_\_\_\_\_.

Fecha, Nombre y Firma del Padre, la Madre o el Tutor(a):

\_\_\_\_\_.

Parentesco:\_\_\_\_\_.

Fecha, Nombre y Firma de la Persona que Conduce la Revisión del Consentimiento:

\_\_\_\_\_.

Fecha, Nombre y Firma del Testigo:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

Fecha, Nombre y Firma del Testigo:

\_\_\_\_\_

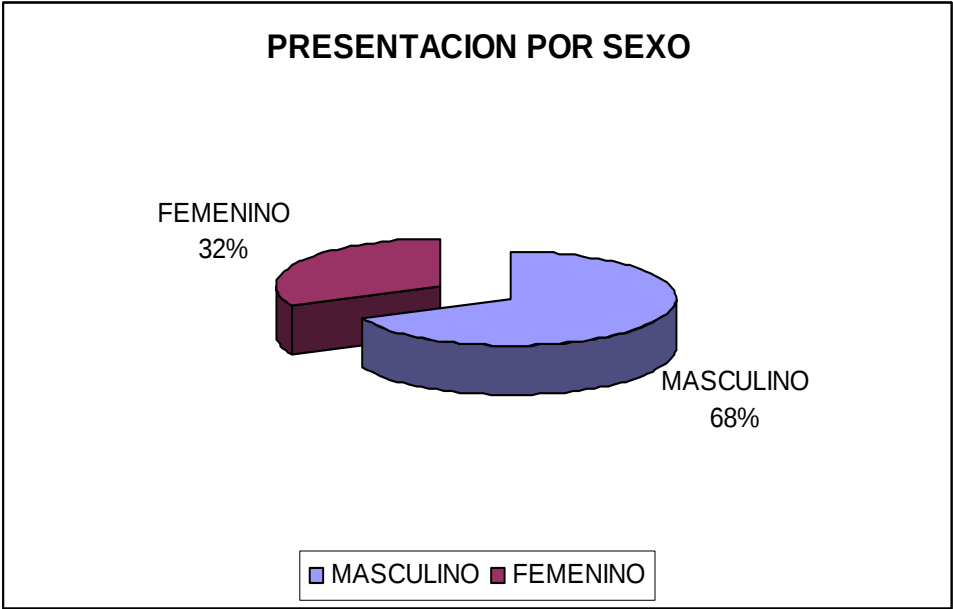
Parentesco: \_\_\_\_\_

Recibí copia de este consentimiento: \_\_\_\_\_.

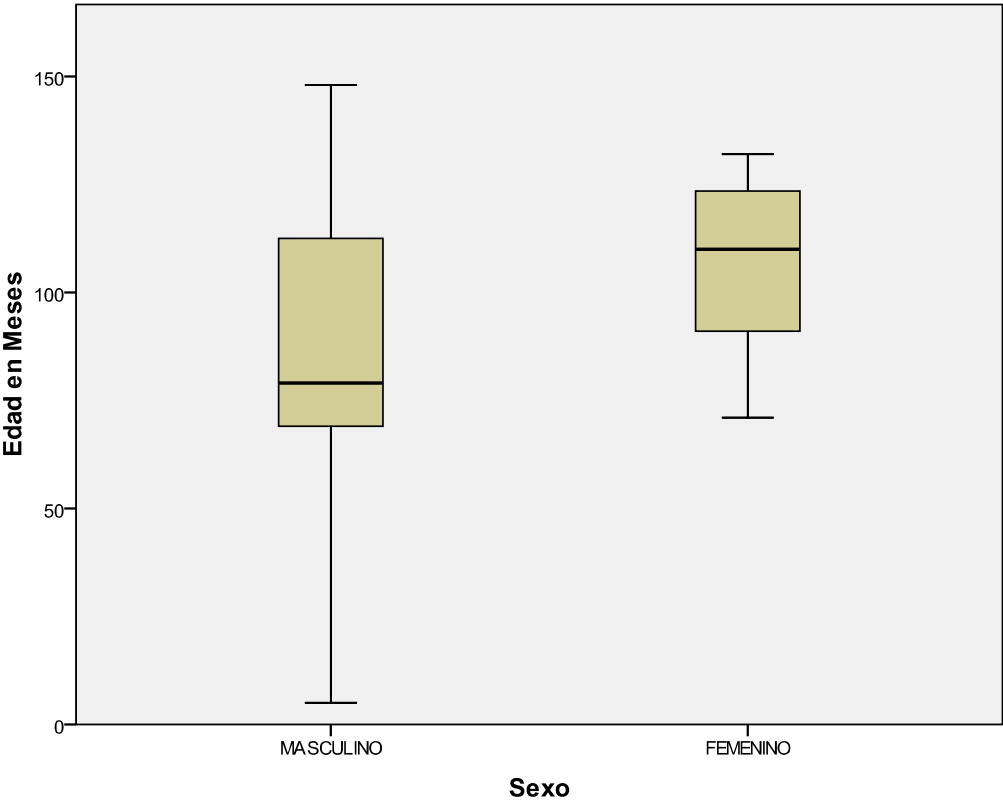
Instituto Nacional de Pediatría. Insurgentes Sur #3700-C Col. Insurgentes Cuicuilco. CP 04530. Del. Coyoacán, D. F.

Servicio de Neumología. Teléfono 1084-0900 Extensión 1324.

Dr. Adoniram Carrasco Castillo. Teléfono 044 (55) 3270-7857.

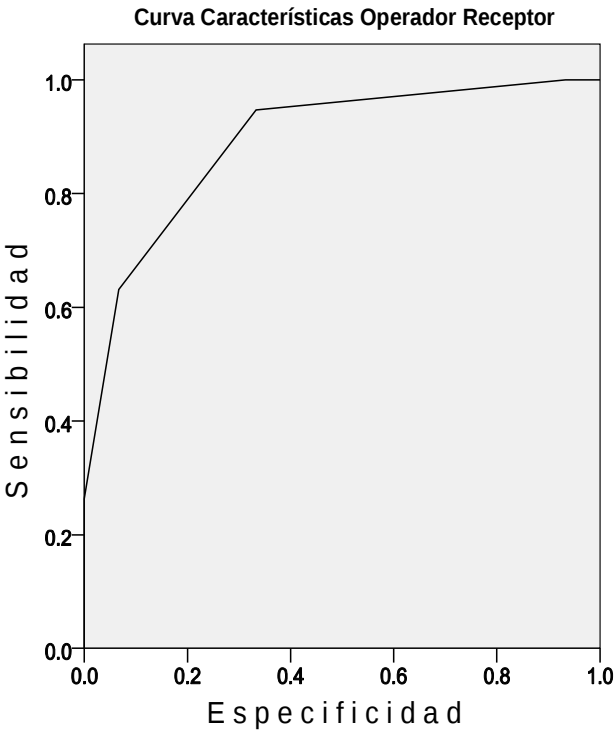
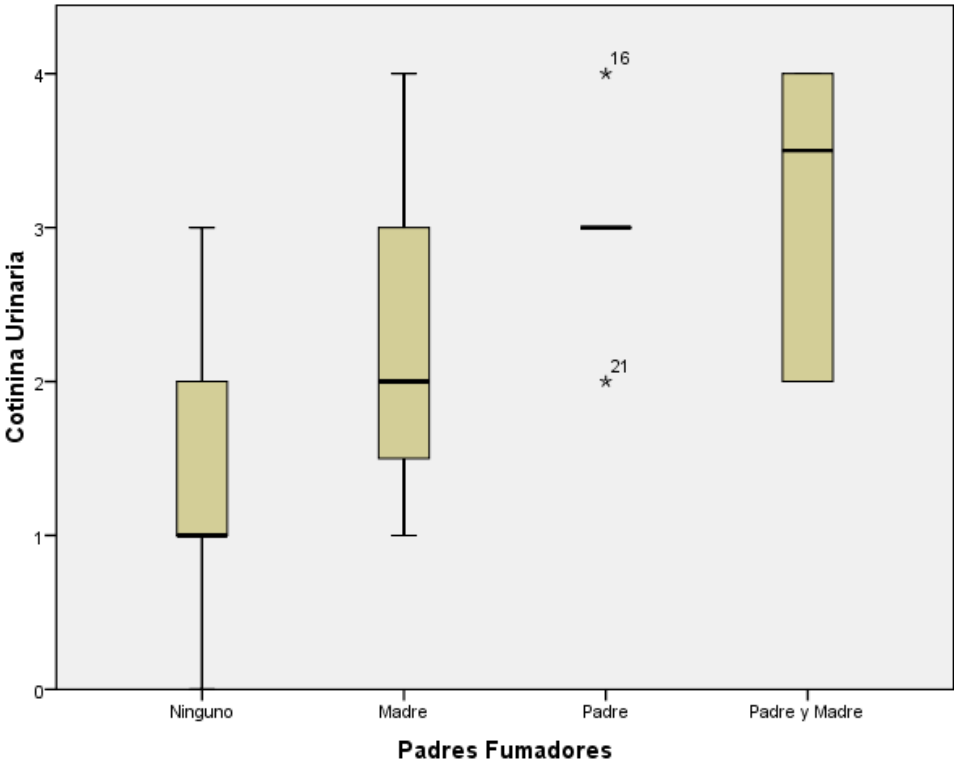


Gráfica 1.



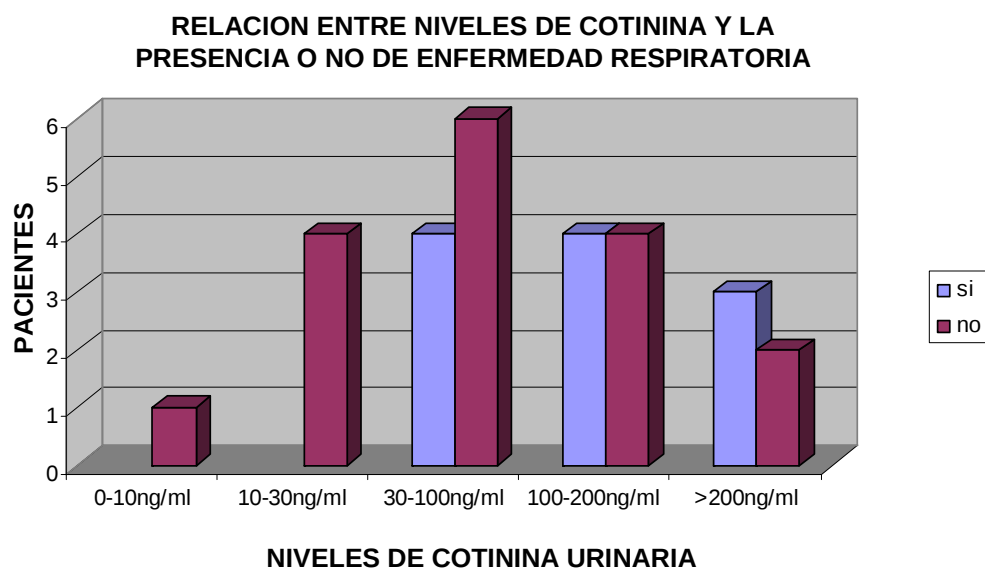
Gráfica 2.

Graficas 3 y 4.



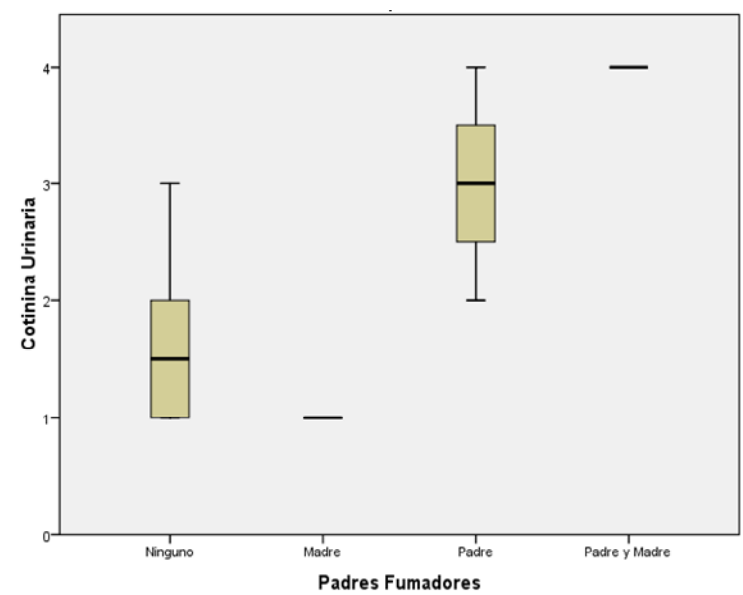
|                                 | No expuestos (%) | Si expuestos (%) |
|---------------------------------|------------------|------------------|
| Sensibilidad                    | 91               | 78               |
| Especificidad                   | 78               | 91               |
| Valor predictivo positivo       | 67               | 95               |
| Valor predictivo negativo       | 95               | 67               |
| Exactitud                       | 82               | 82               |
| Prevalencia                     | 68               | 68               |
| Razón de verosimilitud positiva | 4.18             | 8.61             |
| Razón de verosimilitud negativa | 12               | 24               |

**Tabla 1.**

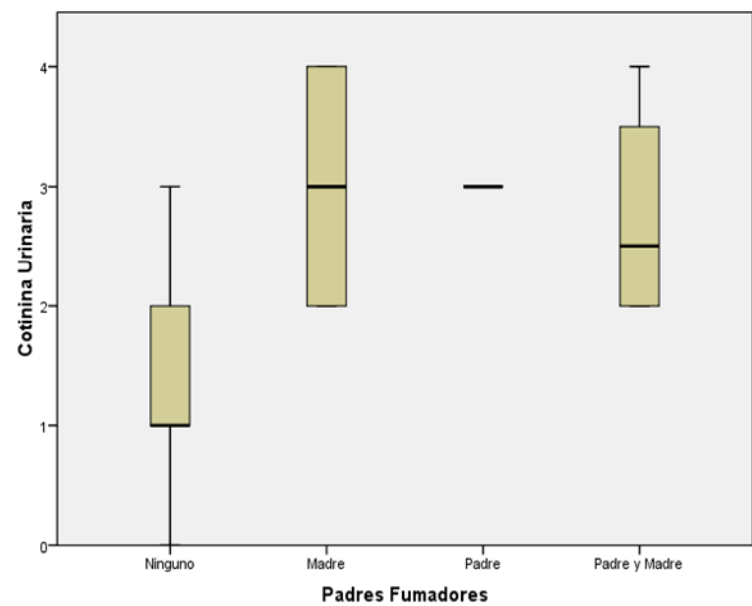


**Grafica 5**

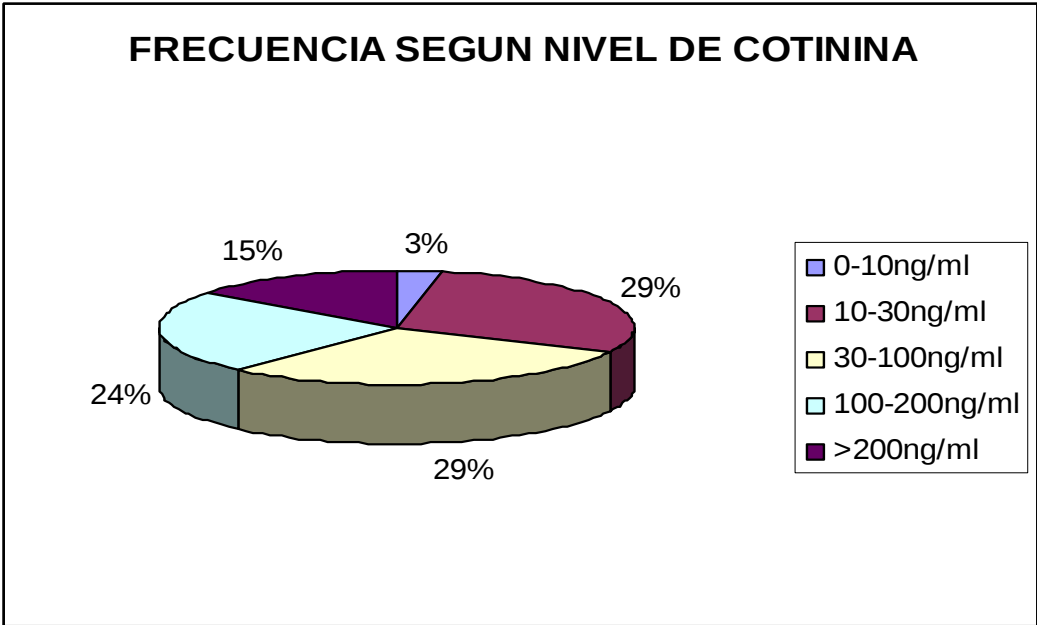
Relación entre padres fumadores y nivel de cotinina urinaria en pacientes con enfermedad respiratoria.



Relación entre padres fumadores y nivel de cotinina urinaria en pacientes sin enfermedad respiratoria.



**Grafica 8.**



|                     | PACIENTES MASCULINOS | PACIENTES FEMENINOS |
|---------------------|----------------------|---------------------|
| Media               | 81.3                 | 105.7               |
| Mediana             | 79                   | 110                 |
| Desviación estándar | 40                   | 21                  |
| Valor mínimo        | 5                    | 71                  |
| Valor máximo        | 148                  | 132                 |

## REFERENCIAS.

- <sup>1</sup> World Health Organization (1999) Consultation report. World Health Organization Division of Noncommunicable Disease, Tobacco Free Initiative. International Consultation on Environmental Tobacco Smoke (ETS) and Child Health, Geneva 1999. [http:// www.who.int/tobacco/research/en/ets\\_report](http://www.who.int/tobacco/research/en/ets_report). Cited 4 July 2005.
- <sup>1</sup> Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología, Instituto mexicano de Psiquiatría. Encuesta Nacional de las Adicciones, Tabaco. México, D. F., SSA, 2002.
- <sup>1</sup> World Health Organization (1999) Consultation report. World Health Organization Division of Noncommunicable Disease, Tobacco Free Initiative  
[http://www.who.int/tobacco/research/secondhand\\_smoke/en/index.html](http://www.who.int/tobacco/research/secondhand_smoke/en/index.html)
- <sup>1</sup> Rojas-Garrido A, López-Pérez G, Orozco-Martínez S, Guerrero-Sánchez E, Huerta-López J. Tabaquismo y desarrollo de alergia durante la infancia. Mecanismos fisiopatológicos. Alergia, asma e Inmunología Pediátricas. 2001;10 (2):43-52.
- <sup>1</sup> National Cancer Institute. Health Effects of Exposure to Environmental Tobacco Smoke: The Report of the California Environmental Protection Agency. Smoking and Tobacco Control Monograph No. 10. Bethesda, MD: US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute; 1999 (NIH Pub. No. 9-4645).
- <sup>1</sup> Gehring U, Leaderer BP, Heinrich J, Oldenwening M, Giovannangelo MECA, Nordling E, Merkel G, Bellander T, Brunnekreff B. Comparison of parental reports of smoking and residential air nicotine concentrations in children. *Occup Environ Med* 2006;63:766-772.
- <sup>1</sup> Toshihiro I, Tomoyuki S, Kota S, Joji O, Ryoza O. A passive smoking screening program for children. *Preventive Medicine* 2006;42:427–429.
- <sup>1</sup> Seifert JA, Collen AR, Norris JM. Validation of a Five-Question Survey to Assess a Child's Exposure to Environmental Tobacco Smoke. *Ann Epidemiol* 2002;12:273–277.
- <sup>1</sup> Johansson A, Halling A, Hermansson GR, Ludvigsson. Assessment of Smoking Behaviors in the Home and Their Influence on Children's Passive Smoking: Development of a Questionnaire. *Ann Epidemiol* 2005;15:453-459.
- <sup>1</sup> Groner JA, Hoshaw-Woodard S, Koren G, Klein J, Castile R. Screening for Children's Exposure to Environmental Tobacco Smoke in a Pediatric Primary Care Setting. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005;159:450-455.
- <sup>1</sup> Gaffney KF, Molloy SB, Maradiegue AH. Questionnaires for the measurement of infant environmental tobacco smoke exposure: a systematic review. [J Nurs Meas](#). 2003 Winter;11(3):225-39.

- <sup>1</sup> Coultas, D.B., Peake, G.T., Samet, J.M. Questionnaire assessment of lifetime and recent exposure to environmental tobacco smoke. *American Journal of Epidemiology* 1989;130(2):338-347.
- <sup>1</sup> Sandler, D.P., Shore, D.L. Quality of data on parents' smoking and drinking provided by adult offspring. *American Journal of Epidemiology* 1986;124:768- 778.
- <sup>1</sup> Kum-Nji P, Meloy L, Herrod HG. Environmental Tobacco Smoke Exposure: Prevalence and Mechanisms of Causation of Infections in Children. *Pediatrics* 2006;117;1745-1754.
- <sup>1</sup> Benowitz NL. Biomarkers of Environmental Tobacco Smoke Exposure. *Environ Health Perspect* 1999; 107(Suppl 2):349-355.
- <sup>1</sup> Groner JA, Hoshaw-Woodard S, Koren G, Klein J, Castile R. Screening for Children's Exposure to Environmental Tobacco Smoke in a Pediatric Primary Care Setting. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2005;159:450-455
- <sup>1</sup> Wong GC, Berman BA, Hoang T, Bernaards C, Jones C, Bernet JT. Children's Exposure to Environmental Tobacco Smoke in the Home: Comparison of Urine Cotinine and Parental Reports. *Arch Environ Health* 2002; 57 (6):584-590.
- <sup>1</sup> Tutka P, Húyelos M, Zatonski W. Exposure to environmental tobacco smoke and children health. *Int J Occup Med Environ Health*. 2002; 15(4):325-35.
- <sup>1</sup> Oddoze C, Dubus JC, Badier M, Thirion X, Pauili AM, Pastor J, Bruguerolle B. Urinary Cotinine Exposure to Parental Smoking in a Population of Children with Asthma. *Clinical Chemistry* 1999;45 (4):505-509.
- <sup>1</sup> Weaver VM, Buckley TJ, Groopman JD. Approaches to environmental exposure assessment in children. *Environ Health Perspect* 1998;106 Suppl 3:827-32.
- <sup>1</sup> Al-Delaimy WK, Crane J, Woodward A. Is the hair nicotine level a more accurate biomarker of environmental tobacco smoke exposure than urine cotinine?. *J Epidemiol Community Health* 2002;56:66–71.
- <sup>1</sup> Al-Delaimy WK. Hair as a biomarker for exposure to tobacco smoke. *Tobacco Control* 2002;11:176–182.
- <sup>1</sup> Dhar P. Measuring tobacco smoke exposure: quantifying nicotine/cotinine concentration in biological samples by colorimetry, chromatography and immunoassay methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2004;35:155–168.
- <sup>1</sup> Letzela H, Fischer-Brandies A, Johnsona LC, Überlab L, Biberc A. Measuring problems in estimating the exposure to passive smoking using the excretion of cotinine. *Toxicology Letters* 1987;35 (1):35-44.
- <sup>1</sup> Peach H, Ellard GA, Jenner PJ, Morris RW. A simple, inexpensive urine test for smoking. *Thorax* 1985;40:351-57.
- <sup>1</sup> Boyaci H, Etiler N, Duman C, Basygit I, Pala A. Environmental tobacco smoke exposure in school children: parent report and urine cotinine measures. *Pediatr Int* 2006;48 (4):382-9.

- <sup>1</sup> Ogborn CJ, Duggan AK, DeAngelis C. Urinary cotinina as a measure of passive smoke exposure in asthmatic children. *Clin Pediatr* 1994;33 (4):220-6.
- <sup>1</sup> Cornelius MD, Goldschmidt L, Dempsey DA. Environmental tobacco smoke exposure in low-income 6-year-olds: parent report and urine cotinina. *Nicotine Tob Res* 2003;5 (3):333-9.
- <sup>1</sup> Tutka P, Wielosz M, Zatonski W. Exposure to environmental tobacco smoke and children health. *Int J Occup Med Environ Health*. 2002;15 (4):325-335.
- <sup>1</sup> Cook DG, Strachan DP. Summary of effects of parental smoking on the respiratory health of children and implications for research. *Thorax* 1999;54:537-566.
- <sup>1</sup> DiFranza JR, Aligne CA, Weitzman M. Prenatal and Postnatal Environmental Tobacco Smoke Exposure and Children's Health. *Pediatrics* 2004;113:1007-1015.
- <sup>1</sup> Janson C. The effect of passive smoking on respiratory health in children and adults. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8(5):510–516.
- <sup>1</sup> Strachan D, Cook D. Health effects of passive smoking 6: parental smoking and childhood asthma: longitudinal and case-control studies. *Thorax* 1998;53:204–212.
- <sup>1</sup> Strachan D, Cook D. Health effects of passive smoking 4: parental smoking, middle ear disease, and adenotonsillectomy in children. *Thorax* 1998;53:50–56.
- <sup>1</sup> Romero-Palacios PJ. Asthma and Tobacco Smoke. *Arch Bronconeumol* 2004;40(9):414-8.
- <sup>1</sup> Mannino DM, Moorman JE, Kingsley B, Rose D, Repace J. Health effects related to environmental tobacco smoke exposure in children in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2001; 155(1):36-41.
- <sup>1</sup> David GL, Koh WP, Lee HP, Yu MC, London SJ. Childhood exposure to environmental tobacco smoke and chronic respiratory symptoms in nonsmoking adults: The Singapore Chinese Health Study. *Thorax* 2005;60:1052–1058.
- <sup>1</sup> Hawamdeh A, Kasasbeh FA, Ahmad MA. Effects of passive smoking on children's health: a review. *Eastern Mediterranean Health Journal* 2003;9 (3):441-447.
- <sup>1</sup> Stocks J, DeZateux C. The effect of parental smoking on lung function and development during infancy. *Respirology* 2003;8:266–285.
- <sup>1</sup> Dhala A, Pinsker K, Prezant DJ. Respiratory health consequences of environmental tobacco smoke. *Med Clin N Am* 2004;88:1535–1552.

- <sup>1</sup> Hofhius W, de Jongste JC, Merkus PJFM. Adverse health effects of prenatal and postnatal tobacco smoke exposure on children. *Arch Dis Child* 2003;88:1086-1090.
- <sup>1</sup> Van Bever HP, Desager KN, Hagendorens M. Critical evaluation of prognostic factors in childhood asthma *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13:77–8.
- <sup>1</sup> Sturm JJ, Yeatts K, Loomis D. Effects of Tobacco Smoke Exposure on Asthma Prevalence and Medical Care Use in North Carolina Middle School Children. *Am J Public Health* 2004;94:308–313.
- <sup>1</sup> Jindal SK, Gupta D. The relationship between tobacco smoke & bronchial asthma. *Indian J Med Res* 2004;120:443-453.
- <sup>1</sup> Lam TH, Leung GM, Ho LM. The Effects of Environmental Tobacco Smoke on Health Services Utilization in the First Eighteen Months of Life. *Pediatrics* 2001;107 (6):1-6.
- <sup>1</sup> Gilliland FD, Berhane K, Islam T, Wenten M, Rappaport E, Avol E, Gauderman WJ, McConnell R, Peters JM. Environmental Tobacco Smoke and Absenteeism Related to Respiratory Illness in Schoolchildren. *Am J Epidemiol* 2003;157:861–869.
- <sup>1</sup> Bek K, Tomaç N, Delibas A, Tuna F, Teziç HT, Sungur M. The effect of passive smoking on pulmonary function during childhood. *Postgrad Med J* 1999;75:339–341.
- <sup>1</sup> Tepper RS, Williams-Nkomo T, Martinez T, Kisling J, Coates C, Daggy J. Parental Smoking and Airway Reactivity in Healthy Infants. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:78–82.
- <sup>1</sup> Anderson HR, Cook DG. Passive smoking and sudden infant death syndrome: review of the epidemiological evidence. *Thorax* 1997;52:1003–1009.
- <sup>1</sup> Dwyer T, Ponsonby AL, Couper D. Tobacco smoke exposure at one month of age and subsequent risk of SIDS—a prospective study. *Am J Epidemiol* 1999;149:593–602.
- <sup>1</sup> Mitchell EA, Tuohy PG, Brunts JM, et al. Risk factors for sudden infant death syndrome following the prevention campaign in New Zealand: a prospective study. *Pediatrics*. 1997;100:835–840.
- <sup>1</sup> Neufeld EJ, Mietus-Snyder M, Beiser AS, Baker AL, Newburger JW. Passive Cigarette Smoking and Reduced HDL Cholesterol Levels in Children With High-Risk Lipid Profiles. *Circulation*. 1997;96:1403-1407.
- <sup>1</sup> Burke V, Gracey MP, Milligan RAK, Thompson C, Taggart AC, Beilin LJ. Parental smoking and risk factors for cardiovascular disease in 10- to 12-year-old children. *Pediatr* 1998;133:206-13.

<sup>1</sup> Sahai H, Khurshid A. Formulae and tables for the determination of simple sizes and power in clinical trials for testing differences in proportions for the two sample design: A review. *Statistics in medicine* 1996;15:1-21.

<sup>1</sup> Van Bever HP, Desager KN, Hagendorens M. Critical evaluation of prognostic factors in childhood asthma *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13:77–8.

<sup>1</sup> Bek K, Tomaç N, Delibas A, Tuna F, Teziç HT, Sungur M. The effect of passive smoking on pulmonary function during childhood. *Postgrad Med J* 1999;75:339–341.

<sup>1</sup> Tepper RS, Williams-Nkomo T, Martinez T, Kisling J, Coates C, Daggy J. Parental Smoking and Airway Reactivity in Healthy Infants. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:78–82.