

# Diseño y realización de un laboratorio de olfatometría. Aplicación de un nuevo sistema de valoración

J. I. Alfonso, H. Vallés, C. Cervera

Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa". Zaragoza.

**Resumen:** *Objetivo:* Diseñar un laboratorio y un test de olfatometría nuevo, para valorar, en estudios que realizaremos posteriormente, los posibles factores que influyan sobre la sensibilidad olfativa humana frente a la piridina. *Material y métodos:* Hemos diseñado un laboratorio de olfatometría y una sistemática de estudio utilizando la piridina como sustancia odorante. Hemos llevado a cabo un estudio con 30 voluntarios varones, entre 20 y 40 años de edad, para establecer los umbrales de referencia que nos permitan realizar determinaciones posteriores. *Resultados:* Hemos calculado cuatro concentraciones de piridina; para el estudio de diferentes parámetros de la función olfatoria. El 95% de los voluntarios de la prueba detectaron la concentración más alta de piridina; el resto de las concentraciones nos permitieron establecer la sensibilidad de la población en estudio a los umbrales inferiores. *Conclusiones:* Hemos diseñado, realizado y homologado un laboratorio de estudio de la olfacción. Hemos determinado la sensibilidad de la población en estudio a diversas concentraciones de piridina que pueden ser consideradas como referencias posteriores.

**Palabras clave:** Olfacción. Laboratorio de olfatometría. Test olfativo. Piridina.

## *Design and performance of a laboratory of olfactory test. Application of a new evaluation system*

**Abstract:** *Background:* To study and evaluate the factors that may influence on human olfactory sensibility to pyridine, we designed a specific laboratory with a new olfactory test to perform accurate measurements. *Methods:* We have chosen pyridine as the test substance in our laboratory, for its frequent use of it in other studies. The special conditions of our laboratory are designed to allow individuals to access to this substance, controlling the different factors and parameters. With this purpose, we have validated the test and we have settled the reference threshold values with the sco-

re of thirty voluntary healthy patients between 20 and 40 years of age. *Results:* We have used four different concentrations of pyridine to study the different factors of olfactory sensibility. 95% of cases detected the highest pyridine concentration and the remaining concentrations allowed us to know the olfactory sensibility of the studied population and the inferior thresholds. *Conclusions:* We have designed, performed and endorsed a laboratory for the study of olfaction. We have determined the sensibility of the studied population to different concentrations of pyridine that can be considered as a reference for further studies.

**Key words:** Olfaction. Laboratory of olfactory test. Olfactory Test. Pyridine.

## INTRODUCCIÓN

El olfato es un sentido químico cuya función esencial es el análisis de las moléculas del aire ambiental que estimulen, de manera adecuada, las células receptoras olfatorias.

Deems y Doty<sup>1</sup>, en 750 pacientes con alteraciones del olfato, comprobaron que el 68% de los pacientes se quejaban de alteración en su calidad de vida, el 46% indicaron que el desorden olfativo había alterado su apetito y su peso, y el 56% señalaron la gran influencia, en su vivir cotidiano y en su bienestar psicológico, de los trastornos de la olfacción. Beck<sup>2</sup>, en otro estudio, observó que una cuarta parte de la población tenía signos evidentes de depresión, entre leve y severa; no obstante, esta proporción aumentaba, hasta un tercio en la población, en situación de alteración quimiosensorial.

A pesar del importante papel del olfato, su estudio y consideración han quedado relegados en comparación con otros sentidos. Las causas de esta desatención son la falta de educación sanitaria, la facilidad con que sus alteraciones pasan desapercibidas, la pérdida de importancia del propio sentido del olfato en el contexto general de la sensorialidad y, sobre todo, la dificultad de su exploración. En efecto, este sentido carece de una dimensión física susceptible de medición; carece, también, de una unidad homologada y de un test estandarizado que permita su medida y que sea aceptado, unánimemente, por todos los especialistas. Todo ello ha provocado una gran escasez de trabajos sobre este tema.

Correspondencia: José Ignacio Alfonso Collado  
Andador Luis Puentes, 4-3 B  
50008 Zaragoza  
Fecha de recepción: 1-7-2003  
Fecha de aceptación: 22-7-2005

Se han diseñado varios test para evaluar la olfacción, entre los que destacan el Sistema UPSIT (*University of Pennsylvania Smell Identification test*), que consiste en cuatro libretas que llevan impregnado el olor en un parche con microesferas que se liberan al rascar<sup>3</sup>; el test de umbral de butano del *Connecticut Chemosensory Clinical Research Center* (CCCRC)<sup>4,5</sup>, que utiliza diluciones de butanol al 4% en agua destilada y 18 diluciones progresivas; el modelo Zurich<sup>6</sup>, sistema más sencillo con material impregnado de sustancia odorífera y 7 sustancias para el primer par craneal y 1 para el quinto par; el "Sniffin sticks"<sup>17-9</sup> que estudia los umbrales olfativos con n-butanol, la discriminación olorosa con 16 sustancias y la identificación olorosa con 16 sustancias; el olfatómetro de Fortunato-Niccolini<sup>10</sup>, que utiliza 6 botellas con 6 sustancias distintas sustancias; y por último el test de olfatometría HMB-HCP (Hospital Municipal de Badalona y Hospital Clínico de Barcelona) que utiliza 29 sustancias aisladas divididas en tres grupos: uno de 20 sustancias para la exploración del I par craneal, otro de 5 sustancias para el V par craneal y un tercer grupo para el estudio del gusto y se encuentra en un medio sólido<sup>11</sup>.

Todos estos test se realizan de manera independiente de la temperatura y la humedad ambiental, factores que pueden ser relevantes; por ello, hemos desarrollado un laboratorio de estudio de olfatometría que nos permita realizar las pruebas controlando las condiciones de temperatura y humedad.

Además, hemos diseñado un protocolo de experimentación utilizando la piridina como sustancia odorante para, con posterioridad, iniciar una línea de investigación sobre la olfacción y estudiar la posible influencia de distintas patologías y situaciones que puedan influir en la misma.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material

Todas las determinaciones sensoriales, entre las que se incluyen las de la función olfativa, requieren para su realización que éstas se verifiquen bajo unas condiciones rigurosas de estudio, ya que, de lo contrario, sus resultados puedan ser inciertos. La mayoría de estas condiciones de estudio dependen, directamente, del ambiente físico donde los tests son realizados. En el caso de la olfacción, los principales son: el control de las estimulaciones olfativas ajenas a la estimulación en estudio, las condiciones ambientales del aire respirado, la eliminación de la distracción psicológica y la sumisión del paciente a un ambiente de valoración confortable.

De acuerdo con todo ello, hemos diseñado un laboratorio de olfacción.

Este se distribuye en tres zonas: una sala de espera, donde aguardarán las personas que participan en el ensayo, una sala de preparación de muestras y una última sala que será la cámara de olfatometría donde se realizaran las determinaciones.

La sala de espera está situada en la parte anterior o externa. En ella, mientras las fosas nasales se aclimatan a la

temperatura y humedad propuestas para la determinación, se les explica el objeto, el mecanismo y el alcance del test, haciendo énfasis en la importancia de su correcta realización.

La cámara de olfatometría consta de 8 cabinas de tres formas distintas, A, B y C, pero todas ellas de 1 metro cúbico de volumen y está situada entre la sala de espera y la sala de preparación de muestras (Figura 1). Su acceso está restringido al equipo investigador y a los sujetos que realizan el experimento y debe estar libre, siempre, de otros olores, para lo que hemos diseñado un sistema de extracción y renovación de aire, tanto en las cabinas de estudio como en la propia cámara. Dicha cámara está dotada de un sistema acondicionador de temperatura y humedad.

La temperatura la controlamos mediante una unidad de refrigeración tipo split modelo RAS-3149C/ de la marca Hitachi. La humedad la controlamos con un humidificador ultrasónico de la marca Kelner.

Tanto la temperatura como la humedad se miden mediante un aparato de la marca TESTO 625 que valora temperatura y humedad con una sonda separable de 1 metro de longitud. El mencionado equipo mide la temperatura en grados centígrados y la humedad en tantos por ciento, con una resolución de 0,1 grados centígrados y de 0,1% de humedad.

Cada cabina consiste en un recinto cerrado de 1 m<sup>3</sup> de volumen, construido con materiales inodoros, como el aluminio anodizado y el cristal, y presenta en su parte anterior una ventana por la cual el paciente introduce la cabeza y accede a olfatear la sustancia a examinar.

Para la vaporización y homogeneización de las muestras, hemos ideado un sistema de calentamiento y homogeneización que consiste en una lámpara halógena de haz concentrado que vaporiza la muestra y un ventilador que distribuye la muestra vaporizada por toda la cabina.

El sistema de extracción y renovación de aire en las cabinas y en la cámara de olfacción es común para las dos. La cámara está dotada de un extractor de turbina de gran caudal (100 m<sup>3</sup>/h) y las cabinas tienen un sistema de renovación y extracción de aire individual. La extracción en las cabinas se realiza a través de un extractor de 10 m<sup>3</sup>/h en cada cabina.

La sala de preparación de muestras contiene una campana de trabajo que lleva incorporada un sistema de extracción de aire donde se realiza la preparación y manipulación de las sustancias odorantes. En esta sala también se encuentran los controles para la extracción y renovación del aire de las cabinas y de la sala de olfatometría, así como los mandos para conectar el sistema de calentamiento y homogeneización de las muestras en las cabinas.

### Método

Para la realización de este trabajo experimental elegimos la piridina como sustancia odorante, en base a la amplia experiencia que se tiene con ella en trabajos de investigación olfativa<sup>12-18</sup>, sus características organolépticas y su

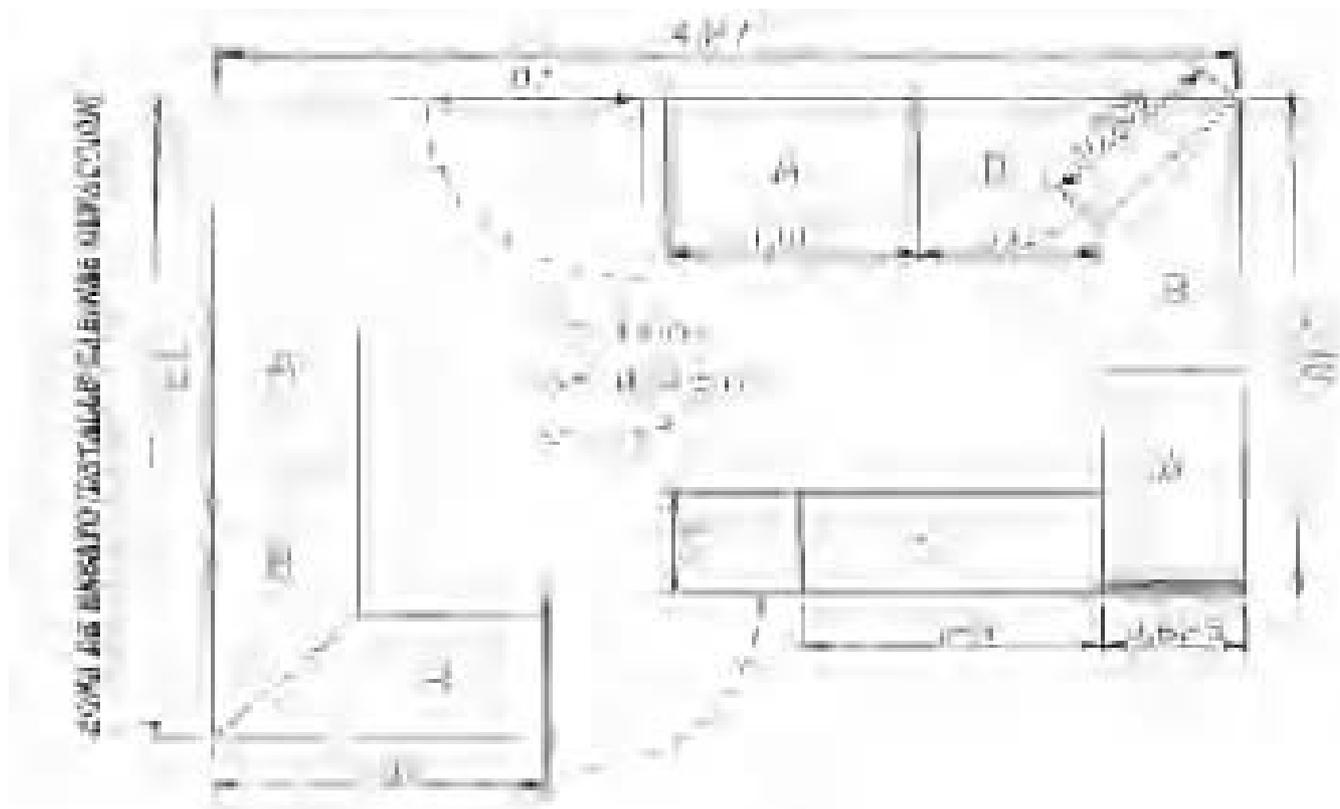


Figura 1. Esquema de la cámara de olfatometría.

similitud al THT, sustancia que se utiliza para odorizar el gas ciudad.

La elección de las concentraciones de piridina está basada en estudios anteriores<sup>17</sup>. En ellos se señala que el 90% de la población detecta la piridina a una concentración de 1,5 microlitros por metro cúbico, que representa el grado 2 dentro de una escala logarítmica. En nuestro trabajo hemos utilizado dicha concentración como nivel de referencia y tres niveles inferiores más para poder cuantificar la influencia negativa de los factores a estudio. Estos tres grados inferiores los obtuvimos mediante una escala logarítmica y corresponden al grado 1 cuya concentración es de 0,664 microlitros/m<sup>3</sup>, al grado 1/2 cuya concentración es de 0,429 microlitros/m<sup>3</sup> y grado 1/4, de 0,349 microlitros/m<sup>3</sup>.

Para validar estas concentraciones en nuestro medio de estudio se eligieron 30 voluntarios. Como criterios de inclusión se utilizaron el sexo masculino, debido a la posible variabilidad olfativa en la mujer por los cambios hormonales y la edad, entre 20 y 40 años. Como criterios de exclusión se utilizaron el hábito tabáquico, el hábito enólico y, por último, mediante una anamnesis y exploración ORL general se descartó que el sujeto no estuviera tomando ninguna medicación de forma habitual, el padecimiento de enfermedad nasal y/o sinusal, procesos infecciosos de vías respiratorias superiores o traumatismos craneoencefálicos.

Todas las muestras se presentaron en unos recipientes idénticos para que el sujeto del estudio no pudiera detectar diferencias. El número de muestras que presentamos fue de 8, en forma de 4 parejas. Cada pareja de muestras estaba

formada por una muestra de piridina y otra de agua destilada.

Como se ha descrito anteriormente, la cámara de olfatometría constaba de 8 cabinas que se utilizaron agrupadas en 4 parejas. En cada una de estas parejas de cabinas, el investigador dispuso, en una de ellas, una concentración de piridina y, en la otra, una muestra en blanco de agua destilada. La disposición y el orden de las cuatro diferentes concentraciones de piridina, en los cuatro pares de cabinas, se verificó al azar. El investigador anotó, en la ficha del ensayo, la disposición de las muestras de piridina para poder, luego, comparar los resultados del ensayo con la ficha de resultados. Asimismo se midió, al inicio del experimento, la humedad y la temperatura de la cámara de olfatometría y se registró en la ficha.

Para la evaluación de las muestras odorantes, todos los sujetos de experimentación pasaron por todas las cabinas, de la número 1 a la 8. Tuvieron que olfatear las muestras e indicar en la ficha de recogida de datos, en cada par de cabinas, la ubicación de la muestra de piridina y su grado de intensidad: "bajo" para las concentraciones 1/4 y 1/2, "medio" para la concentración 1 y "alto" para la concentración 2; por último tuvieron que establecer la relación entre las muestras presentadas. El grado de intensidad "bajo" queda representado por dos concentraciones debido a la escasa diferencia de intensidad entre las dos al obtener las concentraciones por escala logarítmica, aunque en las hojas de recogidas de datos se diferencia cuál de las dos detectan. De esta forma, pudimos valorar el umbral de cada paciente,

frente a las 4 intensidades diferentes de piridina, la estimación de su intensidad y, por último, la formulación de un juicio de relación.

Al finalizar los experimentos, el investigador comparó la ficha del ensayo con la hoja de resultados de cada voluntario para así valorar globalmente la prueba. Tras ello, se introdujeron los resultados correctos en una tablas, mediante tres posibles puntuaciones a la respuesta de cada concentración: "no acierta", "acierta estímulo sólo" y "acierta estímulo e intensidad".

Todos los experimentos se realizan a una temperatura de  $21 \pm 2^\circ \text{C}$  y una humedad relativa de  $50 \pm 10\%$ .

## RESULTADOS

Los experimentos se realizaron a una temperatura media de  $21,7^\circ$  y una humedad media del 59%. Se realizó la prueba a 30 voluntarios, con las características antes mencionadas, con una edad comprendida entre los 20 y los 40 años, y una edad media de 29 años, haciendo cuatro grupos de edad cada 5 años.

Como vemos en la tabla 1, la concentración 2, la concentración alta, fue detectada por el 95% de los voluntarios; la concentración 1, la concentración media, fue detectada por el 80% del grupo y las concentraciones 1/2 y la concentración 1/4 que representa la concentración baja, fue detectada por el 60% del grupo y por el 45% del grupo respectivamente. No se aprecian diferencias significativas en los cuatros grupos de edad aunque las variaciones de edad son muy pequeñas para que se pudieran obtener (Tabla 1). Estos resultados nos posibilitarán su utilización como referencia en la realización de estudios posteriores.

## DISCUSIÓN

El gran problema de los test de sensibilidad olfativa es la carencia de un control estandarizado y objetivo. De hecho, no está establecido un sistema universalmente aceptado. Todas las determinaciones olfativas, con fines diagnósticos o de seguimiento de la terapéutica, tienen que estar rigurosamente controladas y poder ser reproducibles con facilidad<sup>19</sup>.

En general, la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha sobre la olfacción, incluidos los nuestros, son transversales. Frente a ellos existen los estudios longitudinales como el "*National Geographic Smell Survey*", realizado por Gilbert y col<sup>20</sup>. Estos ofrecen ciertas ventajas metodológicas pero, sin embargo, tienen el inconveniente de que tienden a

minimizar las diferencias justificadas por la edad, debido al agotamiento de los sujetos. Los estudios transversales de olfacción son más comunes, aunque se hallan sometidos al efecto de cohorte.

Los parámetros más utilizados para medir la función olfatoria son:

- La determinación de umbrales.
- La estimación de magnitud.
- Los juicios de similitud.
- Los ejercicios de identificación.

La mayoría de los estudios sobre olfacción utilizan exclusivamente un parámetro, lo que hace que la fiabilidad de los mismos se halle comprometida y se puedan extraer menos conclusiones. Sería mucho más fiable, completo e idóneo el realizar, en un mismo estudio, la valoración de varios parámetros de medida de la función olfatoria y de varios odorantes, mediante un procedimiento metodológico sencillo, como ha señalado Wysocki<sup>21</sup>.

A diferencia de los test anteriormente comentados, en nuestro test las pruebas se realizan en un laboratorio construido para esa función, lo que permite controlar la temperatura y la humedad, manteniendo a los voluntarios lo más aislados posibles. No obstante, tiene como desventaja la imposibilidad de realizar la prueba en las consultas externas de ORL de manera habitual y el alto coste precisado para la construcción.

Hemos evaluado diferentes parámetros de función olfatoria aplicando una metodología sencilla. Hemos calculado cuatro concentraciones de piridina para el estudio de diferentes parámetros de función olfatoria. La concentración alta la detecta el 95%, la media el 80% mientras que las baja las detectan solo el 60% y el 45% lo que nos permite en estudios posteriores establecer la posible influencia de distintos factores en la detección de la piridina y poder valorar su posible influencia negativa. Nuestros resultados están de acuerdo con otros resultados obtenidos con piridina<sup>17</sup>.

El objeto de la odorización el gas es proporcionar al gas un olor característico y distintivo, de suficiente intensidad que avise a la población de su presencia contaminante en la atmósfera. Los odorantes de gas natural utilizados actualmente son los mercaptanos, los sulfuros cíclicos y los sulfuros alquílicos, de los cuales existen unos veinte productos comerciales diferentes. Estos se suelen presentar en formas de mezclas (mezcla de diferentes mercaptanos, de mercaptanos con sulfuros alquílicos y de mercaptanos con THT), o bien, sólo el THT<sup>22</sup>. El agente más usado en la actualidad es una mezcla de TBM que contiene principalmente T-Butil-mercaptano (TBM) y, secundariamente, sulfuro de dimetilo. A pesar de ello no se puede considerar un agente ideal por lo que hay que seguir investigando sobre el tema hasta encontrarlo.

De todo lo expuesto se deduce la importancia y el interés del tema de los marcadores de gas por lo que hemos iniciado una línea de investigación, en conjunto con una empresa gasista, que permita establecer una metodología adecuada para odorizar los gases combustibles, de acuerdo con unos resultados comprobados experimentalmente y cu-

**Tabla 1:** Porcentaje de detección del estímulo en las cuatro concentraciones

	20-24 años	25-29 años	30-34 años	35-39 años
Concentración 1/4	43,09%	45,22%	45,88%	45,05%
Concentración 1/2	62,72%	62,7%	61,97%	60,52%
Concentración 1	78,89%	82,08%	83,84%	84,42%
Concentración 2	95,93%	96,76%	97,22%	97,42%

yo objeto final será poder definir los niveles mínimos de odorización para garantizar la seguridad de los usuarios.

En nuestro trabajo hemos considerado y estudiado las posibilidades de utilizar la piridina como muestra, para la realización de los experimentos, debido al posible ambiente de alerta que podría provocar el THT en el hospital, mientras que la piridina no se relaciona con el gas natural y tiene unas características químicas, físicas y organolépticas muy semejantes al THT.

En colaboración con expertos de la empresa gasista, se realizaron pruebas en voluntarios, validando nuestro laboratorio, así como las concentraciones de piridina utilizadas, permitiéndonos comenzar una línea de estudio sobre este aspecto particular del olfato y los posibles factores que influyen sobre él.

## AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a la empresa gasista ENAGAS la confianza depositada en nosotros lo que nos ha permitido poder diseñar y realizar este laboratorio de olfatometría y poder desarrollar la línea de investigación sobre el olfato.

## Referencias

1. Deems DA, Doty RL, Settle RG, Moore-Gillon V, Shaman P, Mester AF, et al. Smell and taste disorders: a study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste Center. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991;117:519-28.
2. Beck AT, Beamesderfer A. Assessment of depression: the depression inventory. En: Pichot, P. ed. "Psychological measurement in psychopharmacology and modern problems in pharmacopsychiatry". Volume 7. Paris: Karger Basel, 1974:151-69.
3. Doty R, Snow JB, Olfaction. En: Goldman J. *The principles and Practice of Rhinology*. Ed. Wiley. New York 1987:761-785.
4. Cain WS, Gent JF, Goodspeed RB, Leonard G. Evaluation of olfactory dysfunction in the Connecticut Chemosensory Clinical Research Center. *Laryngoscope* 1988;98:83-88.
5. Karlsson AC, Lindroos AK, Lissner L, Torgerson JS, Carlsson B, Carlsson LM, et al. Evidence for gender-specific associations between leptin and olfaction. *J Gend Specif Med* 2002;5(6):25-32.
6. Briner HR, Simmen D. Smell diskettes as screening test of olfaction. *Rhinology* 1999;37:145-148.
7. Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses* 1997;22(1):39-52.
8. Kolbe N, Hummel T, Von Mering R, Huch A, Huch R. Gustatory and olfactory function in the first trimester of pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;99(2):179-83.
9. Abolmaali ND, Hietschold V, Volgl TJ, Huttenbrink K, Hummel T. MR Evaluation in patients with isolated anosmia since birth or early childhood. *Am J Neuroradiol* 2002;23:157-164.
10. Caruso S, Grillo C, Agnello C, Maiolino L, Intelisano G, Serra A. A prospective study evidencing rhinomanometric and olfatometric outcomes in women taking oral contraceptives. *Hum Reprod* 2001;16(11):2288-2294.
11. De Haro J. Olfatometría en la clínica diaria. *Acta Otorrinolaringol Esp* 1999;50:40-46.
12. Koelega HS, Koster EP. Some experiments on sex differences in odor perception. *Ann NY Acad Sci* 1974;237:234-46.
13. Henkin RI, Schechter PJ, Hoye R, Mattern CFT. Idiopathic hypogeusia with dysgeusia, hyposmia and dysosmia: A new syndrom. *JAMA* 1971;217:434-440.
14. Henkin RI, Smith FR. Hyposmia in acute viral hepatitis. *Lancet* 1971, i:823-826.
15. MC Connell RJ, Menendez CE, Smith FR, Henkin RI, Rivlin RS. Defects of taste and smell in patients with hypothyroidism". *Amer J Med* 1975;59:354-364.
16. Rehn T. Perceived odor intensity as a function of airflow through the nose. *Sens Processes* 1978;2:198-205.
17. Sherman AH, Amooore JE, Weigel V. The pyridine scale for clinical measurement of olfactory threshold: a quantitative reevaluation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1979;87:717-33.
18. Leopold D. Physiology of olfaction. En Cummings CM, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schuller DE, Richardson MA, eds. *Otolaryngology Head and Neck surgery*. Vol 2 ,capítulo 41 3ª edición. St. Louis, Mo: Mosby; 1998:770-798.
20. Estrem SA, Renner G. Disorders of smell and taste. *Otolaryngol Clin North Am* 1987;20(1):133-147.
21. Gilbert AN, Wysocki CJ. The smell survey results. *Nat Geogr Mag* 1987;172:514-25.
22. Wysocki CS, Gilbert AN. National Geographic smell survey: effects of age are heterogenous. En: Murphy C, Cain WS, Hegsted DM, eds. *Nutrition and the chemical senses in aging: recent advances and current research needs*. *Ann NY Acad Sci* 1989;561: 12-28.
23. Johnson GM. Odorization. *Proc Int Sch Hydrocarbon Meas* 1990;65:31-32.