



FACULTAD DE CIENCIAS
EXACTAS Y NATURALES



UNIVERSIDAD NACIONAL
DE LA PAMPA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

TESINA PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO
ACADÉMICO DE LICENCIADO EN QUIMICA

“DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA BASALES DE
COLINESTERASA PLASMÁTICA EN POBLACIÓN ADULTA EN REALICÓ, LA
PAMPA”

SOFIA N. MANDRILE

SANTA ROSA (LAPAMPA)

ARGENTINA

2017

PREFACIO

Esta Tesina es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Licenciado en Química de la Universidad Nacional de La Pampa y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad ni en otra Institución Académica. Se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Médico Realicó, Realicó, La Pampa, y en las instalaciones del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, durante el período comprendido entre abril de 2014 y la presente fecha, bajo la dirección de la Dra. Laura C. Bartel y la codirección de la Bioq. Vanina N. Bogino.

Fecha

Mandrile, Sofía N.

Departamento de Química

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo.

En primer lugar a la Universidad Nacional de La Pampa (UNLPam), por otorgarme los conocimientos necesarios para llevar a cabo este trabajo.

Al personal docente y técnico del Departamento de Química de la FCEyN (UNLPam) por su colaboración.

A mi Directora Laura Bartel y Co-Directora Vanina Bogino por todo su aporte y apoyo.

A la Ing. Agr. Eliana Abrahamovich por la ayuda en el análisis multivariado de los datos y a la Lic. María Jimena Berneri por posibilitar la presentación de este trabajo en un congreso nacional.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibidos de mi gran familia y amigos.

A mi madre por su incondicionalidad, por **ESTAR** siempre.

A Patricio, mi compañero de vida.

RESUMEN

Determinar la actividad de la colinesterasa plasmática o pseudocolinesterasa (pChE) en trabajadores rurales es parte de la rutina de vigilancia de intoxicaciones por exposición a carbamatos y organofosforados. Su disminución se correlaciona directamente con la exposición y un valor menor al 30% del valor de referencia indica intoxicación. Esta enzima presenta grandes fluctuaciones intra-interindividuales, con amplios rangos de normalidad dentro de una población y diferencias entre poblaciones. Contar con valores de referencia en poblaciones particulares es fundamental para implementar la vigilancia toxicológica. El objetivo fue obtener los valores basales de pChE para una población adulta control entre residentes de la ciudad de Realicó (La Pampa), representativa del grupo etario expuesto en condiciones laborales. Se incluyeron 100 voluntarios (ambos sexos, 18-72 años), asistentes a chequeos de rutina indagando datos personales, laborales y clínicos. Se determinó la actividad de pChE por medio de kit comercial. Se evaluó la influencia de las variables poblacionales género, edad, enfermedades crónicas preexistentes (ECP) y ocupación rural. El rango de pChE obtenido para el total de la población estudiada fue de 6.080-16.141U/L, más amplio y levemente superior al reportado por el fabricante del kit (3962 – 11.142 U/L). Las distintas variables, analizadas por test de t y análisis descriptivo multivariado, resultaron no influir directamente sobre el valor de pChE promedio de cada grupo. Así, ni la ocupación rural ni la edad, género o presencia de ECP definió un cambio significativo frente al promedio total. Esta población presenta valores basales de pChE altamente variables y dentro de los parámetros establecidos aunque levemente mayores.

Abstract

Determining the activity of plasma cholinesterase or pseudocholinesterase (pChE) in rural workers is part of the routine monitoring of intoxications due to exposure to carbamates and organophosphates. The decrease in this activity correlates directly with exposure, where 30% less than the reference value indicate intoxication. This enzyme presents large intra-interindividual fluctuations, with wide ranges of normality within a population and differences between populations. Having reference values in particular populations is fundamental to implement toxicological surveillance. The objective was to obtain baseline pChE values for a control adult population among residents of the city of Realicó (La Pampa), representative of the age group exposed in working conditions. We included 100 volunteers (both sexes, 18-72 years old), attending routine check-ups, investigating personal, work and clinical data. The activity of pChE was determined by means of a

commercial kit. The influence of the population variables gender, age, preexisting chronic diseases (ECP) and rural occupation were evaluated. The range of pChe obtained for the total population studied was 6.080-16.141 U/L, wider and slightly higher than that reported by the kit manufacturer (3962 – 11.142 U/L). The different variables, analyzed by t-test and multivariate descriptive analysis, did not directly influence the mean pChe value of each group. Thus, neither the rural occupation nor the age, gender or presence of ECP defined a significant change compared to the total average. This population presents basal values of pChe highly variable and within established but slightly higher parameters.

INDICE

	<u>Páginas</u>
INTRODUCCIÓN	
PLAGUICIDAS	1-11
ESTADÍSTICAS DE INTOXICACIONES	11-12
CLASIFICACION DE COLINESTERASAS	12-13
TOXICIDAD DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS	13-16
DETERMINACION DE VALORES BASALES	16-17
MATERIALES Y MÉTODOS	
MATERIALES	20
REACTIVOS	20
SELECCIÓN DE PARTICIPANTES Y TOMA DE MUESTRA	20-21
ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN DE PSEUDOCOLINESTERASA O COLINESTERASA SÉRICA	21-22
ESTADISTICA	22-23
RESULTADOS	24-34
DISCUSION	35-38
CONCLUSIONES	38
REFERENCIAS	39-44
APENDICE	45-51

ÍNDICE DE FIGURAS

	<u>Páginas</u>
ESQUEMA QUE REPRESENTA LOS DESTINOS DE UN PLAGUICIDA EN EL AMBIENTE	3
ESTRUCTURA MOLECULAR DE DICLORODIFENILTRICLOROETANO (DDT)	5
ESTRUCTURA MOLECULAR DE PARATIÓN	5
ESTRUCTURAS MOLECULARES DE ALDICARB Y MANCOZEB	6

ESTRUCTURAS MOLECULARES DE ALETRINA Y CIPERMETRINA	6
TIPOS DE PLAGUICIDAS USADOS EN ARGENTINA	7
EVOLUCIÓN DEL MERCADO ARGENTINO DE FITOSANITARIOS	9
ESQUEMA DEL PROCESO FISIOLÓGICO NEUROMUSCULAR DURANTE LA ESTIMULACIÓN	15
MECANISMO DE ACCIÓN DE CARBAMATOS	16
ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE pChe EN LA MUESTRA TOTAL	26
VALORES DE pChe EN FUNCIÓN DEL GÉNERO	27
VALORES DE pChe EN MUJERES EN FUNCIÓN DE LA EDAD	29
VALORES DE pChe EN EMBARAZADAS	30
ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA MÚLTIPLE	31
VALORES DE pChe EN VARONES EN FUNCIÓN DE LA EDAD	32
VALORES DE pChe EN VARONES EN FUNCIÓN DE LA OCUPACIÓN	33
ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA MÚLTIPLE	34

ÍNDICE DE TABLAS

	<u>Páginas</u>
CLASIFICACIÓN EN FUNCIÓN DE LAS PLAGAS SOBRE LAS QUE ACTÚAN	3
CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN FUNCIÓN DE SU TOXICIDAD	4
ELECCIÓN Y APLICACIÓN DE HERBICIDAS POR CULTIVO	7
VARIABLES POBLACIONALES	23
COMPARACIÓN DE VALORES DE pChe EN MUJERES CON Y SIN ECP REPORTADAS	28



Introducción

PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son productos químicos muy empleados por el hombre para el control de plagas agrícolas y su aplicación correcta es la medida más aceptada y efectiva para lograr la máxima producción y mejor calidad de los cultivos (Martínez-Valenzuela & Gómez-Arroyo, 2007).

Según la definición dada por la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), un plaguicida es una sustancia o mezcla de sustancias destinada a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo vectores de enfermedades humana o animal, especies indeseadas de plantas o animales capaces de causar daños o interferir de cualquier otra forma con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o mercado de los alimentos, otros productos agrícolas, madera y sus derivados o alimentos animales, o que pueden ser administrados a los animales para el control de insectos, arácnidos u otras plagas en sus organismos (Ferrer, 2003).

El término comprende las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de la fruta o para evitar su caída prematura, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes y después de la cosecha para proteger al producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte. El término no incluye normalmente los fertilizantes, nutrientes de origen vegetal o animal, aditivos alimentarios ni medicamentos veterinarios (Ministerio de Salud, http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000341cnt-14-Plaguicidas_Argentina.pdf, 2014).

ORIGEN

Los plaguicidas se clasifican de la siguiente manera:

- Inorgánicos: son compuestos de diferentes elementos, como arsénico, mercurio, cobre, etc. La mayoría están en desuso o han sido prohibidos, pero aún se utilizan algunos como el oxiclورو de cobre y el azufre.
- Orgánicos: son aquellos que tienen carbono en su molécula y se subdividen en:
 - Derivados de vegetales: son plaguicidas obtenidos de plantas, como las piretrinas naturales.
 - De síntesis: sustancias creadas por el hombre. La mayoría de los plaguicidas usados actualmente pertenecen a este grupo. Ejemplo: los organofosforados, los carbamatos, los piretroides (FAO, <http://www.fao.org/3/a-a1374s/a1374s06.pdf>).

PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS PLAGUICIDAS

Las propiedades físico-químicas de los plaguicidas definen su comportamiento en el medioambiente y los organismos con los que entra en contacto. En particular, la solubilidad en agua y lípidos, así como la presión de vapor y su capacidad de disociarse son claves en este proceso.

Todos los plaguicidas poseen distinta solubilidad en agua. Los más solubles son más móviles en suelos y otros elementos del ecosistema, encontrándose gran cantidad en ambientes acuáticos y, en general, no persisten en organismos vivos. Por ejemplo: plaguicidas organofosforados. Aquellos plaguicidas menos solubles tienden a inmovilizarse en los suelos y a concentrarse en organismos vivos, como por ej, los plaguicidas organoclorados (Del Puerto Rodríguez et al, 2014).

Asimismo, el coeficiente de partición octanol-agua muestra cuánto se disuelve una sustancia en agua y cuánto en un lípido; da información de la solubilidad y distribución de un plaguicida en organismos vivos. Así, los organoclorados con coeficiente de partición mayor a uno se distribuyen más fácilmente en tejidos grasos (Badii & Landeros, 2007).

La presión de vapor de una sustancia determina su volatilidad. Aquellas cuya presión de vapor sea alta, cuentan con mayor movilidad y dispersión en la atmosfera. También existen sustancias ligeramente volátiles y las no volátiles. Los plaguicidas no volátiles son persistentes en suelos y agua (Waliszewski & Infanzón, 2003).

Las sustancias en contacto con el agua pueden disociarse o no, determinando la aparición de sustancias neutras y/o cargadas positiva o negativamente. Usualmente, los plaguicidas aniónicos y los no iónicos son móviles en suelos, mientras que los plaguicidas catiónicos se absorben fuertemente en suelos (Badii & Landeros, 2007).

PROCESOS QUÍMICOS, FÍSICOS Y BIOLÓGICOS DE LOS PLAGUICIDAS

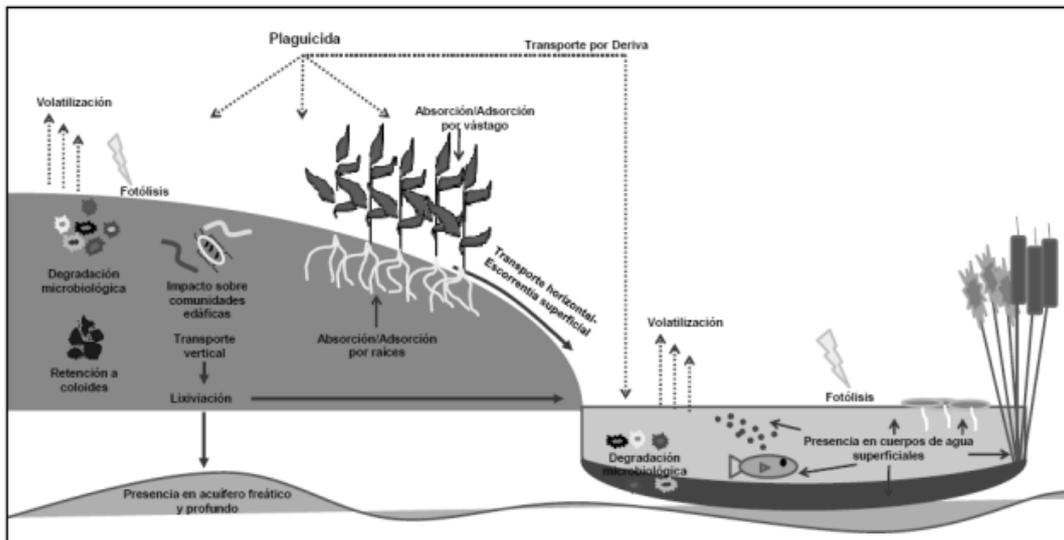
Luego de ser aplicados, los plaguicidas entran en contacto con el ambiente edáfico, sufren procesos de retención, transporte y degradación; lo que provoca una disminución de la concentración de plaguicida aplicado inicialmente.

Una vez que ingresan al suelo, el agroquímico se reparte en las 3 fases:

- **Fase líquida:** se transforman a otros compuestos o se transportan por el agua hasta que finalmente llegan al agua subterránea.
- **Fase sólida:** es retenido en el suelo. Los plaguicidas migran transportados por el agua o por el aire, a partir de la erosión hídrica y eólica, respectivamente.

- **Fase gaseosa:** es incorporado a la atmósfera cuando se volatiliza desde el suelo o desde el agua que se encuentra en el suelo (INTA, 2015).

Figura 1: Esquema que representa los destinos de un plaguicida en el ambiente



Fuente: Rev. Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente, INTA, 2015

CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS

Los plaguicidas se clasifican de diversas maneras, según su modo de acción, su peligrosidad, características químicas, etc. En la siguiente tabla se observa una de las clasificaciones más comunes.

Tabla 1. Clasificación en función de las plagas sobre las que actúan

Tipo de plaguicida	Organismo que controla
Insecticida	Larvicida Formicida Pulguicida Piojicida Aficida
Acaricida	Garrapaticida
Nematicida	Nemátodos
Molusquicida	Moluscos
Rodenticida	Roedores
Avicida	Columbicida
Bacteriostático y Bactericida	Bacterias
Fungicida	Hongos
Herbicida	Plantas indeseadas

Adaptado: (Benítez Leite, 2012)

A su vez, según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2009) en base a toxicidad aguda, se pueden clasificar en las siguientes categorías toxicológicas:

Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas en función de su toxicidad

Clasificación Toxicológica según el riesgo		DL ₅₀ en ratas (mg/kg de peso vivo)		Clasificación del peligro
		Oral	Dermal	
Ia	Sumamente peligroso	<5	<50	MUY TOXICO
Ib	Muy peligroso	5 - 50	50 - 200	TOXICO
II	Moderadamente peligroso	50 - 2000	200 - 2000	NOCIVO
III	Poco peligroso	>2000	>2000	CUIDADO
IV	Normalmente no ofrece peligro	>3000	>3000	CUIDADO

Adaptado: (Pina, 2012) DL₅₀: Dosis Letal 50

La etiqueta de cada plaguicida (Tabla 2) tiene impresa la categoría toxicológica del producto, que se representa por diferentes colores en una banda en su parte inferior (Schaaf, 2013).

Los agroquímicos clasificados dentro de las categorías I y II deben ser formulados por un ingeniero agrónomo, médico veterinario u otro profesional capacitado y debidamente inscrito ante la entidad correspondiente. El productor agropecuario, antes de comprar plaguicidas, debe contar con asesoría técnica, y de ser necesario su uso, debe decidirse por productos de categorías III y IV. (FAO, <http://www.fao.org/3/a-a1374s/a1374s06.pdf>). Sin embargo, la manera más frecuente de clasificarlos es en base a su estructura química. Así podemos describir las siguientes clases:

1. ORGANOCLORADOS

Son hidrocarburos con alto contenido de átomos de cloro (Figura 2), muy estables, altamente persistentes en el ambiente y tienden a acumularse en tejido graso. Son utilizados principalmente en la erradicación de vectores de enfermedades como paludismo, malaria y dengue (Martínez-Valenzuela & Gómez-Arroyo, 2007).

Las concentraciones de estos pesticidas pueden variar en lugar y en tiempo, tanto en los suelos como productos animales y vegetales. Después de su aplicación se desplazan de distintas maneras en el medio ambiente provocando su aparición en zonas donde no han sido utilizados o un aumento en zonas con bajos niveles (Jerez Fuenzalida, 1999).

El organoclorado más emblemático es el DDT (diclorodifeniltricloroetano), cuyo uso fue prohibido en 1972 por la EPA (Environmental Protection Agency, Agencia de Protección Ambiental, EEUU) debido a su alta toxicidad y peligrosidad (Badii & Landeros, 2007).

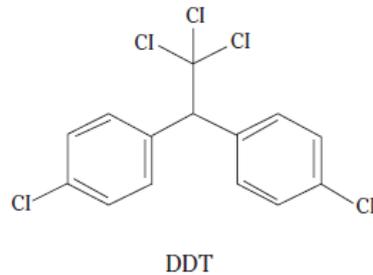


Figura 2: Estructura molecular de diclorodifeniltricloroetano

2. ORGANOFOSFORADOS

Son compuestos derivados del ácido fosfórico. Se clasifican en diferentes familias: fosfatos, fosfonatos, fosforoamidotoatoos, fosforodiamidatos, varias de ellas azufradas. Son utilizados en cultivos de hortalizas, frutales, granos, algodón y caña de azúcar, entre otros. Se emplean como insecticidas, acaricidas, nematocidas y fungicidas, algunos actúan como insecticidas de contacto y otros como sistémicos. Son compuestos altamente tóxicos y liposolubles lo que permite su rápida penetración por todas las vías: digestiva, cutánea y respiratoria. Aunque se distribuyen preferentemente a los tejidos grasos, no se acumulan en ellos debido a los procesos de biotransformación (Martínez-Valenzuela & Gómez-Arroyo, 2007).

Uno de los organofosforados más conocidos es el Paratión (Figura 3), un insecticida de contacto de amplio espectro. Dado que se absorbe por piel, tracto digestivo y sistema respiratorio, su uso fue prohibido por su alta toxicidad y persistencia al bioactivarse metabólicamente a Paraoxón, producto más tóxico (Badii & Varela, 2008).

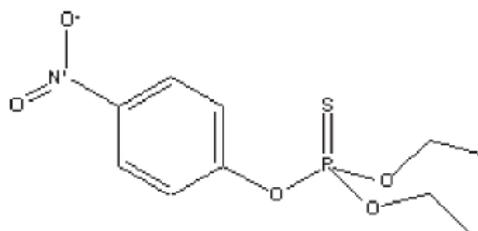


Figura 3: Estructura molecular de Paratión

3. CARBAMATOS

Son insecticidas derivados del ácido N-metil o dimetil carbámico que presentan elevada toxicidad aguda. Se puede absorber por todas las vías, mayormente por piel y producen

síntomas similares a los causados por los organofosforados, aunque no se acumulan (Guacaneme et al, 2014). Se emplean como insecticidas, herbicidas, fungicidas y nematocidas (Martínez-Valenzuela & Gómez-Arroyo, 2007). Algunos ejemplos de carbamatos son: Aldicarb con uso restringido en la actualidad y prohibido para ciertas dosis y características del suelo donde se aplica, Carbofuran prohibido para cultivos de pera y manzana, Carbarilo y Mancozeb (Figura 4) (CASAFE, 2009).



Figura 4: Estructuras moleculares de Aldicarb y Mancozeb

4. PIRETROIDES

Son insecticidas naturales derivados de la flor de crisantemo y se obtienen además, por síntesis química. Al modificar su estructura se obtiene como derivado a las piretrinas, de mayor estabilidad. Se clasifican en dos tipos, I o II, según carezcan o posean el grupo ciano en su molécula, respectivamente y se emplean como ingredientes de productos destinados a la erradicación de insectos en el interior de establecimientos públicos y hogares. Su ingreso a los insectos es por contacto o ingestión (San Román et al, 2003). Algunos ejemplos de piretroides más utilizados son aletrina, cipermetrina, permetrina, resmetrina, tetrametrina (Figura 5) (Ponce et al, 2006).



Figura 5: Estructuras moleculares de Aletrina y Cipermetrina

USOS DE PESTICIDAS, CLASIFICACIÓN POR ÉPOCA DE AÑO Y CULTIVO

Argentina es un país productor agrícola de importancia, trayendo aparejado la aplicación de cantidades significativas de plaguicidas que impactan sobre la calidad del ambiente. En los últimos años se introdujo la soja transgénica resistente al Glifosato, lo que provocó un cambio agrario importante en nuestro país, aumentando notablemente el rendimiento de

cosechas y superficies sembradas. Esto generó un crecimiento en la utilización de semillas modificadas genéticamente, aplicación del herbicida glifosato y otros insecticidas, como endosulfán, clorpirifós y distintos piretroides (CASAFE, 2009). Un reporte actual (Figura 6) indica que en la Provincia de Misiones, se utilizan dosis crecientes de herbicidas en el cultivo de yerba mate; mientras que en la pampa húmeda (zonas de cultivo de granos transgénicos) se incrementó el uso de herbicidas como el glifosato, el 2,4-D y el insecticida endosulfán (Villaamil Lepori et al, 2013).

Figura 6: Tipos de plaguicidas usados en Argentina



En la región donde se llevó a cabo nuestro estudio, al norte de La Pampa, se utilizan mayormente Glifosato, Atrazina y 2,4 D. Durante el año se realizan dos tipos de campañas o cosecha “fina” y cosecha “gruesa”. La primera comprende a trigo, donde los agroquímicos se aplican desde mayo a diciembre. La segunda campaña, comprende como granos “gruesos” a maíz, girasol y soja y los agroquímicos son aplicados de septiembre a marzo. El tipo de cultivo y época del año definen su elección (Tabla 3) (CASAFE, 2009).

Tabla 3: Elección y aplicación de herbicidas por cultivo

Trigo	Girasol	Maíz	Soja
-2,4 D	-Aceite mineral +	-2,4D + picloram	-2,4D
-2,4D + picloram	haloxifop r metil	-Acetoclor+protector	-Cloransulam metil
-Aminopyralid +	ester	-Atrazina	-Clorimuron etil
metsulfuron metil	-Cletodim	-Dicamba	-Glifosato
-Dibromuro de	-Diflufenican	-Glifosato	-Galoxifop r metil
diquat	-Haloxifop r metil	-Metolacloro	-Imazetapir
-Dicamba		-Nicosulfuron	-Fomesafen
-Flurocloridona		-S-metolacloro	metaclor

INSTRUMENTOS LEGALES Y MECANISMOS NO-REGLAMENTARIOS PARA EL MANEJO DE PESTICIDAS

En la Argentina existen normativas a nivel nacional y provincial referidas a la protección del ambiente, de recursos naturales y uso de plaguicidas.

- **Leyes nacionales**

Las normas que regulan la fabricación, importación, exportación, almacenamiento, uso, y disposición final de los residuos de plaguicidas en la Argentina surgen de distintas áreas del gobierno. En la elaboración y aplicación de estas normas están involucrados el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (SENASA), el Ministerio de Salud y el Ministerio de Trabajo, Empleo y Seguridad Social; la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Secretarías de Transporte y de Industria, Comercio y PyME.

Entre la amplia lista de resoluciones que establece el SENASA, se encuentra la Res. 256/03 donde se fijan tolerancias o límites máximos de residuos de plaguicidas en productos y subproductos agropecuarios, listado de productos que se hallan exentos del requisito de fijación de tolerancias y uno de principios activos prohibidos y restringidos en la legislación vigente (Pórfido & Butler, 2013).

Asimismo, el Ministerio de Salud tiene una lista de resoluciones basadas en el control de las intoxicaciones provenientes del mal uso de agroquímicos. La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) establece las prohibiciones o restricciones en todo el país, sobre producción, importación, comercialización, uso de agroquímicos y sus principios activos. Entre los productos prohibidos se encuentran clorpirifós y diazinón, dos organofosforados altamente tóxicos, ya que inhiben la actividad de las enzimas colinesterasas; plaguicidas organoclorados como diclorvós y malatión, prohibidos por su elevada toxicidad y persistencia en el ambiente, y compuestos que actúan como raticidas/rodenticidas en pellets y granos (Pórfido & Butler, 2013).

- **Leyes provinciales**

Los estados provinciales mantienen el ejercicio del poder de policía, controlando el comercio, uso y aplicación de plaguicidas dentro de sus respectivos territorios. La mayoría de las provincias tienen sus leyes y normativas y La Pampa cuenta con las siguientes:

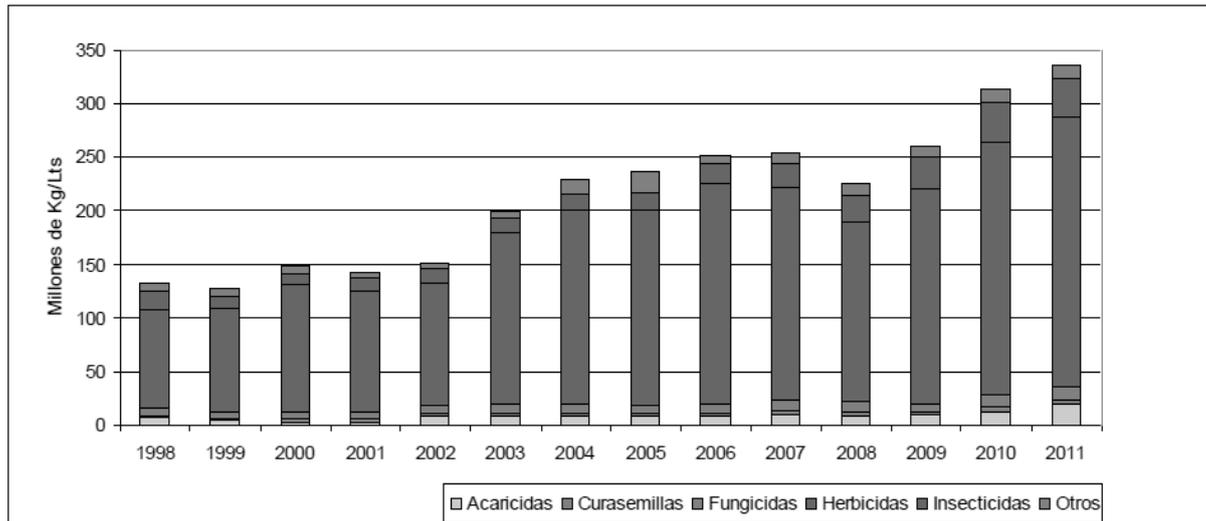
1. Ley 1.173: regula la fabricación, distribución, comercialización, almacenamiento, traslado y utilización de agroquímicos –fitosanitarios- en territorio provincial
2. Decreto Reglamentario N° 618/90: Reglamenta la Ley N° 1.173. (Pórfido & Butler, 2013)

3. Disposición 1198/07: normas básicas de seguridad en depósitos de agroquímicos.
4. [Ordenanza N°16/15 - Realicó](#): protección de la salud humana y de los recursos naturales de la producción agropecuaria y del patrimonio de terceros de los daños que podrían ocasionarse por el uso contrario a lo dispuesto por la Ley 1.173 y su reglamentación.
5. Disposición N° 2043/06 - Uso de 2.4 D ESTER: su aplicación requiere de condiciones ambientales muy favorables y prácticas de manejo especialmente cuidadosas a efectos de minimizar posibles efectos negativos (Ministerio de la producción, <http://www.produccion.lapampa.gov.ar/legislacion-vigente-agroquimicos.htm>).

DATOS SOBRE VENTA DE PESTICIDAS NACIONALES O PROVINCIALES

La Argentina se caracteriza por tener un importante consumo anual de plaguicidas, muchos de ellos de origen nacional, sintético o formulado. Cuando se analizan las estadísticas del mercado Argentino de productos fitosanitarios, se puede observar en los últimos una tendencia creciente en su uso (Figura 7) (Pórfido & Butler, 2013).

Figura 7: Evolución del mercado argentino de fitosanitarios (CASAFE, 2012)



La venta de herbicidas y en especial de glifosato representa el 65% del total de plaguicidas, con aproximadamente 182 millones de litros (INTA, 2015). Este panorama se repite a nivel mundial y en los últimos años se ha generado una gran controversia respecto de los posibles efectos adversos sobre el ambiente y la salud humana.

Según estudios realizados, presenta muy baja toxicidad y, usado correctamente, el riesgo para la salud y el ambiente es bajo (Pórfido & Butler, 2013). Sin embargo, estudios

realizados en nuestro país indican que este compuesto causa malformaciones en anfibios en su etapa embrional, aun en dosis inferiores a las utilizadas a campo. Así, los cambios inducidos en la morfogénesis de embriones vertebrados generan preocupación respecto del potencial efecto en el desarrollo de fetos humanos en poblaciones expuestas a herbicidas de la familia del glifosato (Paganelli et al, 2010). Esto se condice con el registro de un incremento de malformaciones en humanos residentes de zonas agrícolas, o de cultivo de soja con uso intensivo de este herbicida (Carrasco, 2010). Además de la posibilidad de generar efectos teratogénicos, se mantiene la duda respecto de su potencial efecto carcinogénico en humanos.

A principios de 2015 la IARC publicó un informe en base a la revisión de datos científicos y clasificó como 2A, probable carcinógeno humano, a un grupo de 5 pesticidas organofosforados que incluyen: glifosato, malatión, diazinón, paratión y tetraclorvinfós. Sin embargo, en el presente año el status cambió a 2B, posible carcinógeno humano, para el paratión y tetraclorvinfós (IARC, 2017). Esta clasificación indica que la evidencia de carcinogenicidad en humanos es limitada, aunque suficiente en estudios realizados en animales de experimentación.

El estudio mencionado anteriormente y la presión ejercida por diversas agrupaciones de pobladores de distintas zonas agrícolas de nuestro país y otras regiones del mundo desataron la polémica con Monsanto, empresa multinacional estadounidense productora de agroquímicos y biotecnología destinados a la agroindustria y fabricante del glifosato. A pesar de la evidencia científica y las recomendaciones de la IARC, ésta y otras empresas del rubro rechazan los resultados obtenidos científicamente y continúan la producción, siendo los estados y organismos de control quienes deben legislar e intervenir en políticas de salud.

En simultáneo, ha aumentado el uso de otros herbicidas debido a la aparición de malezas resistentes. En un ranking de los 15 productos más usados durante el año 2013, aparecen: glifosato, 2,4-D, atrazina, diclosulán, cletodin, azoxystrobina + cyproconazol, rynaxypyr, haloxifop, clorpirifos, flubendiamide, trifloxystrobin + cyproconazol, pyraclostrobin + epoxiconazol, S-metolaclor, dicamba y tiametoxam + lambdacialotrina. Pero el uso excesivo de este tipo de plaguicidas pone en riesgo los suelos, debido a que se disminuye la capacidad de actuar como reactor bio-físico-químico, es decir que pierde la capacidad de transformar, filtrar, amortiguar y depurar las sustancias que lleguen a su superficie (INTA, 2015).

Respecto de su origen, la Argentina produce el 17% aproximadamente de los principios activos que consume, mientras que 83% restante se importa de distintos países, como China, Estados Unidos, India, Alemania, Israel y Brasil (Pórfido & Butler, 2013).

ESTADÍSTICAS DE INTOXICACIONES

Las intoxicaciones por compuestos organofosforados son un problema tanto a nivel mundial como en países en vías de desarrollo, por la constante exposición a estas sustancias en actividades laborales, uso doméstico, ingestión de alimentos contaminados e ingestión intencional (Medina Cuenca, 2012).

Según la OMS, se reportan por año un millón de intoxicaciones accidentales con insecticidas, mientras que las provocadas las duplican. Menos del 10% de estos casos terminan en la muerte (Medina Cuenca, 2012). Actualmente se cuenta con información recabada en distintos países de nuestra región respecto del uso de pesticidas y prevalencia de casos de intoxicaciones. En Brasil, por ejemplo, estudios de vigilancia epidemiológica llevados a cabo en 2005 en el estado de Sao Paulo, señalan que aproximadamente de 5000 trabajadores agrícolas medicamente examinados, el 18% presentaron disminución de colinesterasa, con síntomas desde muy leves hasta muy graves; es decir, un caso de intoxicación por cada 6 trabajadores agrícolas examinados (Dall'Acqua et al, 2011).

En México, el impacto ambiental y de salud pública generado por el uso de plaguicidas es crítico. Evaluando intoxicaciones alimentarias por plaguicidas en una zona agrícola, se demostró que el 44 % de los plaguicidas involucrados eran organofosforados. (Hernández González et al, 2006)

Cuba es un país agrícola que mantiene un determinado nivel de uso de productos agroquímicos, pero no escapa a la problemática mundial de exposición a pesticidas. Entre 1990 y 1994 se registraron 629 muertes, de las cuales el 55% fueron provocadas por pesticidas organofosforados (González Valiente et al, 2001).

En Colombia, se registró una disminución de los valores de colinesterasa y su asociación con la forma de aplicación del plaguicida, detectando mayor riesgo de exposición en aplicaciones urbanas que en aéreas (Idrovo, 2000).

En Ecuador, se analizaron datos desde 2001 a 2007 registrándose que el envenenamiento por plaguicidas ocurrió en agricultores de ambos sexos que trabajaban en condiciones adversas. El envenenamiento se produjo en plantación de flores y bananeras en todo el país donde el 71% de los casos se debían a intoxicaciones por organofosforados, provocando la muerte en el 4% de los casos (Medina Cuenca, 2012).

En nuestro país, entre Agosto de 2000 y diciembre de 2003 en el sur de Corrientes, se realizó un estudio sobre 44 intoxicaciones graves entre un total de 1602 internaciones debido al uso de agroquímicos organofosforados (Ivaldi et al, 2005).

En conclusión, las intoxicaciones producidas en América Latina se relacionan con el uso incorrecto de los agroquímicos peligrosos, así como con el escaso control en su comercialización.

CLASIFICACION DE COLINESTERASAS

Dentro de las colinesterasas se incluyen la colinesterasa eritrocitaria o acetilcolinesterasa y la colinesterasa plasmática o pseudocolinesterasa.

Acetilcolinesterasa (AChE): Se produce en el hígado y está implicada en la transmisión de impulsos nerviosos mediante la hidrólisis de la colina y acetilcolina. Esta enzima funciona como el “apagador” del sistema nervioso y es esencial para que éste funcione correctamente (Cárdenas et al, 2010).

Pseudocolinesterasa (pChE): Se encuentra en el hígado, el páncreas, el corazón, en la materia blanca del cerebro y en el suero (González León et al, 1990).

La exposición a pesticidas organofosforados disminuye el nivel de la acetilcolinesterasa. Sin los niveles normales, los nervios en el cuerpo se sobreestiman hasta agotarse, presentando distintos síntomas entre los que se encuentran visión borrosa, diarrea y temblores que pueden desencadenar convulsiones, pérdida de conciencia e incluso la muerte (Medina Cuenca, 2012). De este modo, la medición de la actividad acetilcolinesterasa es el biomarcador de elección para determinar la exposición e intoxicación por pesticidas.

La pseudocolinesterasa es importante para detectar pacientes con formas atípicas de colinesterasa, disfunción hepática o intoxicación con plaguicidas. En contacto con plaguicidas su actividad disminuye más rápido que la colinesterasa eritrocitaria, por lo que la primera es un índice sensible para prevenir intoxicación (Jiménez-Díaz & Schosinsky-Neermann, 2000). Frecuentemente los organofosforados y carbamatos ejercen su efecto inhibitorio sobre la acetilcolinesterasa en las terminaciones nerviosas, clínicamente se monitorea la pseudocolinesterasa debido a que su concentración es mucho mayor y los cambios en su nivel se detectan fácilmente por las técnicas de laboratorio (Pineda, 2007).

Diversos factores afectan los valores normales de esta enzima. En muchas enfermedades la actividad de la pseudocolinesterasa está por debajo de lo normal, como el caso de daño en

el parénquima hepático, cáncer, quemaduras, insuficiencia renal crónica, déficit nutricional e hipotiroidismo. Además, se produce aumento de la actividad en estados de ansiedad, asma, hipertensión arterial, bocio nodular, alcoholismo, hipertermia, psoriasis, obesidad, esquizofrenia, síndrome maníaco-depresivo y diabetes (Fernández Prieto et al, 2011; Carmona-Fonseca, 2006).

Además, su actividad está sujeta a un abrupto gradiente diario, de forma tal que existiendo o no exposición a pesticidas, los valores matinales individuales son mayores que los vespertinos (Ibarra Fernández de la Vega & Fernández, 2012). La edad también determina variaciones en su valor. En el período neonatal y en las subsiguientes semanas el nivel en suero es sólo el 50% del observado en el adulto. Se incrementa gradualmente alcanzando el valor de adultos a los 6 años, se estabiliza en la pubertad y permanece sin cambios por el resto de la vida. Estos valores, aunque variables, entran dentro del rango de referencia, por lo que no son relevantes clínicamente. Es mayor en adultos hombres que en mujeres. Durante el embarazo, la mujer presenta una disminución de la actividad de un 20 a un 30% durante el primer trimestre, permanece así a lo largo del embarazo y retorna a valores normales pocas semanas después del parto (Rojas de et al, 2013).

La actividad de la acetilcolinesterasa refleja de mejor modo la actividad del sistema nervioso en comparación con la pseudocolinesterasa, aunque ésta responde a la acción de un inhibidor y vuelve a la normalidad con mayor rapidez que la acetilcolinesterasa. En la práctica, interesa la determinación de ambas colinesterasas (Obiols, 1999).

TOXICIDAD DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS

Los organofosforados y carbamatos son potentes inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa, causando graves intoxicaciones agudas de tipo laboral como también efectos a largo plazo (Varona et al, 1998).

Los organofosforados son altamente tóxicos y se absorben rápidamente por las vías respiratorias y por la piel, así como también por medio de la ingestión. Los carbamatos también pueden ser muy tóxicos, y una vez que ingresan al cuerpo se distribuyen rápidamente por el torrente sanguíneo.

Por otro lado, los plaguicidas organoclorados fueron los primeros en aplicarse mundialmente de forma masiva. Aunque su uso se encuentra restringido debido a su toxicidad, se deben tener en cuenta sus efectos sobre el sistema endocrino y nervioso, su potencial mutagenicidad y carcinogenicidad, además de la capacidad de acumularse en tejido graso (Plenge-Tellechea et al, 2007).

Toxicodinamia

La toxicodinamia estudia los efectos tóxicos producidos por los xenobióticos en el organismo, bajo las distintas circunstancias de exposición. Su conocimiento permite establecer parámetros que reflejan su toxicidad, así como los niveles de exposición aceptables. Los valores de referencia se establecen considerando la correlación entre los niveles de exposición crónica en el ámbito ocupacional y los valores de los biomarcadores o indicadores biológicos obtenidos en muestras apropiadas. Por el contrario, el tipo de muestra, el momento de la toma y otros aspectos de la práctica del control biológico vienen determinados por la toxicocinética del compuesto en cuestión (Obiols, 1999).

La evolución de una intoxicación se observa en función del tiempo. Por ello, se clasifican como agudas, crónicas o subagudas (o subcrónicas).

Intoxicación aguda: patología que sobreviene, por una sola dosis del tóxico, a las pocas horas de la administración. También se aplica al caso de varias dosis administradas en un tiempo no mayor de 24 h. En muchos casos se presenta un fenómeno de reversibilidad pero si la dosis es alta, puede ocasionar la muerte.

Intoxicación subaguda: aparece en un tiempo corto (días o semanas) de una única dosis o de subdosis administradas en pocos días.

Intoxicación crónica: aparece por absorción repetida de un tóxico en dosis que no producen por sí efectos tóxicos agudos (efectos subclínicos). Puede demorar meses o años en expresarse. En la mayoría de los casos, son de carácter irreversible (Degrossi, 2013).

Los efectos que se observan por exposición a organofosforados incluyen:

1. Exposición aguda

Los efectos inmediatos son los más frecuentes. Se manifiestan por la inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa, y los signos y síntomas que se presentan se clasifican en tres tipos: muscarínicos, nicotínicos, y del sistema nervioso central (SNC). Se dan como consecuencia de la acumulación de la acetilcolina en los receptores y la distribución y severidad varían con el grado de intoxicación.

Se observa el descenso de la actividad colinesterásica (eritrocitaria y plasmática) (Obiols, 1999).

Efectos retardados: los síntomas empiezan 1 a 3 semanas luego de la exposición aguda. Este retraso está relacionado con la dosis del tóxico y con su naturaleza química (Obiols, 1999).

2. Exposición repetida o crónica

Son consecuencia de la inhibición progresiva de la acetilcolinesterasa, cuanto más lenta, más tardan en aparecer los síntomas. Por el contrario, si la exposición es intensa y la inhibición es rápida, la sintomatología será más marcada (Schaaf, 2013).

3. Indicadores de efecto y exposición

Las colinesterasas constituyen los biomarcadores de efecto de elección para el control biológico de los trabajadores expuestos a organofosforados. Así, el parámetro de interés es la medida de la inhibición de estas enzimas luego de la exposición a estos pesticidas.

Como se dijo anteriormente, los distintos organofosforados inhiben a las distintas colinesterasas en diferente medida y según diferentes patrones temporales (Obiols, 1999).

La principal toxicidad de los compuestos organofosforados es la unión covalente entre los radicales fosfatos a los sitios activos de las colinesterasas, transformándolas en proteínas inertes. Esto conduce a la acumulación de acetilcolina en las sinapsis, provocando una sobreestimulación y la consiguiente interrupción del impulso nervioso en el sistema nervioso central y periférico (Subash Vijaya, K et al, 2010).

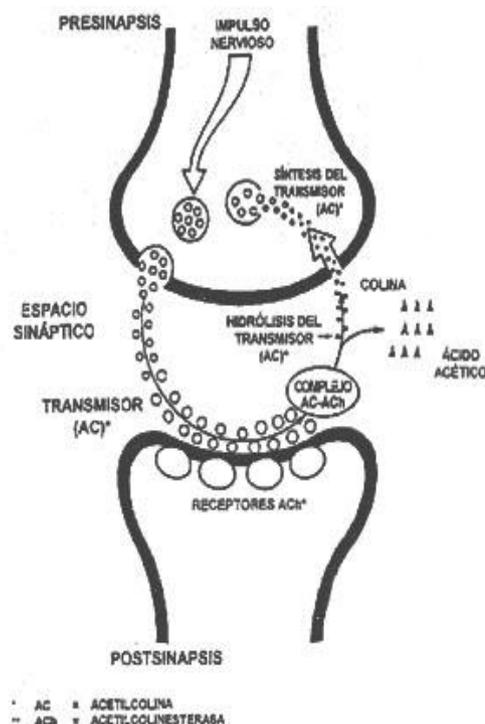


Figura 8: Esquema del proceso fisiológico neuromuscular durante la estimulación. Adaptado de: (Cotos et al, <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/millaco/generalidades.htm>)

La exposición a **carbamatos** causa acumulación de acetilcolina en los receptores neuronales provocando el efecto muscarínico, en las uniones mioneuronales del músculo esquelético y en ganglios autónomos generando efectos nicotínicos. Estos efectos, a

diferencia de los que provoca una exposición a organofosforados, son reversibles (Suárez Solá et al, 2004).

Los más utilizados son los carbamatos de N-metilo, tanto en hogares y jardines como en agricultura. Causan síntomas similares a los provocados por los organofosforados pero su envenenamiento es más sencillo de tratar medicamente. Algunos de los productos comerciales son: Aminocarb, Dicarbam, Mesurol (Rozo & Galvis López, 2016).

La razón de su reversibilidad es que la combinación carbamilo-acetilcolinesterasa se disocia más rápidamente que el complejo fosforilo-acetilcolinesterasa producido por los organofosforados, en un lapso de 24 hs. Sin embargo, esta alteración tiene algunas consecuencias:

- Limita la duración del envenenamiento con el insecticida carbamato N-metilo
- Es responsable de que el intervalo que existe entre la dosis que genera los síntomas y la dosis letal sea mayor que en los compuestos organofosforados
- Con frecuencia invalida la medición de la actividad de la colinesterasa en la sangre como indicador de diagnóstico de envenenamiento (Plazas Hernández & Olarte, 2011).

Los carbamatos N-metilo son hidrolizados enzimáticamente en el hígado, eliminándose sus metabolitos por vía renal y hepática, aunque también pueden ser bioacumulados en el hígado (Napán et al, 2010).

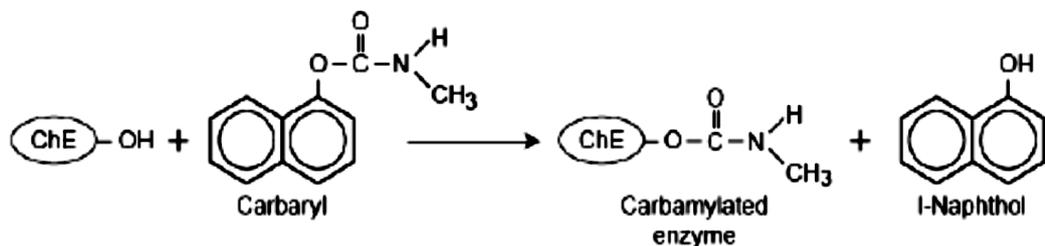


Figura 9: Mecanismo de acción de Carbamatos

DETERMINACION DE VALORES BASALES DE COLINESTERASAS

Durante la evaluación de exposición ocupacional diaria a compuestos organofosforados y carbamatos, no se suele contar con valores “normales” individuales. Los trabajadores que se exponen a estos pesticidas, normalmente no son sometidos previamente a un examen médico preocupacional ni a un análisis de actividad colinesterásica sanguínea.

Por ello, el examen es incompleto una vez presentes los síntomas y ante la sospecha de intoxicación por plaguicidas organofosforados y carbamatos, sin antes contar con un valor basal de la enzima.

Ante esta situación, es necesario encontrar un valor de referencia que pueda utilizarse para comparar y evaluar la actividad de la enzima sanguínea una vez producida la exposición de la persona. Este valor se obtendrá comparando valores de referencia de colinesterasa perteneciente a una población “normal”, es decir, no expuesta a este tipo de plaguicidas.

De esta manera, primero se debe definir qué actividad colinesterásica se va a medir (acetilcolinesterasa o pseudocolinesterasa) y que método se va usar para realizar el ensayo. Entre los métodos más utilizados se encuentra el método de Ellman y el método electrométrico de Michel. La OMS recomienda el método de Ellman, que consiste en la determinación espectrofotométrica basada en la hidrólisis de la acetilcolina y posterior medición del compuesto coloreado que se genera (Ibarra Fernández de la Vega & Fernández, 2012).

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

La intoxicación con pesticidas organofosforados y carbamatos modifica la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, que naturalmente presenta variaciones. Conocer los valores basales de una población en particular permitirá en el futuro detectar rápidamente si se produjo una intoxicación o no.

Objetivo general

- Estudiar los valores de la enzima pseudocolinesterasa de una población adulta control, representativa de la ciudad de Realicó, La Pampa.

Objetivos específicos

- Definir para la población estudiada un rango de valores de referencia y determinar si están comprendidos entre los reportados en bibliografía.
- Determinar si variables como edad, género, enfermedades preexistentes y exposición a pesticidas influyen en los valores encontrados.
- Incorporar la determinación de la actividad pseudocolinesterásica a la batería de ensayos clínicos disponibles en la ciudad.



*Materiales y
 Métodos*

1. Materiales:

- Material descartable para extracción de sangre.
- Material de vidrio.
- Gradillas.
- Micropipeta 10µl-100µl.
- Tips descartables.
- Cronómetro.
- Baño termostático.
- Centrífuga.
- Espectrofotómetro Metrolab 1600 Plus versión 3.05h.

2. Reactivos:

- Kit comercial COLINESTERASA (Wiener Lab, 20 x 3 ml, Cód. 1241401). Dicho kit provee los reactivos A y B, para la determinación de la pseudocolinesterasa (pChe).

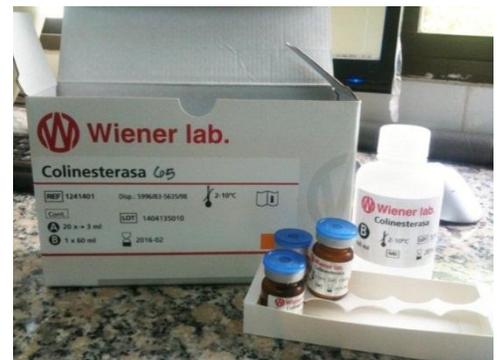
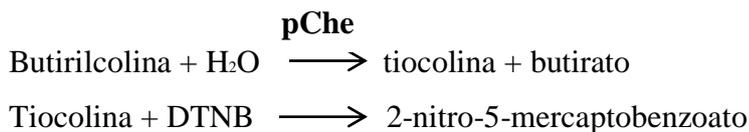
Reactivo A: viales conteniendo ioduro de S-butirilcolina y ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) desecados.

Reactivo B: solución de buffer fosfatos, pH 7,7.

Las concentraciones finales q se obtienen una vez reconstituidos los viales son:

Ioduro de S-butirilcolina----- 7 mmol/l
DTNB----- 0,25 mmol/l
Fosfatos----- 50 mmol/l

El fundamento del método consiste en:



3. Selección de participantes y toma de muestra:

La ciudad de Realicó, ubicada al norte de la provincia de La Pampa y con neta actividad agrícola-ganadera, cuenta con 7.591 habitantes según el último censo

(<http://www.lapampa.gov.ar/realico.html>). De manera de obtener resultados representativos, se realizó un muestreo de 100 personas al azar con edades comprendidas entre 18 y 72 años, teniendo en cuenta ambos sexos (<http://www.med.unne.edu.ar/biblioteca/calculos/calculadora.htm>). A todos los participantes se les brindó información sobre el estudio a realizar, explicándoles qué tipos de pesticidas son los que afectan a la enzima pChe, su modo de acción y los síntomas que se presentan más comúnmente. Además, luego de ser informados respecto del estudio, los participantes firmaron un consentimiento informado (ver Apéndice) donde autorizaron a la toma de muestra y su procesamiento. Los participantes fueron seleccionados entre los asistentes a realizarse exámenes de rutina al Centro Medico Realicó, ubicado en la localidad y que aceptaran participar voluntariamente.

Para la determinación de la actividad pChe se aprovechó el excedente de suero utilizado en el análisis de rutina para el que asistían al centro médico. Para concluir, se les realizó una encuesta indagando datos personales, laborales y clínicos (ver Apéndice) con el fin de correlacionar una posible exposición a pesticidas con los resultados obtenidos en cada caso y en la muestra total.

La toma de muestra consistió en la extracción de sangre de manera habitual utilizando el material descartable apropiado.

4. Análisis y determinación de pChe

4.1: Preparación de la muestra. Se procedió a incubar la muestra extraída hasta lograr la correcta coagulación. Se centrifugó a 3000 rpm durante dos ciclos de 5 min cada uno para lograr la separación del suero. Se realizó una dilución 1:5 tomando 100µl de suero y completando con 400µl de solución fisiológica.

4.2: Reconstitución de vial conteniendo el sustrato enzimático. Para la correcta reconstitución se adicionaron 3 ml de solución buffer fosfato (reactivo B) al vial conteniendo ioduro de S-butiriltiocolina y ácido 5,5`-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) desecados (reactivo A), se tapó y agitó hasta la completa disolución.

4.3: Preincubación del sustrato enzimático. Una vez reconstituido el vial con el reactivo A, se tomaron 1,5 ml y preincubaron en baño de agua a 30°C durante 5 minutos.

4.4: Determinación de pseudocolinesterasa. Previo a realizar la lectura se programó el espectrofotómetro con las siguientes condiciones de trabajo:

PROGRAMACION	
Tipo	Cinética
Unidad	U/L
Temperatura (°C)	30
Tiempo incubación (seg.)	30
Tiempo medición (seg.)	60
Factor	11355
Volumen (µL)	500

La determinación de la actividad enzimática se inició por el agregado rápido de 10 µL de suero a 1,5 ml del sustrato preincubado. El resultado obtenido corresponde al valor de actividad pseudocolinesterásica respectiva, calculada a partir de la detección espectrofotométrica del complejo coloreado formado

La reproducibilidad del método se evaluó inicialmente con una muestra conocida. Luego, la lectura de cada muestra se realizó por duplicado.

5. Estadística:

Los cálculos y test estadísticos se realizaron a través de Microsoft Office Excel 2010, aplicando test t para medias de dos muestras emparejadas (95 % de nivel de confianza). El análisis de correspondencia múltiple se realizó por medio de STATISTICA 7.

El análisis de correlación se desarrolló con el programa Infostat versión 2016 (Di Rienzo et al, 2016). Luego de aplicar el test de normalidad de Shapiro-Wilks modificado, se realizó un análisis de correlación: Pearson (para población normal) o Spearman (para población que no sigue la normalidad).

La matriz de datos se constituyó con los valores de pChe obtenidos para cada paciente, correlacionando con edad, género, ocupación y enfermedades preexistentes. Las variables edad y pChe se definieron en base a rangos de valores de manera de tener categorías únicas que permitan el análisis de correspondencia múltiple.

Los valores y rangos definidos para cada variable analizada se describen en la siguiente tabla:

Tabla 4. Variables poblacionales

VARIABLES	Rango de Valores	Categorías
Género	Femenino	Mujeres
	Masculino	Varones
Edad	14-40 años	< 40
	41-72 años	>40
Ocupación	Rural	Rural
	No Rural	No rural
Valor de Pseudocolinesterasa	<8000 U/L	I
	8000-12000 U/L	P
	>12000 U/L	S
Enfermedades Crónicas Preexistentes	Si	ECP
	No	No ECP
Embarazo	Si	EMB
	No	No EMB

Resultados

I-Características de la población en estudio

El estudio se realizó contando con la participación voluntaria de 100 personas, con edades comprendidas entre 18 y 72 años. La toma de muestra y análisis se llevó a cabo entre septiembre de 2014 y noviembre de 2015.

La información requerida en la encuesta permitió registrar lugar de residencia, ocupación laboral, enfermedades crónicas preexistentes (ECP) y estadio de embarazo cuando correspondió, además de hábitos personales, así como exposiciones a pesticidas previas o actuales.

El total de la población estudiada estuvo comprendida por 58 mujeres y 42 hombres, siendo 44 años el promedio de edad para cada uno. Ambos géneros fueron subdivididos en dos rangos de edad, con 40 años como corte. Así, las mujeres de hasta 40 años constituyeron el 45% del total (n=26; 18-40 años), 5 de ellas embarazadas; mientras que el 55% restante tuvo entre 41 y 68 años (n= 32). El segundo grupo de mujeres reportó mayor cantidad de casos de ECP.

El género masculino, con participantes de entre 19 y 72 años contuvo a la totalidad de empleados rurales de la población estudiada (19% del total, 45% de la población masculina). El 38% eran menores de 40 años.

Respecto de la exposición a pesticidas, se detectó que un 19% del total de la población tuvo contacto alguna vez con pesticidas, mayormente asociado a actividades laborales. Entre ellos, se reportaron 7 casos de intoxicación en el pasado, asociados a piretroides (3), organofosforados (2) y otros pesticidas desconocidos. Reportaron haber tenido síntomas generales como mareos, dolor de cabeza, decaimiento, dolores musculares y trastornos gastrointestinales.

De todos los que reportaron el uso de pesticidas habitualmente, sólo un 8% manifestó utilizar algún tipo de protección durante su manipuleo. En su mayoría refirieron sólo el uso de guantes, y a veces barbijos comunes. El 51% del total de la población informó que habitualmente utiliza insecticidas de uso doméstico en aerosol.

Dado que el 83% de los participantes eran residentes de la ciudad de Realicó, y los que no, provenían de poblaciones cercanas, no se consideró el lugar de residencia como variable para el análisis de correlaciones.

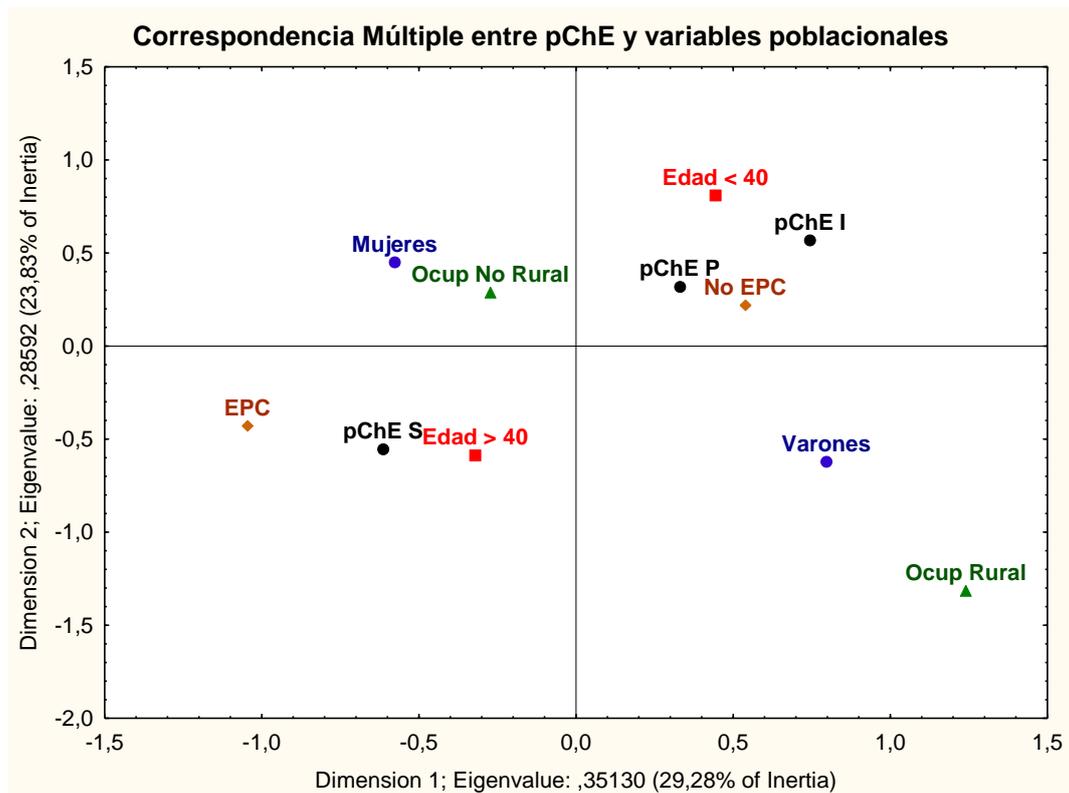
Finalmente, sólo 34 personas reportaron padecer una o varias enfermedades crónicas preexistentes (ECP), 26 mujeres y 8 varones principalmente mayores de 40 años. Entre las enfermedades más frecuentes se citaron hipotiroidismo, dislipemia, hipertensión y diabetes.

II- Efecto de las variables poblacionales sobre la pChe

Considerando al total de la población estudiada, se obtuvo un valor de pChe promedio de 11.111 ± 2.515 U/L. En comparación con el rango de valores de referencia basal provisto por el kit comercial, de 3.962 a 11.142 U/L, la población estudiada quedó incluida dentro del rango propuesto, aunque sobre el límite superior.

El análisis descriptivo de la posible correlación entre pChe y las distintas variables estudiadas se llevó a cabo mediante análisis de correspondencia múltiple. La figura 10 muestra distintos agrupamientos, claramente separados por los ejes centrales. En el cuadrante superior izquierdo se observa una correlación entre mujeres y trabajo no rural, asociado a que ninguna mujer reportó ocupación rural. A la inversa y en el cuadrante opuesto, se encuentra el género masculino con cierta correlación con la ocupación rural (45% de los varones tenía ocupación rural). Además, se observa que los tres rangos de pChe se asociaron a las variables edad y ECP. En particular, los valores de pChe inferiores e intermedios (I y P) se asociaron fuertemente con los participantes menores de 40 años y aquellos que no presentaban ECP. A la inversa, los valores superiores de pChe (S) estuvieron asociados a los mayores de 40 años y a aquellos con ECP.

Figura 10. Análisis descriptivo de pChe en la muestra total.

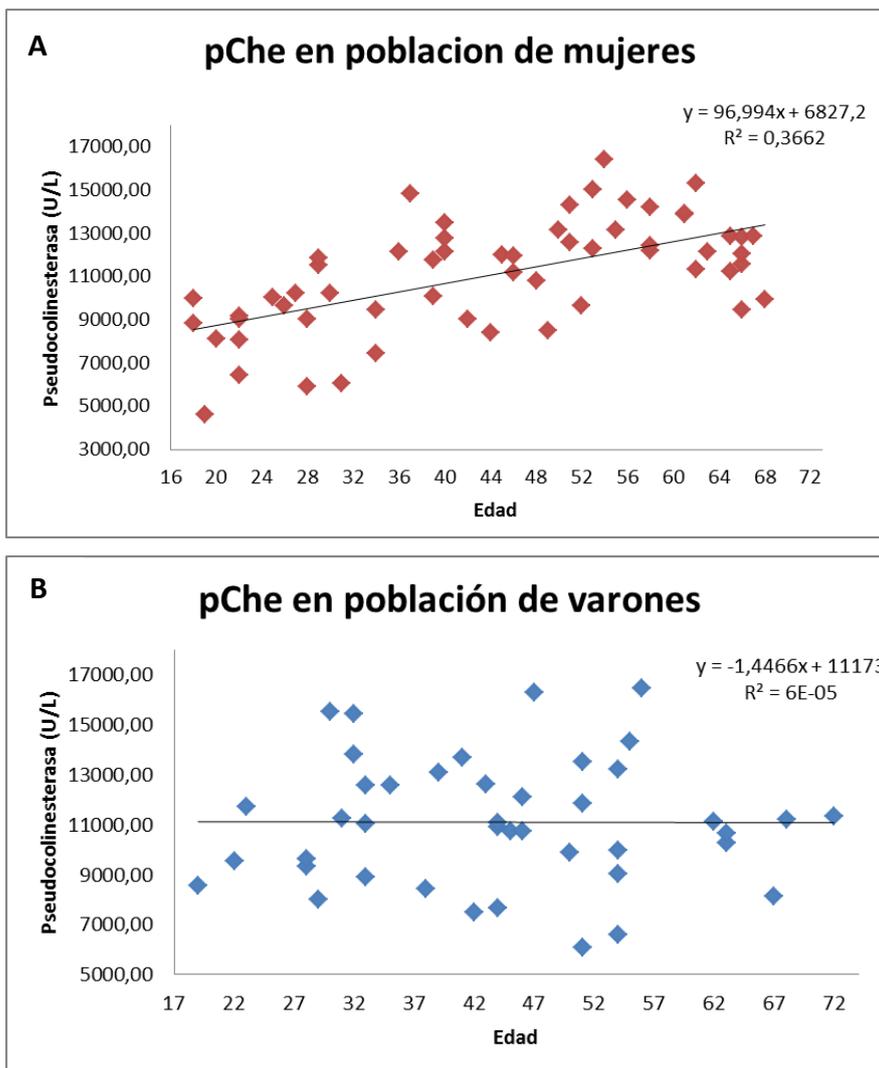


Rangos de pChe (U/L): I<8000;8001<P<12000; S>12000.

II-1 Género y edad

La influencia del género sobre los valores de pChe fue la primera variable analizada. Al comparar entre sí los valores promedio de pChe para cada grupo (mujeres 11.112 ± 2.519 U/L y varones 11.109 ± 2.541 U/L), no se hallaron diferencias significativas entre ambos géneros ($p > 0,05$). Por otra parte, se encontró alta variabilidad al analizar pChe en función de la edad, para ambos sexos (Figura 11 A y B).

Figura 11. Valores de pChe en función del género



Se representan los valores de pChe obtenidos para cada participante dentro de cada subpoblación

En ambos casos se encontró una gran dispersión en los valores de pChe. Sin embargo, existe una correlación moderadamente positiva entre los niveles de pChe y la edad en mujeres (coeficiente de correlación de Spearman $r: 0,49$; $p < 0,0005$). Esta correlación no

fue observable en el caso de los hombres (coeficiente de correlación de Pearson $r: -0,01$; $p > 0,05$)

II-2 Enfermedades crónicas preexistentes

En la siguiente tabla se observan los casos de ECP reportados en función del género.

Enfermedades Crónicas Preexistentes	Número de casos	
	Mujeres	Hombres
Hipotiroidismo	14	1
Hipertensión	6	1
Dislipemias	6	2
Diabetes	4	2
Otras	7	2

El valor promedio de pChe obtenido para cada enfermedad se comparó con el correspondiente al del total de las mujeres sanas, sin encontrar diferencias significativas (Tabla 5). Dado el bajo registro de ECP en varones, no se realizó el análisis para el género masculino.

Tabla 5. Comparación de valores de pChe en mujeres con y sin ECP reportadas

Condición	\bar{X} pChe	$p > 0,05$
Mujeres sanas	12.033 ± 1.909 U/L	
Hipotiroidicas	12.076 ± 1.927 U/L	
Dislipémicas	12.338 ± 1.966 U/L	
Hipertensas	12.235 ± 850 U/L	
Diabéticas	13.031 ± 865 U/L	
Otras	12.033 ± 1.909 U/L	

En el caso de las mujeres con hipotiroidismo, todas se encontraban bajo tratamiento con levotiroxina (T4) mientras que las diabéticas estaban tratadas con distintos fármacos.

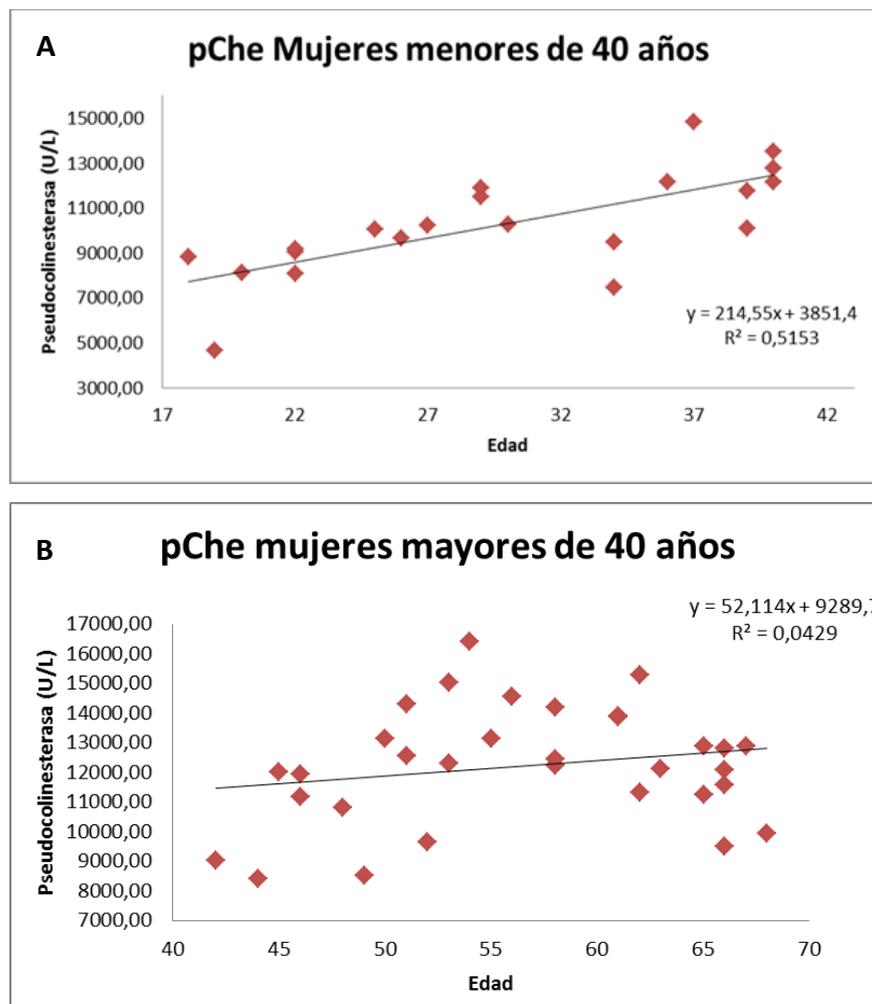
II-3 Variables dentro del género femenino

Edad

El total de mujeres participantes fue subdividido considerando 40 años como corte (Figura 12 A/B). El grupo de mujeres embarazadas fue excluido de este análisis debido a las características particulares de esta condición física.

Los valores obtenidos para las mujeres de hasta 40 años que participaron ($n=21$, $\bar{X}=10.267 \pm 2.303$ U/L) se representan en la figura 12 A. Se observó que no existen diferencias significativas ($p>0,05$) con la media obtenida para el total de mujeres (11.112 ± 2.519 U/L). Además se repitió la tendencia al aumento en los valores de pChe con la edad, encontrándose una fuerte correlación (coeficiente de Spearman $r: 0,78$; $p<0,05$).

Figura 12. Valores de pChe en mujeres en función de la edad.



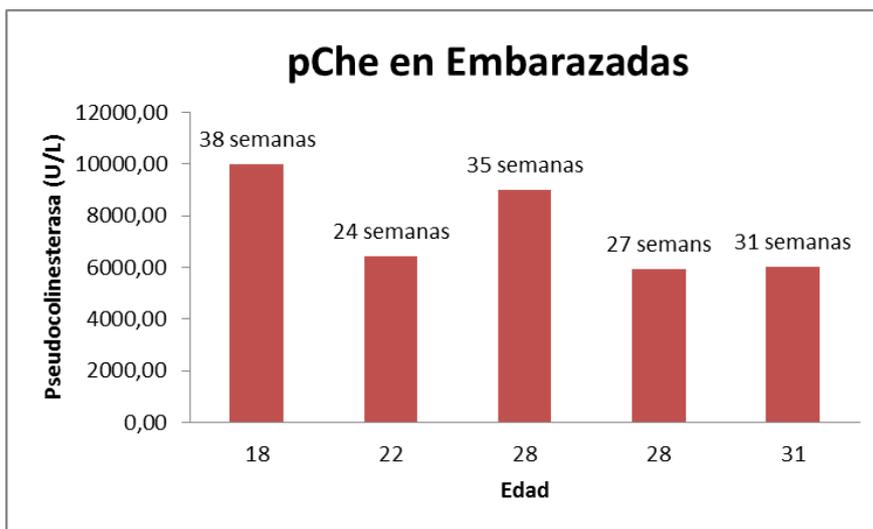
Los valores obtenidos para las participantes mayores de 40 años ($n=32$, $\bar{X}=12.233 \pm 1.970$ U/L) se representan en la figura 12 B. La dispersión de los valores de pChe es marcada y sin la tendencia al aumento con la edad como en el caso anterior. De hecho, el análisis de

correlación indicó una correlación débil (coeficiente de Spearman $r: 0,17$; $p > 0,05$). Al realizarse la comparación entre los dos grupos de mujeres, se encontraron diferencias significativas en los valores de pChe ($p < 0,05$).

Embarazo

Sólo 5 mujeres participantes eran gestantes, con 2 de ellas cursando el último mes de embarazo (Figura 13). Con una media de 7.485 ± 1.886 U/L, se observó que las gestantes en estadio más temprano tenían valores de pChe menores que aquellas cursando el último período. En comparación con el grupo de mujeres menores de 40 años se encontraron diferencias significativas en los valores de pChe ($p < 0,05$).

Figura 13. Valores de pChe en embarazadas



La alta variabilidad de pChe permitió, sin embargo, el análisis descriptivo de las demás variables que también influyen en pChe. En la Figura 14 pueden observarse las distintas correlaciones entre pChe y edad, ECP y embarazo.

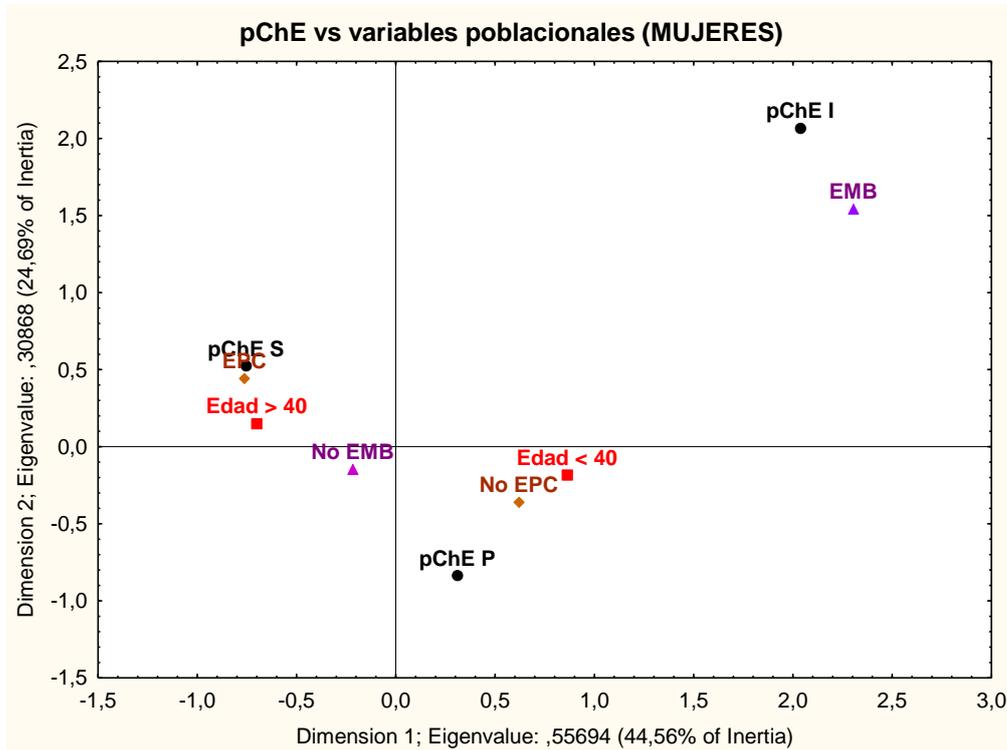
Se observa una asociación entre los valores superiores de pChe (S) y las participantes mayores de 40 años, junto con el reporte de ECP (cuadrante superior izquierdo). Por otro lado, las menores de 40 años se asociaron con la ausencia de ECP y valores intermedios de pChe.

Por último, la mayoría de las mujeres son representadas por la condición “no embarazo”, ubicada en medio de pChe P y S así como mujeres de ambos rangos de edad y condiciones de ECP.

El grupo de embarazadas, por ser reducido y estar asociado a valores bajos de pChe, se ubicó en el extremo de uno de los cuadrantes, asociada sólo con pChe (I). Concuere da con

lo esperado, ya que durante el embarazo la actividad de las enzimas colinesterasas disminuye notablemente (Barrera et al, 2012).

Figura 14. Análisis de correspondencia múltiple



II-4 Variables dentro del género masculino

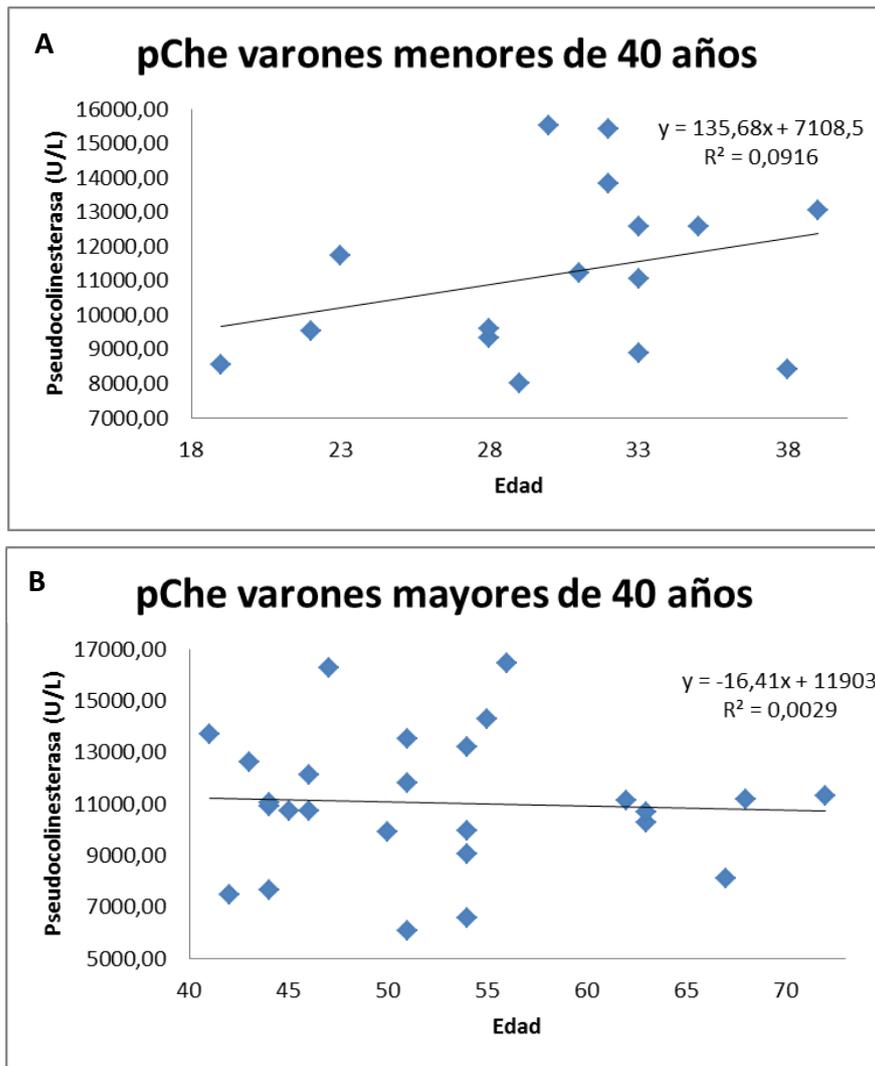
Edad

El total de participantes masculinos se subdividió en dos grupos, utilizando 40 años como edad de corte, siendo el 62% mayor a 40 años.

El valor medio de pChe para el total de varones fue de 11.109 ± 2.541 U/L, siendo 11.221 ± 2.448 U/L para el grupo de hasta 40 años y 11.040 ± 2.643 U/L para los mayores. Comparando ambos subgrupos con el total, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$).

En la figura 15 A/B se puede observar la amplia dispersión de los valores de pChe en función de la edad, para ambos subgrupos. En análisis de correlación resultó negativo entre pChe y edad para ambos subgrupos dentro de los varones (menores de 40 años (coeficiente de correlación de Pearson $r: 0,3$; $p > 0,05$) y para los mayores de 40 años (coeficiente de correlación de Spearman $r: -2,1 \text{ E-}03$; $p > 0,05$).

Figura 15. Valores de pChe en varones en función de la edad

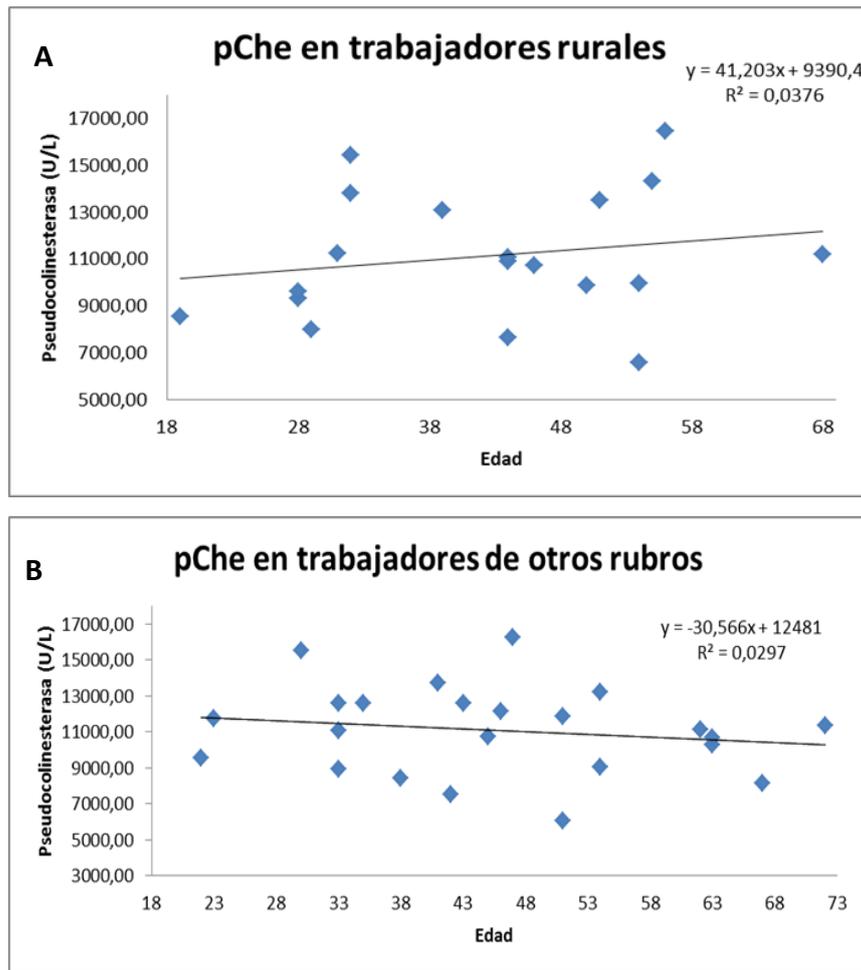


Trabajo rural

Para dicho análisis se agrupó a aquellos participantes que tuvieran relación con la actividad agropecuaria: peón de campo, aplicadores, ingenieros, productores, contratistas, etc. Del total de participantes varones, el 45% (n=19) se identificó como trabajador rural, con edades comprendidas entre 19 a 68 años, en su mayoría habitantes de Realicó. Trece de ellos realizaban tareas rurales directas (aplicadores de pesticidas, peón/ trabajador de campo) y seis eran contratistas o ingenieros agrónomos con tareas rurales indirectas de menor exposición.

La actividad pChe media para este grupo fue de 11.134 ± 2.705 U/L y, en comparación con la media de los varones con ocupación no rural ($\bar{X}=11.088 \pm 2.460$ U/L), no arrojó diferencias significativas ($p>0,05$) asociadas a la condición laboral (Figura 16 A/B).

Figura 16. Valores de pChe en varones en función de la ocupación



Se observa una amplia dispersión de los resultados en función de la edad sin existencia de correlación (coef. de correlación de Pearson trabajadores rurales $r: 0,19$; $p > 0,05$; para otros rubros $r: -0,17$; $p > 0,05$).

Además, dentro del subgrupo de trabajadores rurales, 6 participantes tuvieron valores de pChe mayores a 12.000U/L y sólo 2, por debajo de 8.000 U/L, mientras que casi el 60% de los valores permanecieron entre 8.000 y 12.000 U/L. Así, la mayoría de los trabajadores rurales testeados se encontró dentro del rango promedio para los valores de pChe.

El análisis descriptivo comparando a los distintos rangos de pChe con las variables edad, ocupación y ECP para la totalidad de los varones se refleja en la figura 17.

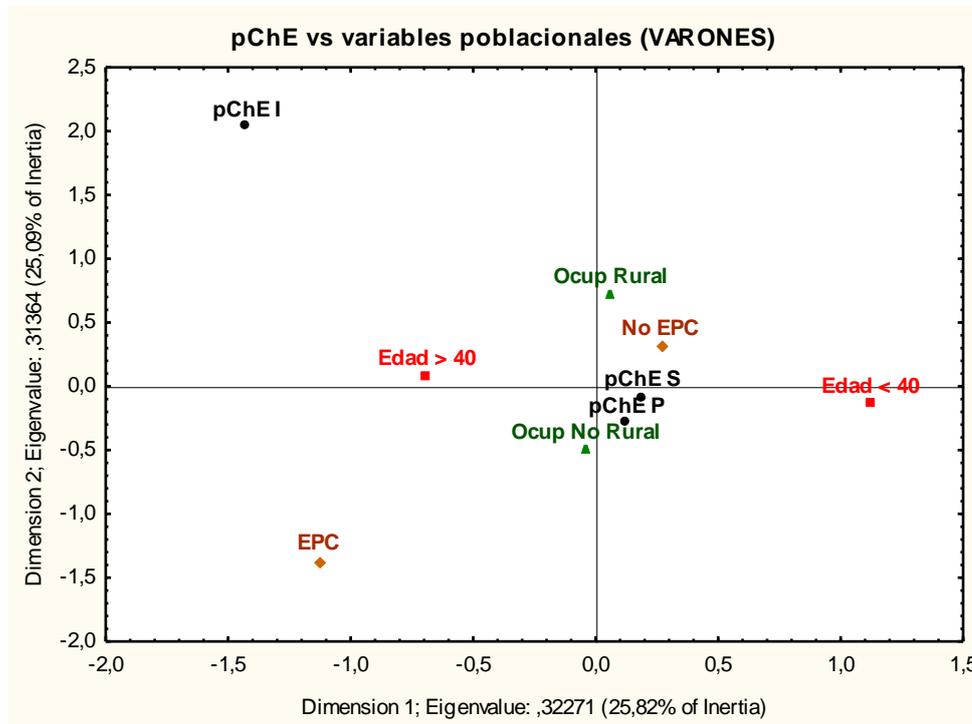
No se observa ninguna correlación específica entre las variables ya que no se definieron grupos separados por los distintos cuadrantes.

Se observa que la ocupación ni la edad de los participantes definieron una correlación en particular con ningún rango de valores de pChe (ambas variables se encuentran sobre los ejes centrales, cercanas a pChe P y S). Respecto de las ECP, dado que la mayoría de los

participantes no reportaron padecerlas, éstas se ubicaron aisladas y en el cuadrante inferior izquierdo, mientras la No ECP se ubica dentro del grupo mayoritario de variables asociadas. De igual manera, el rango inferior de pChe (I) se ubicó en el margen superior izquierdo, debido al bajo % de valores menores a 8.000U/L.

Finalmente, la mayoría de los participantes se ubicaron cercanos al valor promedio.

Figura 17. Análisis de correspondencia múltiple



III- Otras observaciones

Se recabó información a partir de las encuestas realizadas a los participantes respecto del uso de pesticidas y de medidas de protección personal durante su uso. Así, contamos con 7 personas reportando intoxicaciones previas con distintos agroquímicos, dos de ellas mujeres. Tres reportaron haberse intoxicado con piretroides, dos con organofosforados y los dos restantes desconocían el tipo de sustancia involucrada. Entre los síntomas que reportaron se encuentran: mareos, dolor de cabeza, decaimiento, dolor muscular y trastornos gastrointestinales. Dos de los participantes tuvieron tratamiento médico.

Respecto de las medidas de protección personal al momento de utilizar agroquímicos, menos de la mitad dijo utilizar guantes de látex y una mínima proporción utiliza barbijo común cuando considera que se expone a una sustancia potencialmente peligrosa. Este mecanismo vale para el ámbito laboral como hogareño.

Discusión

Esta investigación tuvo como propósito determinar valores de referencia basales de pseudocolinesterasa en la población adulta de Realicó, y así proveer una herramienta fundamental en la detección de intoxicaciones futuras por pesticidas organofosforados y carbamatos. Innumerables publicaciones representativas de distintas regiones del mundo reportan valores de referencia de pChe, todos muy diferentes entre sí. Las variaciones intrínsecas que esta enzima presenta dificultan aún más la determinación del porcentaje de inhibición que permite definir una intoxicación. Por lo tanto, es relevante contar con un rango basal propio de esta población, asociada a una intensa actividad agrícola-ganadera con aplicación de pesticidas.

En principio, el rango obtenido para el total de la población estudiada fue más amplio y superior (6.080-16.141U/L) al propuesto por el fabricante del kit utilizado (3962 – 11.142 U/L). Este resultado también es superior a rangos basales reportados por Sánchez et al, 2015 para una región de Colombia (4.796-10.321 U/L) y los reportados por De Sierra et al, 1986 para Honduras (5.800-10.700 U/L), entre muchos otros. Estas diferencias se asocian al efecto del medioambiente sumado a la variabilidad interindividual, el efecto de ciertas enfermedades, la condición laboral y exposición a pesticidas (Jiménez-Díaz & Schosinsky-Neermann, 2000). Cabe destacar que la actividad de esta enzima presenta un gradiente diario, por lo que, aun en personas no expuestas, los valores matinales individuales son generalmente mayores que los vespertinos (Fernández de la Vega E, Fernández T, 2012).

Las variables poblacionales analizadas en relación con los valores de pChe fueron género, edad, embarazo, enfermedades crónicas preexistentes y ocupación laboral rural. Los valores medios de pChe obtenidos para ambos sexos no fueron diferentes entre sí (mujeres 11.112 ± 2519 U/L y varones 11.109 ± 2.540). Estos resultados concuerdan con lo encontrado en Chile, donde un estudio reporta valores medios de 4,50 a 10,98 U/L para los varones y 3,37 a 10,23 U/L para las mujeres (Pineda J. 2007); y con reportes de Turquía con valores similares para ambos sexos (mujeres 4.260-11.250 U/L y 5.320-12.920 U/L) (Abdullayev et al, 2015).

Se puede observar que la edad, en principio, no determina los valores basales de pChe ya que no se pudo obtener una correlación o tendencia entre las variables. Estos resultados coinciden con el análisis de correspondencia múltiple, donde se observó que el género no estaba asociado a un valor de pChe específico, concordando con lo expuesto por Rojas et al, 2013, donde explica que los valores de pChe se incrementan gradualmente durante la niñez, se estabiliza en la pubertad y permanece sin cambios por el resto de la vida.

Dentro del grupo femenino se encontraron diferencias con respecto a la edad, coincidiendo con lo expuesto por Carmona-Fonseca J, 2003 donde asegura que la colinesterasa plasmática es significativamente mayor en menopáusicas y es mínima en embarazadas, como también se encontró en nuestro estudio. En particular, en las 5 embarazadas participantes de este estudio se pudo observar que los valores de pChe eran menores en los primeros meses de gestación y se incrementaban hacia el final del embarazo, coincidiendo con lo reportado por Fernández Prieto R.M et al, 2011.

En el grupo de varones no se hallaron diferencias con respecto a la edad, concordando con lo expuesto por Guerra M.B et al, 2005. En cuanto a la condición laboral, se hizo distinción entre trabajadores rurales (11.134 ± 2.705 U/L) y no rurales (11.088 ± 2.460 U/L) con el fin de evaluar si los participantes que tenían relación directa con el campo poseían valores de pChe diferentes por tener un mayor contacto con agroquímicos, tal como explicó Blanco M et al, 2013. En este sentido, los valores obtenidos en función de la ocupación no resultaron diferentes. Tampoco se encontró una correlación directa entre la subdivisión que se hizo dentro del grupo de trabajadores rurales, ya que la mayoría integra el rango de valores normales encontrados para la población total.

Reportes de Quandt et al 2015 indican que los valores de colinesterasas eritrocitaria y plasmática disminuyen en trabajadores rurales en épocas de mayor uso de pesticidas. Una desventaja del muestreo que realizamos fue no registrar la actividad particular del trabajador rural al momento de toma de la muestra.

Los reportes de ECP ascendieron a 34 de entre los 100 participantes, siendo las más recurrentemente reportadas: hipotiroidismo, diabetes, hipertensión y dislipemias. Dada la correlación encontrada de estas ECP con mujeres mayores, no embarazadas y valores de pChe promedio y superiores se podría deducir que ciertas enfermedades provocan cambios en los valores de la enzima. En principio, esto se relaciona con lo expuesto por Carmona-Fonseca J, 2006, donde algunas enfermedades elevan los niveles de la enzima como en el caso de hipertensión arterial, trastornos tiroideos, diabetes, entre otras. Sin embargo, el mismo autor indica además, que los niveles de colinesterasas eritrocitaria y plasmáticas son similares en trabajadores sanos o con enfermedades crónicas controladas, con o sin el uso de fármacos. Los resultados obtenidos individualmente para las participantes con ECP coinciden con este último aspecto ya que en promedio, no se diferenciaron de la media de mujeres sanas.

Dada la dispersión de los valores obtenidos y que en promedio fueron superiores a los valores reportados por la bibliografía, es necesario conocer los valores basales propios de individuos a estar potencialmente expuestos en condiciones laborales. Fundamentalmente, porque considerando la asociación de intoxicación con una inhibición del 30%, en aquellos con valores basales altos ese grado de inhibición permanecería dentro del rango de valores normales, subdiagnosticando el hecho. Lo opuesto sucedería con trabajadores con niveles basales normalmente bajos y ser evaluados como intoxicados con valores de inhibición menores de 30% (Jiménez, 2000)

Por último, si bien no hubo registro de casos de intoxicación con pesticidas durante el estudio, el reporte de intoxicaciones previas por parte de un quinto de la población estudiada indica que la mayoría fueron debido al desconocimiento y la falta de protección a la hora de manipularlos. Esto coincide además con lo relatado por los participantes, respecto del uso de guantes de látex y/o barbijos como máxima barrera de protección al momento del uso de pesticidas.

CONCLUSIONES

-Se obtuvo un rango de valor basal de pseudocolinesterasa de referencia para la población adulta de Realicó (6.080-16.141U/L). Aunque dentro del rango propuesto por el fabricante, los valores fueron levemente superiores.

-Las variables poblacionales género, edad, enfermedades crónicas preexistentes y ocupación rural no influyeron significativamente, obteniendo valores promedio similares entre sí.

-Se incorporó la determinación de pseudocolinesterasa, una de las dos enzimas colinesterasas clásicamente evaluadas para definir una intoxicación por pesticidas, a la batería de ensayos clínicos de uno de los laboratorios de la ciudad de Realicó.

Referencias

- Badii M.H, Landeros J.** Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *Cultura Científica y Tecnológica*, 4 (19):21-34, 2007.
- Badii M.H, Varela S.** Insecticidas Organofosforados: Efectos sobre la Salud y el Ambiente. *Cultura Científica y Tecnológica*, 4 (28):5-17, 2008.
- Barrera Reggie E.; Chacón M., Greicy J.** Colinesterasa sérica en embarazadas del Municipio José María Vargas. Táchira, Venezuela. 2010. *Comunidad y Salud*, 10 (1):19-28 Universidad de Carabobo Maracay, Venezuela, 2012.
- Benitez Leite R.** Revisión: Plaguicidas y efectos sobre la salud Humana: un estado del arte. <http://www.serpajpy.org.py/wp-content/uploads/2014/03/Plaguicidas-y-efectos-sobre-la-salud-humana1.pdf>, 2012.
- Calculadora muestral. Departamento de Sistemas Informáticos Integrales de la Facultad de Medicina, obtenido de <http://r/biblioteca/calculos/calculadora.htm>.
- Cárdenas O, Silva E, Otriz J.** Uso de plaguicidas inhibidores de acetilcolinesterasa en once entidades territoriales de salud en Colombia. *Biomédica*, 30:95-106, 2010.
- Carmona-Fonseca J.** Valores de colinesterasas en trabajadoras activas embarazadas, menstruantes, usuarias de anticonceptivos o menopáusicas. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 54 (3), 2003.
- Carmoa-Fonseca J.** Colinesterasas eritrocitaria y plasmática en trabajadores con enfermedades crónicas controladas y en usuarios de medicamentos. *Revista Médica Universidad de Antioquía*, 19 (1), 2006.
- Carrasco A.** El glifosato: ¿es parte de un modelo eugenésico? *Salud Colectiva*, 7 (2):129-133, 2011.
- CASAFE.** Versión Digital de la Guía de Productos Fitosanitarios, 2009.
- Cotos M, Oscar M, Horna P, Rodolfo W.** Niveles de colinesterasa sérica en agricultores de la localidad de Carapongo (Perú) y determinación de residuos de plaguicidas inhibidores de la acetilcolinesterasa en frutas y hortalizas cultivadas. (http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/milla_c_o/generalidades.htm).
- Dall'Acqua E, García Rossi B, Mendes Baltruchaitis Couto T.** El diagnóstico de intoxicación por organofosforados, basada en la clínica. *Moreira Jr*, 68 (5):169-175, 2011.
- Degrossi C.** Conceptos básicos de toxicología, Universidad de Belgrano, 2013.

- Del Puerto Rodríguez A.M, Suárez Tamayo S, Palacio Estrada D.E.** Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52 (3), 2014.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W.** *InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL. <http://www.infostat.com.ar>*
- FAO.** www.fao.org. Obtenido de <http://www.fao.org/3/a-a1374s/a1374s06.pdf>
- Fernández Prieto R.M, Ramallo Bravo A, Carmona Carmona G, Carrasco Jiménez M.S.** Papel de las colinesterasas plasmáticas. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación*, 58(8): 508-516, 2011.
- Ferrer A.** Intoxicación por plaguicidas. Pesticide poisoning. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26 (suppl 1):155-171, 2003.
- González León D, Avilés Montoya C, Quesada Castro A.** Comparación de los niveles de pseudocolinesterasa en poblaciones en riesgo por exposición con organofosforados. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 11(1),1990.
- González Valiente M, Capote Marrero B, Rodríguez Durán E.** Mortalidad por intoxicaciones agudas causadas por plaguicidas. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 39 (2), 2001.
- Guacaneme M, Orozco V, Moreno E, Chaparro L.** Organofosforados y carbamatos: características generales y problemas generados por la utilización de estos plaguicidas. Universidad M. Beltrán, Colombia, 2014.
- Hernández González M, Jiménez Garcés C, Jiménez Albarrán F, Arceo Guzmán M.** Caracterización de las intoxicaciones agudas por plaguicidas: perfil ocupacional y conductas de uso de agroquímicos en una zona agrícola del estado de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 23 (4) 159-167, 2007.
- Ibarra Fernández de la Vega E, Fernández T.** La inhibición de la actividad colinesterásica sanguínea como biomarcador de exposición a compuestos organofosforados y carbamatos. Una revisión crítica. *Revista Cubana de Salud y Trabajo* 13(3):59-65, 2012.
- Idrovo A.** Vigilancia de las Intoxicaciones con Plaguicidas en Colombia. *Revista Salud Pública*, 2 (1): 36-46, 2000.

- INTA EDICIONES.** Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente. Colección Institucional, 2015.
- IARC.** Monografía 112, 2017 <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol112/mono112.pdf>
- Ivaldi G, Chamorro A, Diaz Colodrero A, Galarza C.** Intoxicaciones agudas graves con compuestos organofosforados anticolinesterasa atendidas en un Hospital Interzonal de la Provincia de Corrientes, Argentina. *Revista de Toxicología en Línea*, 6, 2005.
- Jerez Fuenzalida S.** Determinación de pesticidas organoclorados en suelo agrícola y productos agropecuarios de la Comuna de Chonchi, Provincia de Chiloé, Chile. Tesis de Grado, Universidad Austral de Chile, 1999.
- Jiménez-Díaz M, Schosinsky-Neveermann Karl.** Valores de referencia de colinesterasa plasmática y eritrocítica en población costarricense. Comparación del desempeño clínico de ambas enzimas. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 21 (3-4), 2000.
- Martínez-Valenzuela C, Gómez-Arroyo S.** Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 23 (4) 185-200, 2007.
- Medina Cuenca S.** Determinación de colinesterasa en pacientes intoxicados por organofosforados que se encuentran hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos del hospital regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja. Tesis de Grado, 2012.
- Ministerio de la producción.** <http://www.produccion.lapampa.gov.ar/legislacion-vigente-agroquimicos.htm>.
- Ministerio de salud.**
http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000341cnt-14-Plaguicidas_Argentina.pdf, 2014
- Monografía 112, IARC,** www.iarc.fr, 2015.
- Napán K, Llanos C, Paredes C.** Toxicidad aguda de metomilo en *Poecilia Latipinna* (Lesueur 1821) (Poeciliidae). *The Biologist* (Lima), 8(1), 2010.
- Obiols J.** Plaguicidas organofosforados (II): toxicodinamia y control biológico. Ministerio de Trabajo y Asuntos sociales, España, 1999.
- Paganelli A.L, Gnazzo V, Acosta H, López S.L, Carrasco A.E.** Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chemical Research in Toxicology*, 23(10):1586-95, 2010.

- Pina J.** Clasificación Toxicológica y Etiquetado de Productos Fitosanitarios. Serie de Informes Especiales ILSI Argentina, 3, 2012.
- Pineda J.** Plaguicidas: Monitoreo efectivo de la exposición a carbamatos y organofosforados. *Ciencia y Trabajo*, 9 (26):178:181, 2007.
- Plazas Hernández D.C, Olarte M.F.** Intoxicación por inhibidores de la colinesterasa (organofosforados y carbamatos) en niños y adolescentes: revisión de la literatura y guía de manejo. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo*, 11(1): 26-33, 2011.
- Plenge-Tellechea F, Sierra-Fonseca J. A, Castillo-Sosa Y.A.** Riesgos a la salud humana causados por plaguicidas. *Tecnociencia Chihuahua*, 1 (3), 2007.
- Ponce G, Cantú P.C, Flores A, Badii M.H, Zapata R, López B, Monterrey I.F.** Modo de acción de los insecticidas. *Revista de Salud Pública y Nutrición*, 7 (4), 2006.
- Popović L, Oresković K, Zupancić B, Petrunić M, Kunec-Vajić E.** The relation between plasma lipid levels and pseudocholinesterase activity in hypothyroidism. *Hormone and Metabolic Research*, 30(3):137-40, 1998.
- Pórfido O, Butler E.** Los Plaguicidas en la República Argentina. Dpto de Salud Ambiental- Ministerio de Salud de La Nación, 2014.
- Quandt SA, Pope CN, Chen H, Summers P, Arcury TA.** Longitudinal Assessment of Blood Cholinesterase Activities over Two Consecutive Years among Latino Non-farmworkers and Pesticide-Exposed Farmworkers in North Carolina. *Journal of Occupational & Environmental Medicine*, 57(8): 851–857, 2015.
- Rojas de M, Tibusay del C; Ramírez C, Yelitza I; Marín R, Carlos E; Hernández, Morelia del P.H.** Niveles de colinesterasa plasmática en mujeres embarazadas y no embarazadas expuestas a plaguicidas en la zona del Páramo, Mérida-Venezuela. *Revista del Instituto Nacional de Higiene*, 44(1):30-39, 2013.
- Rozo J.C, Galvis López J.A.** Rutas de degradación del plaguicida N-metilcarbamato carbaril. *Revista I3+*, 2 (2):134-147, 2015.
- San Román M, Herranz J.L, Arteaga R.** Intoxicación por piretrinas: una causa singular de convulsiones en el lactante. *Boletín de Pediatría*, 43 (185): 284-289, 2003.
- Schaaf A.** Uso de pesticidas y toxicidad: relevamiento en la zona agrícola de San Vicente, Santa Fe, Argentina. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4 (2), 2013.

- Suárez Solá M.L, González-Delgado F, Rubio C, Hardisson A**, Estudio de seis suicidios consumados por ingestión de carbamatos en el partido judicial de La Laguna (Tenerife) durante el período 1998-2002. *Revista de Toxicología*, 21: 108-112, 2004.
- Subash Vijaya k, Fareedullah Md, Sudhakar Y, Venkateswarlu B, Ashok Kumar E**. Current review on organophosphorus poisoning. *Archives of Applied Science Research*, 2 (4): 199-215, 2010.
- Último censo Realicó**, La Pampa, <http://www.lapampa.gov.ar/realico.html>.
- Villaamil Lepori E, Bovi Mitre G, Nassetta M**. Situación actual de la contaminación por plaguicidas en argentina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29:25-43, 2013.
- Varona M, Morales L, Ortiz J, Sánchez J.F, Cárdenas O, De la Hoz F**. Panorama epidemiológico de exposición a plaguicidas inhibidores de colinesterasa en 17 departamentos del país. *Biomédica*, 18(1):22-29, 1998.
- Waliszewski S.M, Infanzón R.M**, Diferencias en concentración de plaguicidas organoclorados persistentes en suelo, paja y granos de trigo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 19 (1):5-11, 2003.

Apéndice

HOJA DE INFORMACION Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO PARA EL PARTICIPANTE

Determinación de valores de referencia basales de colinesterasa eritrocitaria en población adulta en Realicó, La Pampa.

Grupo de investigadores responsables:

Bioq. Vanina Bogino. Laboratorio de Análisis Clínicos, Centro Médico Realicó.

Soffía N Mandrile. Laboratorio de Análisis Clínicos, Centro Médico Realicó.

Dra. Laura Bartel. Área de Toxicología, Fac. Cs. Exactas y Naturales, UNLPam.

Domicilio Laboratorio de Análisis Clínicos, Centro Médico Realicó, Francia 1358.

Información General: Invitamos a Ud. a participar libre y voluntariamente del estudio de investigación “Determinación de valores de referencia basales de colinesterasa plasmática en población adulta en Realicó, La Pampa”, desarrollado en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Centro Médico Realicó, en conjunto con el área de Toxicología de la Fac. Cs. Exactas y Naturales, UNLPam.

Antes de firmar el consentimiento informado, usted debe LEER y COMPRENDER la explicación sobre los objetivos, procedimientos e implicancia de la investigación mencionada.

Mi nombre es Soffía N. Mandrile, soy estudiante de último año de la UNLPam y estoy desarrollando en el laboratorio de Análisis Clínicos del Centro Médico Realicó el trabajo final de tesis de grado para optar al título de Licenciada en Química. El desarrollo del trabajo de investigación fue diseñado y será supervisado completamente por la Bioq. V. Bogino y por La Dra. Química L. Bartel. Antes de decidirse, puede consultar conmigo o cualquiera de los integrantes del equipo respecto a dudas sobre palabras o conceptos que no entienda, y se le explicarán nuevamente.

Introducción:

La detección temprana de intoxicaciones por pesticidas es fundamental para la vigilancia epidemiológica, por ello el biomonitoreo humano es una herramienta valiosa para estimar la exposición a sustancias tóxicas.

En el ámbito del estudio de exposición a pesticidas, la determinación en sangre de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa de trabajadores agrícolas es un biomarcador fundamental de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos. Así, el dosaje anual de este parámetro en trabajadores expuestos forma parte, en Argentina, de los criterios de vigilancia establecidos por la Superintendencia de Riesgos del Trabajo.

Los insecticidas organofosforados y carbamatos actúan sobre los mamíferos y los insectos inhibiendo la enzima antes mencionada de manera reversible o irreversible. Así, se interrumpe la transmisión sináptica de las terminales colinérgicas de las células nerviosas produciendo efectos sobre el sistema nervioso. Dado que los síntomas generados pueden ser de distinta intensidad, y que el porcentaje de inhibición de la acetilcolinesterasa indica la magnitud de la exposición a estas sustancias tóxicas, este parámetro aporta información rápida y valiosa a la hora de tomar medidas de acción frente a un caso de intoxicación.

Es importante destacar que existen variaciones intra e interindividuales, que cada individuo responde de manera diferente y que el porcentaje de inhibición enzimática se obtiene por comparación con un valor basal o control obtenido previamente a la exposición. Como esta

situación es difícil de lograr y casi exclusivamente se cuenta sólo con los valores obtenidos posteriormente a la exposición, se utilizan valores basales teóricos, muchas veces lejanos al de la población estudiada.

Por ello, obtener valores de referencia de actividad enzimática basal de una población control que no se expone laboralmente a pesticidas y lo más parecida posible a la de los trabajadores expuestos, es una manera de resolver esta situación y así obtener datos más confiables y cercanos a la realidad local. A nivel mundial, es una práctica que tiene cada vez más aceptación, como alternativa para mejorar el diagnóstico de intoxicaciones.

La actividad agrícola ganadera requiere en la actualidad del uso de pesticidas para mantener los niveles de producción necesarios. En el ámbito rural cercano a la ciudad de Realicó se aplican pesticidas regularmente, al igual que en otras zonas. Algunos de ellos pertenecen a la familia de los organofosforados y carbamatos. Sin embargo, no se cuenta con datos fehacientes de intoxicaciones por pesticidas ni de valores basales de referencia de la enzima acetilcolinesterasa.

El objetivo de este trabajo es obtener los valores basales de actividad colinesterasa plasmática en una población mixta control, representativa del grupo etario normalmente expuesto en condiciones laborales. La determinación de la actividad enzimática se llevará a cabo por medio del método de Ellman, utilizando un kit comercial adecuado (Colinesterasa, Laboratorio Wiener, Argentina).

Tipo de intervención y procedimiento:

Si usted acepta participar del estudio se procederá de la siguiente manera:

- Si Ud. concurre al centro médico en carácter de paciente sano, con el fin de realizarse un control de salud, se tomará una porción de la muestra de sangre que se extraiga para sus análisis de rutina. No se le extraerá más volumen de sangre, ya que es suficiente con el excedente que queda en el laboratorio luego de las extracciones requeridas por el médico.
- La muestra será tomada y procesada por personal del Laboratorio de Análisis Clínicos del Centro Médico Realicó.
- En todos los casos se le explicará claramente el propósito de este estudio y se completará la encuesta con sus datos clínicos.
- La determinación de actividad enzimática se realizará en el lugar y durante las horas siguientes de tomada la muestra, ya que no es estable por largos períodos ni puede conservarse en cadena de frío.
- Todas las muestras serán manejadas y analizadas únicamente por las personas involucradas en este proyecto.
- Si fuere necesario repetir la toma, usted será notificado oportunamente.

Posibles riesgos al participar de este estudio

La participación como voluntario en este estudio no implica ningún riesgo para su salud o integridad. Las molestias y efectos adversos estarán representados exclusivamente por la toma de muestra de sangre periférica y cuyas molestias típicas pueden ser: hematomas, enrojecimiento y/o sensibilidad al tacto en el lugar de extracción; sin embargo éstas serán transitorias y de ninguna manera se verán afectadas por el objetivo de este estudio. En caso de presentarse alguna de estas complicaciones, usted puede concurrir nuevamente al centro médico o contactarse directamente con la responsable directa al tel: 2302-486116, durante las 24 hs del día.

Posibles beneficios de participar en este estudio

No existe ningún beneficio directo para usted por participar en la investigación. Sin embargo, este estudio puede contribuir a definir un valor basal de actividad

acetilcolinesterasa en una población control de la ciudad de Realicó, no expuesta laboralmente a pesticidas. Así, se aumentará el conocimiento académico y médico disponible para mejorar la epidemiología de intoxicaciones por pesticidas. Particularmente, ayudará a detectar futuros casos de intoxicación locales con mayor facilidad y rapidez, mejorando así la atención médica de urgencia que se requiere en estos casos. Usted no recibirá ningún beneficio económico por participar de este estudio.

Obligatoriedad

No es obligatoria su participación en este estudio. La decisión a participar de la investigación depende sólo de usted, y esto no modificará en nada la conducta terapéutica ni su calidad como paciente. Usted recibirá el mismo cuidado y atención que se le brindan a los demás pacientes, independientemente que haya aceptado o no a participar del presente estudio.

Retiro del consentimiento

Usted puede retirar en cualquier momento su consentimiento para que se utilice su muestra de sangre en la investigación. Si usted retira su consentimiento antes de que su muestra sea procesada, la misma será destruida. Si su muestra ya fue analizada, el grupo responsable de la investigación podrá utilizar los datos obtenidos hasta el momento.

Derecho a conocer los resultados de la investigación y datos personales

El objetivo del presente estudio no es entregarle el resultado del análisis. No obstante, los investigadores podrán informarle los resultados de la investigación a su médico en caso que lo consideren necesario y que resulten relevantes. Los investigadores no le informarán ningún resultado, ni a usted, ni a ninguna compañía aseguradora, a sus empleadores, familiares ni a ningún otro médico que no sea su médico tratante.

Cualquier información derivada directa o indirectamente de esta investigación, así como cualquier publicación resultado de este estudio, serán propiedad únicamente de los investigadores y de las instituciones que llevan a cabo el proyecto.

Los resultados serán comunicados de manera general y pública, sin información que dé cuenta de la identidad de las personas que participaron de este estudio.

Confidencialidad

Las muestras extraídas serán identificadas mediante códigos numéricos confidenciales, que permitirán mantener el anonimato durante el estudio. En ningún caso será revelada la identidad personal del participante. En todo momento, se mantendrán separados los datos de identidad y los resultados obtenidos. Sólo las tres personas involucradas en el estudio estarán en condiciones de acceder a los datos y de poder relacionarlos. Los médicos tratantes no tendrán acceso a los resultados particulares de la investigación, si a sus resultados generales y sus conclusiones.

Los resultados de esta investigación tienen como propósito secundario la comunicación en el ámbito académico y la publicación en revistas científicas, congresos y reuniones. En las mismas no aparecerán ni su nombre ni ninguna otra información que permita su identificación.

Si ya no quiere compartir su información personal de salud, puede cancelar su permiso en cualquier momento mediante notificación por escrito al grupo de investigadores responsables al domicilio que figura en la primera página de este Formulario de Consentimiento Informado.

En caso de requerir mayor información, contactarse a:

-Bioq. Vanina Bogino
Laboratorio de Análisis Clínicos, Centro Médico Realicó
Francia 1358, Realicó, La Pampa
Tel: 0233 1460103 / 2302 486116
E-mail: vanina.bogino@yahoo.com.ar

-Dra. Laura C. Bartel
Cátedra Toxicología de Alimentos, Fac. Cs. Exactas y Naturales, UNLPam
Av. Uruguay 151, Santa Rosa, La Pampa
Tel: 0221 154818065
E-mail: lcbartel@hotmail.com

-Sofía N. Mandrile
Tesisista, Área Toxicología, Fac. Cs. Exactas y Naturales, UNLPam
Laboratorio de Análisis Clínicos, Centro Médico Realicó
Francia 1358, Realicó, La Pampa
Tel: 2954 518921
e-mail: sochym@hotmail.com

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA QUE FIRME EL PACIENTE

AUTORIZACION PARA TOMA DE MUESTRA E INCLUSIÓN EN EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: *“Determinación de valores de referencia basales de colinesterasa plasmática en población adulta en Realicó, La Pampa”.*

. He leído este formulario de consentimiento informado. También he tenido la oportunidad de discutirlo con la Bioq. Vanina Bogino (o la persona designada para manejar el proceso de consentimiento).

. Me han informado de los riesgos y beneficios. He recibido respuestas que he podido comprender.

. Doy mi consentimiento para que la Bioq. Vanina Bogino obtenga y procese información, inclusive la información sobre mi salud.

. Acepto libremente participar en este estudio.

. Autorizo a exponer con fines académicos los resultados obtenidos en este estudio.

. Autorizo el acceso directo a mi información personal privada (confidencial) a las siguientes personas:

. Bioq. Vanina Bogino / Personal involucrado en el estudio

. Entiendo que puedo retirarme de este estudio en cualquier momento. Si me retiro del estudio, mi atención médica futura no se verá afectada.

.No renuncio a ningún derecho legal al firmar este formulario.

Se deben firmar y fechar dos copias de firmas originales, como declaración de haber recibido y comprendido la información sobre el ensayo y de haber decidido libre y voluntariamente participar en él.

Cada uno de los abajo firmantes debe completar todos los espacios a mano, en letra imprenta y sin usar sellos.

Al firmar aquí, afirmo que me han dado una copia de este formulario. Guardaré mi copia hasta que finalice mi participación en el estudio.

Firma del participante Fecha de la firma Tipo y N° documento (DNI, otros)

Yo, el abajo firmante, le he explicado completamente al participante mencionado anteriormente la información relevante sobre el estudio de referencia y le proporcionaré una copia de este formulario de consentimiento informado, firmada y fechada.

Nombre de la persona que explicó el proceso de consentimiento informado

Firma

Tipo y N° documento

Fecha

Los resultados de este trabajo fueron presentados en el **VI Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental de Argentina (SETAC)**. Córdoba, 11 al 14 de octubre de 2016.

Presentación libre en póster: “Determinación de valores basales de pseudocolinesterasa en población humana control (Realicó, La Pampa)” Mandrile SN, Berneri MJ, Bogino VN, Bartel LC.