



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Actividad de acetilcolinesterasa como método de diagnóstico en intoxicaciones
accidentales por compuestos organofosforados

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO PRESENTA

LUNA GONZÁLEZ CLAUDIA RAQUEL

ASESOR DE TESIS
QFI. ESTELA VALENCIA PLATA

MÉXICO D.F. 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1 INTOXICACIÓN	3
3.1.1 Concepto	3
3.1.2 Formas	3
3.1.3 Tipos	4
3.2 ACETILCOLINA	4
3.2.1 Función	6
3.2.1.1 Funciones motoras	6
3.2.1.2 Funciones neuroendocrinas	6
3.2.1.3 Funciones parasimpaticas	6
3.2.1.4 Funciones sensoriales.....	7
3.2.2 Síntesis.....	7
3.2.3 Eliminación	7
3.3 ACETILCOLINESTERASA.....	7
3.4 PLAGUICIDAS.....	8
3.4.1 Clasificación	9
3.5 COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS.....	10
3.5.1 Estructura molecular	10
3.5.2 Etiología.....	11
3.5.3 Toxicocinética.....	12
3.5.3.1 Absorción.....	12
3.5.3.2 Distribución.....	12
3.5.3.3 Metabolismo	13
3.5.3.4 Eliminación.....	14
3.5.4 Toxicodinamia	14
3.5.5 Sintomatología.....	15
3.5.6 Diagnóstico	16
3.5.7 Tratamiento	17
3.6 METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS	18
3.6.1 Consideraciones generales	18
3.6.1.1 Matriz biológica.....	19
3.6.1.2 Toma de muestra.....	19
3.6.1.3 Preparación	19
3.6.1.3.1 Extracción	20
3.6.1.3.2 Purificación	20
3.6.2 Determinación analítica.....	20
3.6.2.1 Determinación de actividad colinesterásica.....	20
3.7 SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA.....	23
3.8 CASOS CLÍNICOS	25.
4. OBJETIVOS	29
5. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	30
6. CONCLUSIÓN	31
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1. RESUMEN

En el presente trabajo se propone una investigación respecto al número de intoxicaciones y muertes por plaguicidas (especialmente compuestos organofosforados) y de cómo han ascendido en los últimos años. Se da una pequeña reseña de conceptos básicos: que es una intoxicación y que es un plaguicida, enfocándose principalmente a los compuestos organofosforados (el tipo de incidencia, su mecanismo de acción, la sintomatología en las intoxicaciones y sus métodos de diagnóstico). El estudio propone realizar a partir de la revisión de casos y de la literatura especializada de los últimos años una amplia investigación sobre la importancia y confiabilidad de la actividad de acetilcolinesterasa como método de diagnóstico en la intoxicación por compuestos organofosforados.

2. INTRODUCCIÓN

El uso de los plaguicidas se ha duplicado en los últimos 20 años. Esta se ha traducido, por una parte, en un beneficio para las áreas agrícolas y, por la otra, en repercusiones no siempre favorables para el medio ambiente y la salud humana.

Datos indican que el número de intoxicaciones agudas por plaguicidas en el mundo aumentó en 600% y el número de muertos debido a las mismas ascendió de 1 a 7.3 por cada 100 intoxicados.

Entre los plaguicidas mas utilizados son los insecticidas, y entre estos los organofosforados, que han sustituido a los organoclorados debido a su mayor efectividad y menor persistencia.

Por otra parte, diversos estudios e informes que se han elaborado en el mundo muestran el predominio de intoxicaciones agudas en trabajadores agrícolas producidas por plaguicidas organofosforados. El efecto producido por exposición a este tipo de sustancias es la inhibición de las colinesterasas, cuyos efectos clínicos se observan cuando alguna ha descendido en 30% o más. Entre las manifestaciones clínicas mas frecuentes se encuentran dolor de cabeza, temblores, nauseas, diarrea, salivación y miosis, que pueden complicarse con broncoconstricción, edema pulmonar y parálisis respiratoria, dependiendo de la gravedad de la intoxicación.

Ante tales circunstancias se requiere de métodos de laboratorio que sean rápidos y confiables para que, a la par de la sintomatología del paciente, pueda diagnosticarse de manera correcta y administrar un tratamiento adecuado que salve la vida del mismo.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 INTOXICACIÓN

Las intoxicaciones suceden muy a menudo en nuestra vida cotidiana y muy frecuentemente se da esta accidentalmente ya que no se tiene muchas veces conciencia de los químicos que se están manejando, los trastornos y efectos secundarios a corto y largo plazo pueden ser fatales o dejan secuelas marcadas por una patología grave. Los siguientes conceptos explican más detalladamente los aspectos importantes que se consideran en la intoxicación por organofosforados, los activos, farmacocinética, las moléculas estructurales así como pruebas de diagnóstico.

3.1.1 Concepto

Se denomina intoxicación al conjunto de trastornos que derivan de la presencia en el organismo de un tóxico o veneno.

Los elementos que la Toxicología considera como venenos son aquellas sustancias que tienen una capacidad inherente de producir efectos dañinos sobre el organismo. De este modo, se puede definir un tóxico como todo agente químico que, ingresado en el organismo, altera elementos bioquímicos fundamentales para la vida. Esta acción puede ser sobre toda la célula, produciendo una destrucción global de ella por un mecanismo de necrosis o sobre sistemas enzimáticos o partes selectivas de la célula.¹

3.1.2 Formas

Se distinguen tres formas de intoxicación según la rapidez de aparición, severidad y duración de los síntomas, lo que suele estar relacionado con la absorción de las sustancias tóxicas.²

Intoxicación aguda. Se debe a exposiciones de corta duración, con absorción rápida del tóxico. Obedece a una dosis única o a dosis múltiples pero en un periodo breve. Las manifestaciones clínicas se manifiestan con rapidez y la muerte o curación tiene lugar en un periodo corto.

Intoxicación subaguda. Es debida a exposiciones frecuentes o repetidas en un periodo de varios días o semanas antes de que aparezcan los síntomas.

Intoxicación crónica. Es aquella que se debe a una exposición repetida al tóxico durante mucho tiempo.

3.1.3 Tipos

Intoxicación-ejecución. Es el prototipo de la intoxicación aguda. Se emplea un tóxico para ejecutar la pena capital, a dosis fuertemente elevadas y absorbidas con rapidez. Se ha empleado para este fin: la cicuta en la antigüedad, el ácido cianhídrico y sus sales en las cámaras de gas y mas recientemente la sobredosis de pentotal administrada por vía venosa.³

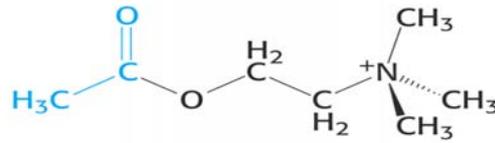
Intoxicación criminal. Es el empleo intencional del tóxico con fines criminales.

Intoxicación voluntaria. Intoxicación con fines suicidas.

Intoxicaciones accidentales. Son generalmente de origen profesional, afectando a los obreros que trabajan en la preparación de los insecticidas o a los peones rurales durante o inmediatamente después de la aplicación en cultivos. El gran interés de este ámbito radica en que, como accidentes que son, obedecen a causas perfectamente definidas, por lo que es posible prevenirlas hasta su desaparición. La mayoría de ellas podría evitarse con una educación sanitaria, unas medidas de seguridad y en el caso de las intoxicaciones profesionales la aplicación estricta de la ley.⁴

3.2 ACETILCOLINA

La acetilcolina (ACh) es un compuesto orgánico (figura 1). Fue identificada por primera vez en 1914 por Henry Hallett Dale, y después confirmada como un neurotransmisor (el primero en ser identificado) por Otto Loewi; por su trabajo recibieron en 1936 el premio Nobel en fisiología y medicina.⁵



ACETILCOLINA

FIGURA 1. Estructura de la acetilcolina.

La acetilcolina es un importante neurotransmisor químico, la cual es liberada en sinapsis preganglionares autonómicas, sinapsis postganglionares parasimpáticas y unión neuromuscular del músculo esquelético, el cual en la unión sináptica es hidrolizada a través de la acetilcolinesterasa a ácido acético y colina. Existen dos tipos de receptores (figura 2) para este neurotransmisor: el receptor muscarínico, (receptor vinculado a proteínas G) y el receptor nicotínico (asociado a canales de sodio).

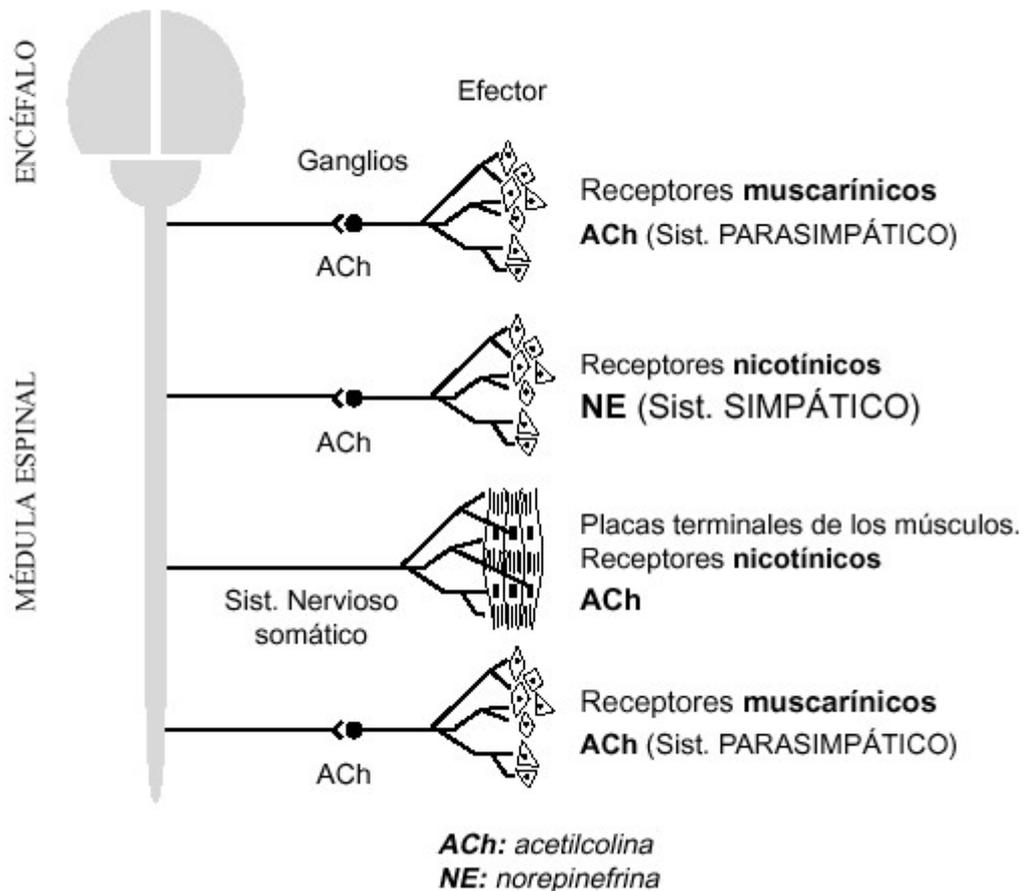


FIGURA 2. Receptores para acetilcolina.

3.2.1 Función

La acetilcolina está ampliamente distribuida en el sistema nervioso central y en el sistema nervioso periférico. Su función, al igual que otros neurotransmisores, es mediar en la actividad sináptica del sistema nervioso.

La Acetilcolina es la substancia encargada de la transmisión de impulsos nerviosos de las neuronas pre a las postganglionares, en los ganglios del sistema nervioso autónomo. A nivel del sistema nervioso parasimpático también media la transmisión entre la neurona postganglionar y el órgano efector. Además, es el mediador de la transmisión nerviosa de la placa motora terminal.

3.2.1.1 Funciones motoras: La inyección intraarterial cercana de acetilcolina, produce contracción muscular similar a la causada por estimulación del nervio motor. Disminución del potencial de reposo en músculo intestinal aislado y aumento en la frecuencia de producción de espigas, acompañado de incremento en la tensión. En el sistema de conducción cardíaca, nodos S-A y A-V, produce inhibición e hiperpolarización de la membrana de la fibra; y disminución pronunciada en la velocidad de despolarización. Regulación central de la función motora extrapiramidal. Efecto excitador de los ganglios basales que contrarresta la acción inhibidora de la Dopamina. A pesar de que la inervación colinérgica de los vasos sanguíneos es limitada, los receptores muscarínicos colinérgicos se presentan en los nervios vasoconstrictores simpáticos. El efecto vasodilatador sobre los vasos sanguíneos aislados requiere la presencia de un endotelio intacto. La activación de los receptores muscarínicos produce liberación de una substancia vasodilatadora —Factor relajante derivado del endotelio— que difunde hasta el músculo liso produciendo relajación.

3.2.1.2 Funciones neuroendocrinas: Aumenta la secreción de vasopresina por estimulación del lóbulo posterior de la hipófisis. Disminuye la secreción de prolactina de la hipófisis posterior.

3.2.1.3 Funciones parasimpáticas: Interviene en la ingestión de alimentos y en la digestión, en los procesos anabólicos y el reposo físico. Aumenta el flujo sanguíneo del

tracto gastrointestinal, el tono muscular gastrointestinal y las secreciones endocrinas gastrointestinales. Disminuye la frecuencia cardíaca.

3.2.1.4 Funciones sensoriales: Las neuronas colinérgicas cerebrales forman un gran sistema ascendente cuyo origen se halla en el tronco cerebral e inerva amplias áreas de la corteza cerebral y es probablemente idéntico al sistema activador reticular, además de mantener la consciencia parecen intervenir en la transmisión de información visual, tanto en el colículo superior como en la corteza occipital. La acetilcolina también interviene en la percepción del dolor y la memoria.

3.2.2 Síntesis

La acetilcolina se sintetiza en ciertas neuronas mediante la enzima colina acetiltransferasa a partir de colina y acetil-CoA.

La acetilcolina es sintetizada a partir de colina y acetil CoA, derivados del metabolismo de la glucosa a través de la enzima colina acetiltransferasa

3.2.3 Eliminación

Normalmente, la acetilcolina se elimina rápidamente una vez realizada su función; esto lo realiza la enzima acetil colinesterasa que transforma la acetilcolina en colina y acetato. La inhibición de esta enzima provoca efectos devastadores en los agentes nerviosos, con el resultado de una estimulación continua de los músculos, glándulas y el sistema nervioso central.

3.3 ACETILCOLINESTERASA

La acetilcolinesterasa es una enzima situada en las hendiduras sinápticas y allí va a hidrolizar a la acetilcolina, después de que ésta haya realizado su función mediante la unión a sus receptores, permitiendo así que las sinapsis colinérgicas transmitan los impulsos nerviosos.⁶ La reacción catalizada es la hidrólisis de la acetilcolina hasta colina y acetato, como se observa en la siguiente reacción:



La acetilcolinesterasa produce la inactivación de la acetilcolina, con la consiguiente disminución de la transmisión del impulso nervioso. La acción de la acetilcolinesterasa es muy rápida: se estima que es capaz de hidrolizar una molécula de acetilcolina en ácido acético y colina en un milisegundo. La reacción química producida en este proceso es:

En la 1ª etapa de la reacción, el centro activo de la acetilcolinesterasa reacciona con la acetilcolina, generándose un intermedio acetil-enzima y la liberación de la colina.

Paso 1: Acetilcolina + enzima (Acetilcolinesterasa) -----> Colina + Acetilcolinesterasa acetilada

En la 2ª etapa de la reacción se produce la hidrólisis de la acetil-enzima, regenerándose la acetilcolinesterasa y liberándose el acetato.

Paso 2: Acetilcolinesterasa acetilada + H₂O -----> Acetilcolinesterasa + ácido acético

Las colinesterasas, pueden ser de dos tipos, a saber:

La colinesterasa verdadera, acetilcolinesterasa, colinesterasa eritrocitaria, específica o de tipo e, se encuentra unida a las membranas de las neuronas, en las sinapsis ganglionares de la estructura neuromuscular del organismo y en los eritrocitos.

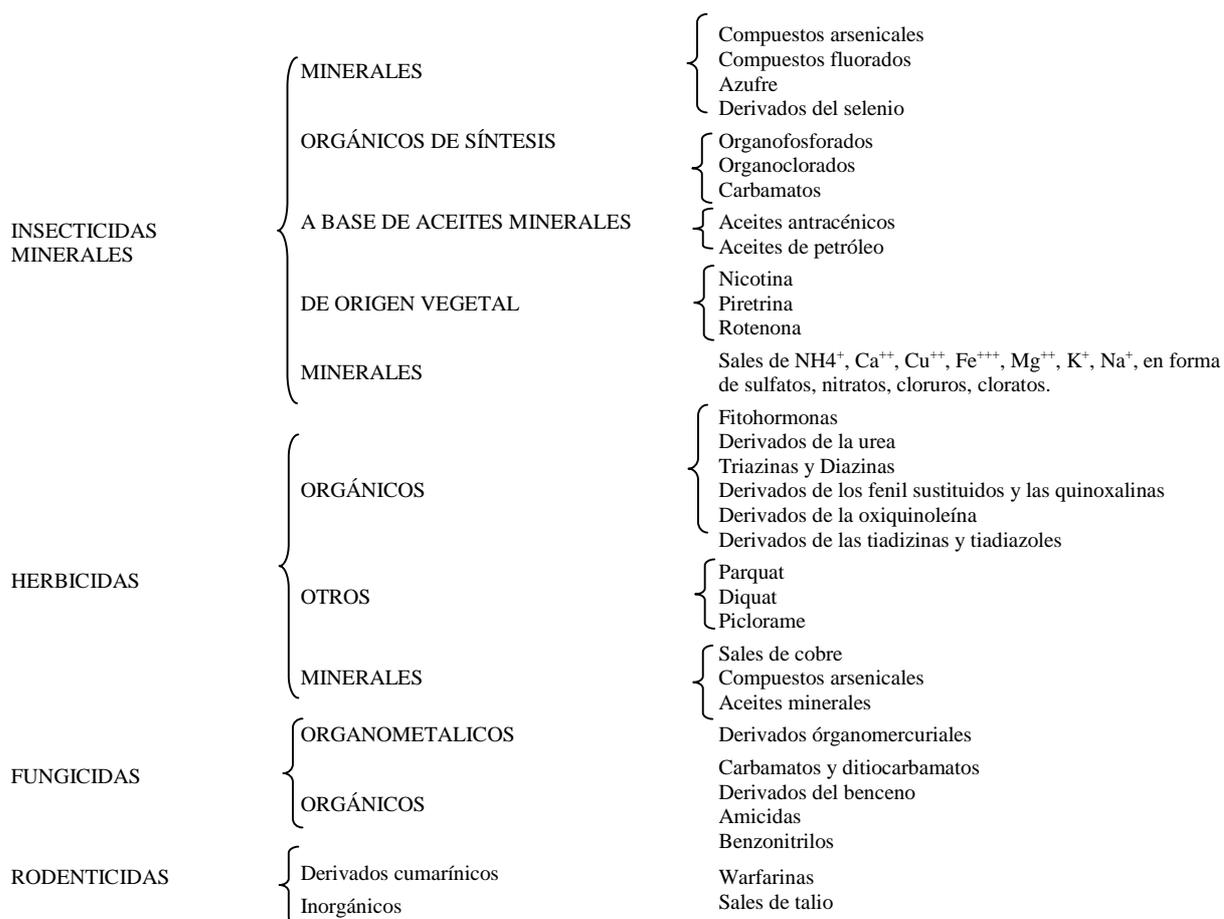
La pseudocolinesterasa o colinesterasa inespecífica, también denominada butirilcolinesterasa, colinesterasa plasmática o de tipo s, está presente generalmente en forma soluble en casi todos los tejidos (principalmente hígado) y en el plasma, pero en poca concentración en el sistema nervioso central y periférico. Dicha enzima también es inhibida por los plaguicidas organofosforados y carbamatos, pero sin manifestación de síntomas clínicos.

3.4 PLAGUICIDAS

Según la OMS, un pesticida o plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias, de carácter orgánico o inorgánico, que está destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas y animales que son perjudiciales para el hombre o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, también aquellos que pueden administrarse a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos.⁷

3.4.1 Clasificación

Puede clasificarse según la especie que van a combatir como:

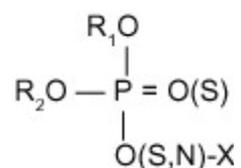


Desde el punto de vista de la toxicología, es importante señalar que las formulaciones de plaguicidas además del principio activo incluyen sustancias transportadoras, diluyentes como agua o disolventes orgánicos, aditivos e impurezas, que pueden tener potencial tóxico por si mismas.

3.5 COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS

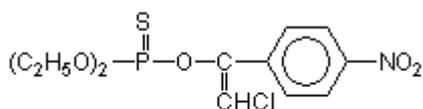
Se denominan compuestos organofosforados (COF) a aquellas sustancias orgánicas derivadas de la estructura química del fósforo. Son sustancias biológicas degradables en la naturaleza, sin tendencia a acumularse en la grasa del organismo pero con gran actividad neurotóxica que va a producir intoxicaciones agudas de gravedad. Son muy activos contra un gran numero de especies de insectos lo cual hace de ellos los insecticidas mas ampliamente extendidos en la actualidad.

Todos ellos derivan de la molécula del acido fosfórico teniendo como estructura base la siguiente:

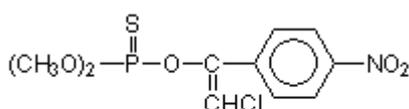


En la que R_1 y R_2 son radicales alquilo, generalmente metilo o etilo, el grupo X es característico de cada especie química, siendo frecuentemente un radical arilo, y suele contribuir de forma importante a sus propiedades físicas y químicas y biológicas.

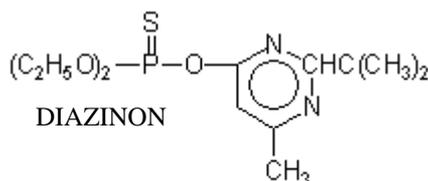
3.5.1 Estructura molecular



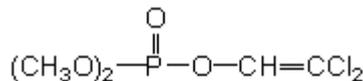
PARATION



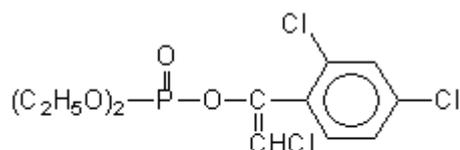
METILPARATION



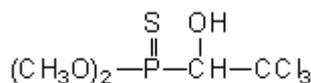
DIAZINON



DICLORVOS



CLORFENVINFOS



TRICLORFON

3.5.2 Etiología

Las formas etiológicas médico-legales más frecuentes son: ⁸

Intoxicaciones accidentales. En su mayor parte tienen un origen profesional, afectando a los obreros que trabajan en la preparación de los insecticidas o en la aplicación de estos en las plantaciones. También se conoce algunos casos entre los pilotos que trabajan en fumigaciones aéreas con estos insecticidas. Se han comunicado intoxicaciones alimentarias debidas al consumo de vegetales tratados con insecticidas. Así mismo se conocen algunos casos de intoxicaciones casuales debidas a confusión, una conservación defectuosa de los insecticidas en el medio agrícola, su manipulación imprudente y sobre todo falta de vigilancia de los niños que resultan víctimas de la potente toxicidad de estos productos. Según datos de la OMS se producen anualmente en el mundo alrededor de 1.000.000 de intoxicaciones agudas graves accidentales entre los aplicadores de plaguicidas.

Intoxicaciones suicidas. Se han hecho mas frecuentes a medida que se ha extendido el uso de los organofosforados al encontrar mas facilidades para disponer de ellos. Según datos de la OMS existen unos dos millones de intoxicaciones intencionadas, con fines suicidas, al año.

Envenenamientos criminales. Es el empleo intencional del tóxico con fines criminales y al igual que en las intoxicaciones de tipo suicida se ha hecho mas frecuentes gracias a la facilidad de adquisición de los mismos.

3.5.3 Toxicocinética⁹

3.5.3.1 Absorción

Los compuestos organofosforados se absorben fácilmente a través de la piel y más rápidamente por vía digestiva. La absorción respiratoria es casi instantánea.

La absorción por la piel no es uniforme en toda la superficie corporal, depende de cada compuesto, por ejemplo, en el caso del paratión, la absorción dérmica en distintas zonas del cuerpo humano varía desde el 0 %, en el arco plantar, hasta el 100 %, en el escroto; entre ambas cifras extremas están: 8.6 % en la cara ventral del antebrazo, alrededor del 33 % en distintos puntos de la cara y el 63 % en las axilas.

La absorción por vía respiratoria debe ser tomada especialmente en consideración cuando se trata de plaguicidas que se emplean en forma de aerosoles o cuyo ingrediente activo pasa fácilmente al estado de vapor o se trata de un gas.

3.5.3.2 Distribución

Una vez absorbidos, los organofosforados y sus metabolitos se distribuyen rápidamente por todo los órganos y tejidos, aunque las concentraciones más elevadas se alcanzan en el hígado y los riñones, antes de ser eliminados de manera prácticamente total por la orina y las heces.

3.5.3.3 Metabolismo

El catabolismo de los compuestos organofosforados se lleva a cabo principalmente en el hígado en donde son atacados por una serie de enzimas (estearasas, enzimas microsomales, transferasa) sufriendo una serie de transformaciones químicas (figura 3). Estas transformaciones tienden a aumentar las hidrosolubilidad del plaguicida y por lo consiguiente facilitan su excreción.

El metabolismo de estos compuestos, como ya se mencionó, transcurre principalmente en el hígado, y como resultado final de la transformación de la molécula se originan los “grupos salientes” que son característicos de cada organofosforado en particular (por acción de citocromos P-450), y un total de hasta 8 alquilfosfatos diferentes (por acción de las esterasas A), que son comunes para el conjunto de los organofosforados (figura 4). De estos últimos, los 6 más frecuentes son los siguientes: el dimetilfosfato (DMP), dietilfosfato (DEP), dimetiltiofosfato (DMTP), dietiltiofosfato (DETP), dimetilditiofosfato (DMDTP), dietilditiofosfato (DEDTP); el dimetilfosforotiolato (DMPTh), y el dietilfosforotiolato (DEPTh) son menos frecuentes. Todos estos compuestos resultantes son solubles en agua y se eliminan por la orina y las heces

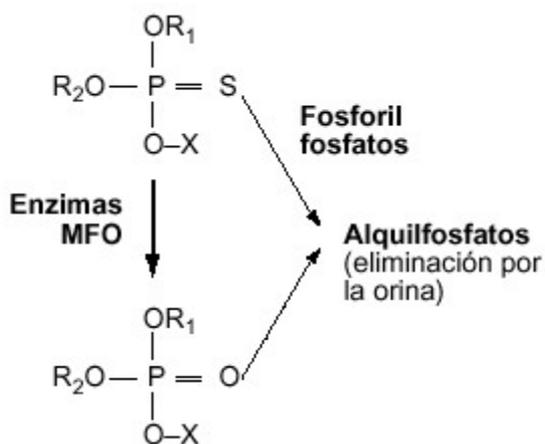


FIGURA 3. Metabolismo de COF

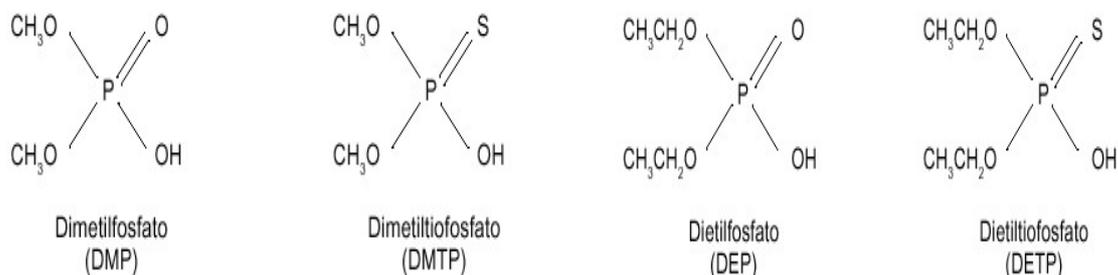


FIGURA 4. Estructura química de los principales alquilfosfatos

3.5.3.4 Eliminación

Los COF se eliminan por vía urinaria y heces en su forma activa o previa metabolización hepática.

En términos generales, entre el 75 y el 100 % de los organofosforados administrados por vía oral se transforma en compuestos solubles, entre los que se encuentran los alquilfosfatos mencionados anteriormente, prolongándose su eliminación urinaria por un periodo que oscila entre las 24 y 48 horas tras la administración. Debe tenerse en cuenta, no obstante, que la absorción por vía dérmica puede ser más lenta, extenderse durante un periodo más largo y, en consecuencia, la eliminación prolongarse más allá del referido plazo, puesto que representa el resultado de la integración de todo el proceso de absorción.

3.5.4 Toxicodinamia

Los COF se comportan como potentes anticolinesterásicos y actúan de manera selectiva en el sistema neurovegetativo.

Su acción específica consiste en combinarse con las colinesterasas formando una combinación reversible de forma espontánea. Sin embargo la colinesterasa no es destruida, lo que abre una vía a la terapéutica.

Combinándose con las colinesterasas estas quedan inactivadas, por lo que ya no pueden ejercer su papel fisiológico de hidrolizar la acetilcolina. De esta forma se acumulan

elevadas cantidades de acetilcolina con lo que se producen grandes perturbaciones de la transmisión nerviosa., al prolongarse su efecto de forma excesiva.

La primera consecuencia es un aumento del tono parasimpático que recuerda muy próximamente los efectos de la muscarina, afectando la pupila, musculatura intestinal y bronquial, las glándulas salivales, el nódulo sinusal y el nódulo auriculo ventricular.

Si la acción es mas intensa y persiste se añade un segundo efecto dando lugar a un estímulo intenso sobre las fibras motrices, cuya excitación se traduce por fenómenos neuromusculares nicotínicos (temblores, convulsiones y por ultimo una parálisis muscular).

3.5.5 Sintomatología

Los signos y síntomas de intoxicaciones aguda de organofosforados habitualmente aparecen entre la primera y segunda hora de la exposición, sin embargo, pueden desarrollarse varias horas después, especialmente en exposiciones de tipo dérmica.¹⁰

Los efectos aparecen inmediatamente o poco tiempo después de la exposición: en la absorción dérmica los signos y síntomas se manifiestan a las 2-3 horas después de la exposición. Sin embargo es posible observar los efectos dentro de 1/2-1 hora, dependiendo de las circunstancias de la intoxicación. Algunos compuestos pueden retenerse en el tejido graso resultando en un retraso de los síntomas hasta por 24 horas.

En este tipo de intoxicaciones se presentan signos y síntomas correspondientes a manifestaciones que se clasifican en tres tipos: muscarínicas, nicotínicas, y del sistema nervioso central (SNC) a consecuencia de la acumulación de la acetilcolina en los receptores (Tabla 1)¹¹. La distribución y severidad de las mismas varían con el grado de intoxicación.

TABLA 1. Síntomas de intoxicación por Compuestos Organofosforados.

TIPO DE MANIFESTACIÓN	SIGNOS / SÍNTOMAS
<p>Manifestaciones muscarínicas (Sist. Parasimpático, en general)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Árbol bronquial: opresión torácica, broncoconstricción, disnea, aumento secreción bronquial, tos, edema pulmonar, cianosis. 2. Sistema gastrointestinal: náuseas, vómito, compresión abdominal, calambres, diarrea, <i>incontinencia fecal</i>. 3. Bradicardia. Estimulación de distintas terminaciones en glándulas, <i>se creción salival y lacrimal</i>; sudoración, <i>diaforesis</i> (Sist. Simpático de efectores colinérgicos). 4. Pupilas: contracción (<i>miosis</i>). 5. Cuerpo ciliar: no se acomoda (visión borrosa). 6. Vejiga urinaria: <i>incontinencia urinaria</i>
<p>Manifestaciones nicotínicas (Sist. Simpático y motor)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Músculo estriado: temblor muscular, fasciculación, calambres, debilidad muscular, incluyendo los músculos respiratorios. 2. Palidez, taquicardia, aumento tensión arterial.
<p>Sist. Nervioso Central</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Depresión del centro respiratorio, con disnea, cianosis y caída de la tensión arterial. 2. Efectos psicomotores inespecíficos: aprensión, ansiedad, intranquilidad, inestabilidad emocional, insomnio, pesadillas, dolor de cabeza, temblor, depresión, apatía, sensación de borrachera, dificultad concentración, confusión, dificultad en la expresión oral, debilidad general. Coma con ausencia de reflejos.

3.3.6 Diagnóstico

El diagnóstico de intoxicación por compuestos organofosforados se apoya en una serie de criterios como son:

Historia de la exposición al tóxico. Es importante averiguar la existencia de riesgo laboral por exposición a tóxicos, así como su disponibilidad en el lugar y también debe preguntarse acerca de los antecedentes personales (psiquiátricos, intentos de suicidio, etc.).

Manifestaciones clínicas. Aunque muchos de los síntomas y signos de la intoxicación por COF no son específicos, la presencia conjunta de miosis, fasciculaciones musculares, lagrimeo, broncorrea, entre otros, pueden ser una buena pista para el diagnóstico.

Pruebas de laboratorio. La comprobación en el organismo de un presunto intoxicado por COF se puede hacer por los siguientes procedimientos:

Investigación del paranitrofenol en orina. Algunos insecticidas organofosforados, por ejemplo el paratión, sufren una hidrólisis metabólica que da nacimiento final a paranitrofenol que se elimina por orina y cuya demostración puede dar fe de la intoxicación.

Determinación de las colinesterasas. Es la prueba de mayor valor para confirmar el diagnóstico de intoxicación por COF.

3.5.7 Tratamiento¹²

Como primeros auxilios en una intoxicación por plaguicidas se debe:

1. Mantener vía aérea permeable y proporcionar asistencia ventilatoria si es necesario.
2. En intoxicaciones dérmicas sacar toda la ropa, bañar con agua y jabón al paciente, (proporcionar protección al personal médico que realice esta maniobra). Estos pacientes deben ser observados por lo menos 6 a 8 horas, antes de ser dados de alta.
3. En ingestión, lavado gástrico y la administración de carbón activado.
4. Manejo de soporte en neumonitis química, insuficiencia respiratoria, convulsiones y coma.
5. Aumento de la eliminación: Hemodiálisis o hemoperfusión no están generalmente indicados.

El tratamiento específico con fármacos incluye un agente antimuscarínico; como es la atropina y una oxima como reactivador enzimático, como la pralidoxima y la obidoxima.

Atropina

Se debe administrar 1-2 mg. en adultos y 0.05 mg/k. para niños por vía intravenosa y repetir las dosis cada 10 minutos hasta signos de atropinización. Hay casos descritos en que se han llegado a utilizar 3 gr. de atropina en 24 horas.

Obidoxima

Se administra 250 mg con un máximo de 750 mg. al día en adultos, en niños se puede usar de 4 a 8 mg/kg. no excediendo los 250 mg.

3.6 METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS

3.6.1 Consideraciones generales

La elevada toxicidad de los plaguicidas presentes en el medio ambiente obliga a disponer de medios analíticos fiables, rápidos, económicos y suficientemente sensibles que permitan el control de los compuestos tóxicos en diversos tipos de muestras, sobre todo en muestras biológicas de origen humano.

Mientras que en el análisis ambiental están bien definidos los métodos de toma de muestras, de análisis de los parámetros y sus límites máximos permitidos, en control biológico no existen métodos específicos de toma de muestras y de análisis, no suele haber métodos normalizados y aunque las técnicas analíticas son similares a las empleadas en la evaluación ambiental, la naturaleza de las matrices y la existencia de metabolitos hace que la preparación y extracción de las muestras sea más complicada.¹⁵

3.6.1.1 Matriz biológica

Uno de los primeros factores a tener en cuenta para llevar a cabo el control biológico es la elección de la matriz a analizar, la cual es dependiente de un número de variables tales como la farmacocinética del contaminante, la disponibilidad y la facilidad de la manipulación. Principalmente se manejan dos tipos de matriz:

Sangre (suero o plasma). Presenta la ventaja principal de poder determinar directamente el compuesto original en lugar de los metabolitos, y por tanto no se requieren detalles sobre el metabolismo del mismo. Además, se trata de un fluido regulado y la concentración de contaminantes absorbidos permanece constante. Sin embargo, el análisis de sangre presenta los inconvenientes de la obtención de la muestra, la limitación de la cantidad de sangre disponible y los bajos niveles de concentración de contaminantes presentes en la matriz.

Orina. Presenta la ventaja de obtener con mayor facilidad la muestra, mayor disponibilidad de volumen para realizar el análisis, y posibilidad de utilizar instrumentos menos sensibles puesto que las concentraciones en orina son mayores que en sangre debido a su rápido metabolismo y excreción.

3.6.1.2 Toma de muestra

Las muestras de sangre (1-5 ml) se obtienen por punción venosa utilizando heparina como anticoagulante; se recomienda mantenerlas a 4° C hasta el momento del ensayo, evitando la agitación innecesaria durante el transporte. La manipulación de las muestras depende del método analítico elegido. Existe la posibilidad de diluir la muestra heparinizada con una solución de saponina (1:10 v/v), almacenable a -20° C. Según el método analítico utilizado, existe también la posibilidad de emplear sangre obtenida con un capilar calibrado de 20 µL.

3.6.1.3 Preparación

Los plaguicidas deben aislarse de los materiales en los que se encuentran para su investigación. Los extractos deben someterse a una purificación antes de investigarlos y/o determinarlos cuantitativamente.

Se distinguen tres pasos fundamentales en su determinación:

3.6.1.3.1 Extracción (Separación del plaguicida de la matriz originaria y traspaso a una fase separable). La mayoría de los plaguicidas se extraen de las muestras con disolventes como el éter de petróleo, acetonitrilo o acetona; o bien cloroformo o éter etílico en medio neutro o ácido dependiendo del plaguicida y del tipo de muestra.

3.6.1.3.2 Purificación (eliminación de otras sustancias interferentes). Los métodos de purificación no son generales para los distintos plaguicidas y algunos no lo son, siquiera para todos los plaguicidas de una misma familia. En general, los extractos pueden purificarse por partición con solventes y/ o por cromatografía en columna de florisil, celita, sílica gel, alúmina o carbón activado.

3.6.2 Determinación analítica

La elección de la técnica analítica depende de una variedad de factores incluyendo costo, disponibilidad, selectividad, sensibilidad, propiedades de los analitos y capacidad de análisis.

3.6.2.1 Determinación de actividad colinesterásica

Debido a que resulta difícil encontrar algún plaguicida organofosforado en suero u orina o sus metabolitos como el dimetilfosfato o el dietilfosfato, se recurre a determinaciones en suero, plasma o sangre entera que son muy rápidas y pueden dar indicio de la gravedad de la intoxicación.

Para la identificación rápida de colinesterasa, existen técnicas de ejecución simple, basadas algunas de ellas, en el empleo de papeles reactivos. El denominado Merckotest, se recomienda para determinar la actividad de la enzima en suero o plasma, no sólo es útil en casos de exposición o de intoxicación con inhibidores de colinesterasa, sino también en diversos estados patológicos (lesiones hepáticas) o para evaluar la acción de ciertos medicamentos sobre el sistema enzimático.^{16,17,18}

Existen cuatro tipos de métodos para detección de la actividad de la colinesterasa: electrométrico, colorimétrico, cinético y tintométrico.

Lo ideal es medir la actividad de la colinesterasa eritrocitaria, por el método electrométrico de Michel. Este método mide el ácido producido por la acción de la acetilcolinesterasa sobre la acetilcolina en términos de cambio de pH en una solución tampón estándar en una hora. Se realiza en sangre heparinizada. Los valores normales de colinesterasa en sangre total, por este método se han determinado entre 91-64 opH/hora .

Método pHmétrico de Michel (para acetilcolinesterasa eritrocitaria).

FUNDAMENTO: La acetilcolinesterasa provoca la hidrólisis de la acetilcolina en colina y ácido acético. Este método estima la actividad de la enzima, midiendo el cambio de pH a través del empleo de un electrodo de vidrio. Otros métodos como el de W. Caraway, registra el cambio de pH usando un indicador colorimétrico.^{19,20}



MUESTRA: Se trabaja con sangre heparinizada, aproximadamente 8 ml de sangre, obtenida por venopunción (evitar la hemólisis), transferirla a un tubo heparinizado (con una gota de heparina), tapar y agitar cuidadosamente por inversión. Es conveniente separar el plasma de las células lo más pronto posible, cuando esto no se pueda llevar a cabo, se debe refrigerar la muestra a 4°C durante 2-3 horas (no es conveniente por más tiempo).

PROCEDIMIENTO

REACTIVOS

Solución tampón para glóbulos rojos: Barbital sódico 0,2 N (4,1236 gr.), fosfato de potasio diácido, 0,004 N (0,5444 gr) y cloruro de potasio 0,6 N (44,736 gr.). Disolver los reactivos en 950 ml de agua. Ajustar el pH: 8,10 exactamente a 25° C, con HCl 0,1 N (se requieren alrededor de 28 ml). Agregar gotas de tolueno y guardar en refrigerador.

Deberá comprobarse el pH y la capacidad de la solución tampón cada vez que se va a usar ya que estos valores tienden a variar con el tiempo.

NOTA: dietilbarbiturato de sodio= Barbital sódico= Veronal sódico.

Ioduro de acetilcolina: Disolver 3,004 gr. de Ioduro de acetilcolina en agua y llevar a 100 ml. Agregar gotas de tolueno y guardar en refrigerador.

Si la muestra fue refrigerada esperar a que alcance la temperatura ambiente.

Saponina al 0,01%: Disolver 10 mg. de saponina en agua y llevar a 100 ml.

Transferir 0.04 ml exactos de glóbulos rojos sedimentados a un matraz de 5 ml conteniendo 2 ml de saponina al 0.01 %, enjuagando la pipeta con la mezcla de saponina y glóbulos rojos, hasta que todas las células se desprendan de la pipeta.

Mezclar mediante vortex. Una vez preparadas las muestras, añadir a cada tubo 2 ml de solución tampón (para eritrocitos), esperar 10 min.

Determinar el pH de la solución hasta 0.01 de unidad y anotarlo como pH₁, (si la lectura es < de 7.97 desechar la prueba y comenzar otro ensayo con una solución tampón recién preparada).

Añadir 0.4 ml de sol. 0.1 M de yoduro de acetil colina para eritrocitos, mezclar con vortex y anotar como T1 el momento en que se añadió el yoduro , dejar reaccionar durante 1 hora a temperatura ambiente, cumplido este tiempo determinar el pH de la mezcla, se tomará como pH₂ y el momento que se mide como T2

CALCULO: El Δ pH/hora se determina siguiendo el siguiente esquema:

$$\Delta \text{pH/hora} = \frac{(\text{pH}_1 - \text{pH}_2 - b) \times f}{t_{\text{reacción}}}$$

b: corrección para la hidrólisis no enzimática

f: corrección para la variación de pH/hora con el pH.

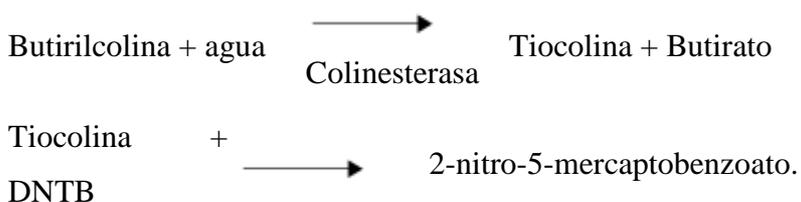
$t_{\text{reacción}}$: T2-T1, expresado en horas.

Los factores de corrección para la hidrólisis no enzimática, no son lineales con respecto al tiempo.

Valor de referencia: La cifra promedio de la actividad de la colinesterasa en un grupo de individuos normales de acuerdo a Michel, es de Delta de pH/hora: 0.75 para GR.

Procedimiento para la determinación de colinesterasa plasmática

La Colinesterasa sérica o plasmática (Pseudocolinesterasa o Butirilcolina esterasa) cataliza la reacción de hidrólisis de los ésteres de la colina, tal como la S-butirilcolina, con máxima actividad a pH 7,7. La tiocolina liberada reacciona con el ácido 5,5'-ditiobis-2- nitrobenzoico (DTNB) produciendo un compuesto amarillo de acuerdo al siguiente esquema de reacción.



La velocidad de aparición de color es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 405 nm.

3.7 SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

Como ya se menciona casi todos los casos de intoxicación se presentan en las zonas rurales de los países en desarrollo, donde la protección suele ser inadecuada o inexistente. Aunque estos países utilizan el 25 por ciento de la producción mundial de plaguicidas, en ellos se da el 99 por ciento de las muertes por intoxicación con estas sustancias¹³.

Según datos, todos los años se registran entre un millón y cinco millones²⁴ de casos de intoxicación por plaguicidas, con varios miles de muertes. Los niños corren más riesgos a causa de los plaguicidas porque pueden ser más susceptibles que los adultos o estar más expuestos que éstos. El comportamiento de los niños, el juego y el desconocimiento de los peligros, incrementan las posibilidades de entrar en contacto con las sustancias químicas. La desnutrición y la deshidratación aumentan la sensibilidad de los niños a los plaguicidas.

Por citar algunos ejemplos, en México, en 1990 se registraron 2,175²⁵ casos con tasa nacional de 2.73, los cinco estados más sobresalientes fueron Michoacán con tasa de 8.99, Sonora 7.64, Coahuila 6.56, Sinaloa 6.16, Jalisco 4.29 y en el año 2004 fueron 3,989²⁵ casos con tasa nacional de 3.70, los cinco estados con la tasa más alta fueron: Nayarit con tasa de 36.02, Sinaloa 13.83, Jalisco 12.74, Colima 8.05, Chiapas 6.79, tasas por 100,000 habitantes, con estos datos se observa que hay una tendencia hacia la alza, el grupo de edad más afectado fue 25 a 44 años.

En el Centro Nacional de Toxicología (CNT) del Centro de Emergencias Médicas de Asunción, Paraguay, en el período de julio del 2000 a mayo del 2004²⁶ el 13,7% de 2570 intoxicaciones correspondieron a plaguicidas, siendo las más frecuentes a órgano fosforados (47,1%). El grupo más frecuente correspondió al de 16 a 30 años (50,3%) con predominio en el sexo femenino (58,2%). Con relación a la ocupación las intoxicaciones afectaban a estudiantes de primaria y secundaria con 61 casos (22,6%), seguidos por 49 casos domésticos (18,2%) y agricultores con 31 casos (11,5%).²⁶

En Chile, según el Ministerio de Salud, en noviembre y diciembre de 2004 se notificaron 153 y 132 casos respectivamente, frente a los 58 y 32 afectados que se detectaron a igual fecha en 2003 y se estimaba que para diciembre las intoxicaciones no podían crecer más allá de los 64 brotes.

A fines del mes de julio del 2004 se han notificado un total de 307 intoxicaciones agudas por plaguicidas, con una tasa de 2,3 por 100 mil hbs. y con un 47% de casos involucrados en brotes. Al 31 de diciembre del año 2005 se notificaron 785 intoxicaciones agudas por plaguicidas, con una tasa de 4,9 por 100 mil hab. y un 37% de casos en brotes. Hasta el mes de abril del año 2006, se notificaron 193 casos de intoxicaciones agudas por plaguicidas, cifra inferior a lo observado en el año 2005 (321 casos), alcanzando una tasa de incidencia acumulada de 1,2 por 100 mil habitantes.

Del total de casos, el 16% ocurrió en brotes y el 51% requirió de hospitalización. Los más afectados fueron hombres (71%) y el promedio de edad de los intoxicados fue de 32 años. Los casos en menores de 15 años llegaron al 10%, la mayor parte de ellos fue de origen accidental no laboral y 2 casos laborales.

3.8 CASOS CLÍNICOS

Caso 1

En el Hospital Clínico Universitario “Lozano Blesa” ingresó un varón de 75 años con antecedentes de Síndrome depresivo. En tratamiento habitual con benzodiazepinas. Consumió de forma voluntaria 100 cc aproximadamente de Glyfosato. Presentó únicamente clínica digestiva en forma de náuseas y vómitos. Ingresó en la unidad de cuidados intensivos (UCI) por posible broncoaspiración que no llegó a confirmarse permaneciendo 48h sin evidencia de insuficiencia respiratoria ni alteraciones radiológicas. Fue tratado con carbón activado y antieméticos. Fue dado de alta a planta de digestivo y posteriormente a casa sin secuelas.

Caso 2

En el mismo Hospital ingresó una mujer de 77 años con antecedentes de síndrome depresivo, obesidad, cardiopatía isquémica. En tratamiento habitual con Rexer, Besitran y benzodiazepinas. Ingerió de forma voluntaria una cantidad no precisada de insecticida carbamato. Fue atendida por los servicios del 061 por encontrarse en coma GCS 7. A la exploración presenta rigidez muscular importante, relajación de esfínteres y miosis.

Presión arterial de 237/113 mmHg. Se intuba y conecta a ventilación mecánica. Durante el traslado en ambulancia se instaura tratamiento con labetalol y presentó un paro cardiorrespiratorio del que salió tras la administración de 3 atropinas y adrenalina. Ingresó en UCI. Se detectó intubación selectiva del bronquio derecho. Acidosis metabólica. Colinesterasas normales. Rx de tórax: atelectasia segmentaria basal izquierda. Se extuba a las 4 h de su ingreso siendo la evolución posterior favorable y dada de alta a planta en 72h.

Caso 3

En el mismo Hospital ingresó una mujer de 25 años con antecedentes de síndrome depresivo y gestos autolíticos previos. En tratamiento habitual con Prisdal y benzodiacepinas. Ingresó en UCI tras haber ingerido 250cc de glyfosato según refiere el padre. Se encontró en coma con palidez cutánea y cianosis. Sialorrea intensa. Relajación de esfínteres. Miosis puntiforme. Presión arterial de 130/70. Se procedió a intubación orotraqueal y lavado gástrico. Ingresó en UCI intubada y con ventilación mecánica. Estable hemodinámicamente, con miosis reactiva y muy sudorosa. Se realizó FGC que demuestra lesiones edematosas y úlceras en esófago. Ante la presencia de síntomas muscarínicos evidentes se solicitan niveles de colinesterasas que se encuentran muy disminuidos. Se le proporcionó tratamiento con atropina. El padre confirmó la sospecha de ingesta de insecticida organofosforado al revisar los frascos que tenía en su casa. A las 12 horas de su ingreso presentó buena mecánica respiratoria encontrándose consciente y orientada. Se extuba y se suspende la perfusión de atropina. Dos horas más tarde presenta cianosis y disminución del nivel de conciencia acompañado de mioclonias de EESS. Se reintuba ante la presencia de paro respiratoria que se atribuyó a parálisis de los músculos respiratorios por efecto nicotínico. Presenta fasciculaciones, sialorrea abundante. Se reanuda la perfusión de Atropina y se añade Pralidoxima al tratamiento. La evolución posterior es favorable extubándose de nuevo 24h más tarde. A las 48 horas presenta alucinaciones visuales por lo que se retira la perfusión de atropina tras ser valorada por el psiquiatra de guardia ante la sospecha de delirio por atropina. Finalmente tras 4 días de estancia en UCI pasa a planta de medicina interna con nutrición parenteral y que termina recuperándose.

Caso 4

Una niña de 3 años ingresó a las 13 hs al Hospital San José con un cuadro de excitación psicomotriz, inestabilidad en la marcha y falta de deseos de comer. La familia refiere que son de un pueblo del Partido de Pergamino, que la niña es sana y que estuvo bien hasta esa mañana. Durante la noche presentó tos. A las 3:30 de la madrugada instala de manera súbita insuficiencia respiratoria acompañada de aumento de secreciones bronquiales, vómitos, diarrea, sudoración profusa, taquicardia y convulsiones que no ceden con medicamentos anticonvulsivos. Se sospecha una intoxicación aguda por compuestos organofosforados y se trata con oxígeno, atropina y sostén avanzado de terapia intensiva. Al reinterrogar a los familiares se detecta que la niña tenía pica (se llevaba todo a la boca) y entre otras cosas comía tierra. Esa mañana había estado jugando en un montículo de tierra donde sus familiares habían limpiado un camión de transporte de cereales. Los estudios bioquímicos de orina dieron positivos para metamidofos. La paciente evolucionó bien y en 20 días recuperó la función de la acetilcolinesterasa.

Caso 5

Varón de 46 años de edad, oriundo de una localidad cercana que ingresa al Hospital derivado por tentativa de suicidio por ingestión de malatión. El paciente ingresó lúcido con signos bronquiales y abdominales, bradicárdico. Al interrogarlo refiere haber tomado unos 200 ml de una preparación. Se le realizó lavado gástrico y se pidió a la policía de la ciudad de procedencia la identificación del producto. Resultó ser clorpirifos y fue tratado en consecuencia revirtiendo el cuadro clínico. Tres días después de pasar a la sala general reingresó a terapia intensiva por presentar un síndrome intermedio requiriendo nuevamente atropina y más días de internación.

Caso 6

Varón de 19 años, estudiante universitario que tratando de convencer a su padre, quintero, de la inconveniencia del uso de ciertos plaguicidas en la huerta, decide eliminar todos los restos que su padre conservaba en un galpón, entre ellos paratión, quizás por impericia, el joven sufrió una intoxicación aguda moderada que revirtió con el tratamiento apropiado de atropina.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Llevar a cabo una revisión bibliográfica de la actividad de acetil-colinesterasa, como un método de diagnóstico en intoxicación accidental por compuestos organofosforados. Para lo cual se tienen los siguientes objetivos particulares.

OBJETIVOS PARTICULARES

Definir que es una intoxicación, sus formas y los tipos de intoxicación.

Definir que es un compuesto organofosforado, y revisar cual es su mecanismo de acción en las intoxicaciones así como su farmacocinética.

Revisar el método de la actividad de acetilcolinesterasa y su uso en la valoración de un caso clínico.

5. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación bibliográfica dará a conocer al personal del área de salud las ventajas de un diagnóstico rápido y confiable tratándose de una intoxicación de tipo accidental por compuestos organofosforados (COF), esto con el fin de proporcionar un tratamiento adecuado protegiendo, salvaguardando y preservando así la vida del paciente.

El uso de plaguicidas ha tenido un aumento considerable en los últimos años. La falta de conocimiento y un manejo inadecuado de los plaguicidas hechos a base de compuestos organofosforados (COF) puede dar lugar a una intoxicación de tipo accidental causando incluso hasta la muerte, por ello es indispensable contar con un método que sea rápido y confiable para la identificación de dichos compuestos. Con base a esto puede establecerse un diagnóstico correcto salvando así la vida del paciente.

El estudio solo se centrará en pacientes intoxicados de manera accidental por este tipo de plaguicidas aun con vida y aunque puede haber diferentes formas de diagnóstico solo se enfocara a la cuantificación de la acetilcolinesterasa.

6. CONCLUSIÓN

La intoxicación por compuestos organofosforados ocurre en todo el mundo, principalmente en países agrícolas y en vías de desarrollo.

Ya que estos compuestos químicos son de uso diario y frecuente, la exposición ocupacional y los intentos de suicidio son las principales causas de intoxicación por este tipo de plaguicidas.

Es de suma importancia fomentar las medidas de prevención y promoción en salud por parte de personal capacitado, encaminada a prevenir este tipo de intoxicaciones. Estas medidas pueden ser:

- ❖ Capacitar de manera adecuada al personal que produce, transporta, comercializa y utiliza los plaguicidas sobre la forma adecuada de manejo y uso de elementos de protección personal que siempre se deben usar al tener contacto con estos químicos, incluyendo el manejo seguro de envases y residuos de plaguicidas.
- ❖ Desarrollar prácticas de manejo integral de plagas (MIP) por parte de agrónomos y profesionales del agro que permitan utilizar dosis mínimas efectivas de plaguicidas y así brindar ambientes seguros en las áreas de trabajo.
- ❖ Insistir en la protección de poblaciones vulnerables como la infantil para evitar que tengan contacto con estos productos y ocurran accidentes especialmente a nivel doméstico.
- ❖ Identificar personas con depresión mayor o riesgo alto de suicidio, para realizar asesoría familiar, incluirlos en programas de salud mental y evitar además el fácil acceso a estas sustancias, ya que son utilizadas en forma frecuente con fines suicidas y homicidas.

Es importante que el personal de los servicios de salud reconozca los síntomas de la intoxicación tanto de los casos leves como severos, estén preparados en forma óptima para el manejo de personas con intoxicación por organofosforados y de esta manera garantizar el manejo clínico rápido y efectivo, que lleve a disminuir las complicaciones y secuelas producidas.

Para llevar a cabo el diagnóstico de este tipo de intoxicaciones la determinación de la actividad de la acetilcolinesterasa en suero presenta la ventaja de llevarse a cabo en un tiempo corto, a un costo bajo y con una alta confiabilidad. Con esta técnica el tiempo de diagnóstico es corto y puede salvarse la vida de un paciente que se encuentre en estado grave. Sin embargo cuando estamos ante muestras con concentraciones extremadamente bajas de analito lo recomendable es el uso de la cromatografía en sus diferentes modalidades.

1. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Montoya M. Toxicología Clínica, 3ª Edición, México: Méndez Editores; 2002: 165-180.
2. Villanueva E. Medicina Legal y Toxicología. Gisbert Calabuig, 6ª Edición, Barcelona: Editorial Masson; 2004: 695-725, 918-925.
3. Alva M. Compendio de Medicina Forense, 2ª Edición, México: Méndez Editores; 2000: 19-23.
4. Pavese N, Ganibelli G. Enfermedades Profesionales en la Medicina del Trabajo y en el Derecho Laboral, 2ª Edición, Buenos Aires; 1992: 58-65.
5. Godman L. and Gilman A. Pharmacological Basis of Therapeutics, 9a Edición, USA: Mac Graw-Hill; 1996.
6. Katzung. Farmacología Básica y Clínica, 4a Edición, USA: El Manual Moderno; 1996.
7. Obiols, J. Plaguicidas organofosforados, Madrid: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo; 1998: 253-288.
8. Martínez S, Saldivar L. Medicina Legal, 16ª Edición, México: Méndez Editores; 2000: 121-130.
9. Obiols, J. Plaguicidas organofosforados (I): aspectos generales y toxicocinetica. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, Notas Técnicas de Prevención, NTP-512. Barcelona; 2002.
10. Palacios M, Paz P, Hernández S. Mendoza L. Sintomatología persistente en trabajadores industrialmente expuestos a plaguicidas organofosforados. Salud Pública de México. (1999): 41(1): 55-61.
11. Gisbert, J, Villanueva, E. Intoxicaciones por plaguicidas, 4ª. Edición, Barcelona: Masson Salvat Medicina: 1991.
12. Buckley, N. Eddleston, M. Szinicz, L. Oximas para la intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados (Revisión Cochrane traducida). La Biblioteca Cochrane Plus. (2007):3.
13. Juan, B. Uso correcto de insecticidas: Control de la resistencia. Rev. Cubana Med. Trop. (2002):54(3).
14. Kushik, J. Chandrabhan, D. Sources of exposure to and public health implications of organo phosphate pesticides. Rev. Panam. Salud Publica. (2003):14(3).

15. López, F. Obiols, J. Subias, P. Plaguicidas agrícolas y salud. En plaguicidas: Aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos. Publicaciones de la Universidad Jaume I. Castelló de la Plana. 1998.
16. Biggs, H. Carey, S. y Morrison, D. A simple colorimetric method for measuring activities of cellular and plasma cholinesterase. *Am. J. Clin. Phath.* (1958):181(30).
17. Michel, H. Electrometric method for determination of red blood cell and plasma cholinesterase activity. *J. Lab. Clin. Med.* (1949):1564(34).
18. Whitehead, T. Johnson, J. Estimation of serum acetylcholinesterase activity using the Astrup A.M.E.1 micro-equipment. *Proc. Assoc. Clin. Biochem.* (1965):228(3).
19. Carmona, J. Valores de referencia de la actividad de la acetilcolinesterasa eritrocitaria según las técnicas de Michel y EQM en población laboral de Antioquia, Colombia. *Rev. Panam. Salud Publica.* (2003): 14(5): 316-324.
20. Carmona, J. correlación y conversión entre los valores de colinesterasa medida con las técnicas de Michel y EQM. *Biomédica Instituto Nacional de Salud.* (2006):26(4): 546-555.
21. Kaushik, R, Clint A. Concentration-dependent interactions of the organophosphates cholrpyrifos oxon and methyl paraxon with human recombinant acetylcholinesterase. *Toxicology and Applied Pharmacology.* (2007): 221(2): 243-250
22. Aboudonia, M., Lapadula, D. Mechanisms of organophosphorus esterinduced delayed neurotoxicity: Type I and Type II. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* (1990): 30: 405-440.
23. Takamiya, K. Monitoring of urinary alkyl phosphates in pest control operators exposed to various organophosforus insecticides. *Bull. Eviron. Contam. Toxicol.* (1994): 190(52).
24. Rodríguez, S. Mallet, J. Intoxicación aguda por diazinon en niños. *Arch. Pediatr. Urg.* (2007):78(1).
25. Duran-Nah, J. Colli-Quintal, J. Intoxicación aguda por plaguicidas. *Salud Pública Mex.* (2000):42(1):53-55.
26. Arias, v. Aquino, F. Delgadillo, L. Intoxicación por plaguicidas en pacientes asistidos en el Centro Nacional de Toxicología del Ministerio de Salud Publica. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud.* (2006):4(2).