



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA
ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO

TEMA:

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE
COLINESTERASA ERITROCITARIA EN
TRABAJADORES DE LA FINCA FLORÍCOLA FLOR
DE AZAMA EXPUESTOS A PESTICIDAS
ORGANOFOSFORADOS DURANTE EL PERIODO
MARZO – MAYO DE 2011

Tesina de grado previo a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio

Clínico e Histopatológico

AUTOR: CARLOS SAMANIEGO PARRA

TUTOR: Dr. WILSON MONCAYO

RIOBAMBA - ECUADOR

2011



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA
ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO

TEMA:

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE COLINESTERASA
ERITROCITARIA EN TRABAJADORES DE LA FINCA
FLORÍCOLA FLOR DE AZAMA EXPUESTOS A PESTICIDAS
ORGANOFOSFORADOS DURANTE EL PERIODO MARZO –
MAYO DE 2011

Tesina de grado previo a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio
Clínico e Histopatológico, aprobada, calificada, ratificada y firmada por los
miembros del tribunal.

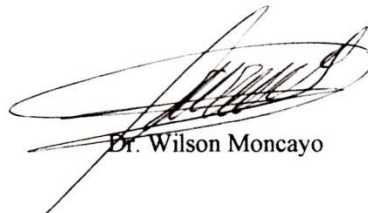
----- 1er Miembro del Tribunal	----- Nota	----- Firma
----- 1er Miembro del Tribunal	----- Nota	----- Firma
----- 1er Miembro del Tribunal	----- Nota	----- Firma

Nota Final

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Grado presentado por el señor Luis Carlos Samaniego Parra para optar por el título de Licenciado en Laboratorio Clínico e Histopatológico, y acepto asesorar al estudiante en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba, 26 de abril de 2011



Dr. Wilson Moncayo

AGRADECIMIENTO.

A la Universidad Nacional de Chimborazo, por su formación. A la Finca Florícola Flor de Azama, por el apoyo brindado para el presente trabajo. A mis maestros y amigos que me han brindado esa ayuda incondicional.

DEDICATORIA.

A mis padres, Carlos y Nelly que siempre me han apoyado. A mi esposa Vilma que me acompaña siempre. A mis hijos Daniel, Carlos y Felipe, mi más grande razón de ser.

DERECHOS DE AUTORÍA.

Yo, Luis Carlos Samaniego Parra, soy responsable de las ideas, doctrinas y criterios expuestos en el presente trabajo investigativo y los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo

RESUMEN

En este trabajo investigativo, se podrá encontrar de manera sencilla algunas temáticas que conciernen a la intoxicación por insecticidas. Para esto se empezará por explicar la fisiología normal del impulso nervioso, las reacciones bioquímicas que aquí se producen y también las distintas sustancias que intervienen en estas reacciones. Después se analiza más a fondo dos de esas sustancias que resultan de gran importancia en este estudio como son Acetilcolina y Acetilcolinesterasa, se explica que son, en donde y como actúan y su catabolismo. Posteriormente se llega a los compuestos organofosforados, que son uno de los pilares de la presente tesis, su acción, efectos, tratamiento, etc. A continuación se explica la forma de determinar los niveles de colinesterasa eritrocitaria y su relación con la exposición a compuestos organofosforados. Finalmente se hace un análisis con los datos obtenidos en el estudio realizado a los trabajadores de la Finca Florícola Flor de Azama y en base a este estudio comparativo se presentan las respectivas conclusiones y recomendaciones.

SUMMARY

In this investigative work, he will be able to be in a simple way some thematic ones that concern to the intoxication for insecticides. For this you will begin explaining the normal physiology of the nervous impulse, the biochemical reactions that here take place and also the different substances that intervene in these reactions. Then it is analyzed but thoroughly two of those substances that are of great importance in this study like they are Acetylcholine and Acetilcolinesterasa, it is explained that they are where and like they act and their catabolism. Later on you arrives to the compound organofosforados that are one of the pillars of the present tesina, their action, goods, treatment, etc. Next the form is explained of determining the levels of colinesterasa eritrocitaria and its relationship with the exhibition to compound organofosforados. Finally an analysis is made with the data obtained in the realized study to the workers of the Property Florícola Flower of Azama and based on this comparative study the respective summations and recommendations are presented.

INDICE GENERAL

	Pág.
Introducción	1
CAPITULO I	
1 Problematización.....	3
1.1 Planteamiento del problema.....	3
1.2 Formulación del problema.....	4
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general.....	4
1.3.2 Objetivos específicos.....	4
1.4 Justificación.....	5
CAPITULO II	
2 Marco teórico.....	7
2.1 Antecedentes de la investigación.....	7
2.2 Fundamentación teórica	7
2.2.1 Transmisión del impulso nervioso.....	7
2.2.2 Acetilcolina.....	12
2.2.2.1 Funciones de la acetilcolina	13
2.2.2.1.1 Funciones motoras	13
2.2.2.1.2 Funciones neuroendócrinas	13
2.2.2.1.3 Funciones parasimpáticas	13
2.2.2.1.4 Funciones sensoriales.....	13
2.2.2.2 Síntesis y almacenamiento de acetilcolina.....	14
2.2.2.3 Liberación de acetilcolina.....	17
2.2.2.4 Inactivación de acetilcolina.....	18
2.2 .Colinesterasa.....	18
2.2.3.1 Indicadores de efecto y exposición.....	20
2.2.4 Compuestos organofosforados	22
2.2.4.1 Patrón de exposición	23
2.2.4.2 Vías de exposición.....	24
2.2.4.3 Toxicocinética.....	25

2.2.4.4	Toxicodinámica.....	31
2.2.4.5	Tratamiento.....	36
2.2.5	Determinación de colinesterasa eritrocitaria	38
2.2.5.1	Principio.....	38
2.2.5.2	Composición del reactivo de colinesterasa.....	40
2.2.5.3	Preparación del reactivo de colinesterasa.....	40
2.2.5.4	Deterioro del reactivo	41
2.2.5.5	Recolección y almacenamiento de la muestra.....	41
2.2.5.6	Cálculos.....	46
2.2.5.7	Actividad de colinesterasa eritrocitaria.....	47
2.2.5.8	Limitaciones.....	47
2.2.5.9	Valores de referencia.....	47
2.2.5.10	Cuidados y precauciones de acuerdo a la técnica.....	48
2.2.6	Definición de términos básicos.....	49
2.3	Hipótesis y variables.....	51
2.3.1	Hipótesis.....	51
2.3.2	Variables.....	51
2.4	Operacionalización de variables.....	52
CAPITULO III		
3	Marco metodológico.....	53
3.1	Método.....	53
3.2	Población y muestra.....	53
3.2.1	Población.....	53
3.2.2	Muestra.....	54
3.3	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	54
3.3.1	Observación.....	54
3.4	Técnicas para el análisis e interpretación de resultados	54
3.4.1	Técnicas estadísticas.....	54
3.4.2	Técnicas lógicas.....	54
3.4.3	Interpretación de resultados.....	55

CAPITULO IV		
4	Conclusiones y recomendaciones.....	65
4.1	Conclusiones.....	65
4.2	Recomendaciones	66
BIBLIOGRAFÍA.....		67
ANEXOS.....		68

INTRODUCCIÓN

La colinesterasa es una enzima que actúa inhibiendo el impulso nervioso hacia el músculo esquelético, por lisis de acetilcolina, por lo que es importante que se encuentre en niveles adecuados para suprimir el efecto, caso contrario este último sería prolongado.

La acetilcolina es un neurotransmisor que se forma en las terminaciones de la fibra nerviosa y lleva el impulso nervioso a la fibra muscular en donde actúa haciendo que este se contraiga, una vez producido su efecto, la enzima acetilcolinesterasa se acopla a la acetilcolina y la hidroliza en ácido acético y colina, terminando así la acción de contracción en la fibra muscular.

Cuando existe intoxicación por compuestos organofosforados o carbamatos, los niveles de colinesterasa disminuyen debido a que dicha enzima está acoplada con este tipo de compuestos, por lo tanto no puede interrumpir el impulso nervioso de manera que la acción del neurotransmisor acetilcolina no cesa y el músculo queda contraído.

Actualmente la floricultura está en auge en nuestro medio, pero desgraciadamente los trabajadores de las florícolas, la mayoría de bajo nivel socio-cultural, no utilizan las debidas medidas de protección ya sea por falta de conocimiento, descuido o porque las empresas no proveen de equipamiento necesario a sus trabajadores, exponiéndose así a la contaminación por pesticidas organofosforados, por lo cual muchas veces llegan a una intoxicación la mayoría de veces crónica.

Cuando existe intoxicación por estos pesticidas, los pacientes pueden presentar algunos síntomas y signos que pueden ir desde cefaleas, dificultad respiratoria, calambres, náusea, diarrea, bradicardia, ansiedad, intranquilidad, insomnio, debilidad general, e incluso coma con ausencia de reflejos.

Es importante que la empresas florícolas realicen controles periódicos a sus empleados para saber los niveles de colinesterasa, y mas aún si presenta alguno de los síntomas expuestos, ya que es la forma más sencilla de saber si existe o no contaminación por organofosforados, para lo cual se sigue un procedimiento de extracción de sangre para su posterior análisis en el laboratorio. Este análisis se lo puede hacer por varios métodos, para este estudio emplearemos el de Ellman, que es un proceso fácil, rápido y con costos relativamente bajos.

Se puede evitar muchas de estas intoxicaciones tan solo con seguir normas básicas de protección, además de recibir charlas de capacitación en las que los trabajadores tomen conciencia del daño que se puede ocasionar si no se protegen de manera adecuada.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMATIZACIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El incremento de empresas florícolas en la zona, conlleva una serie de efectos en la población de la misma, la mayoría de ellos beneficiosos como por ejemplo se han creado nuevas fuentes de trabajo, la economía y por lo tanto el comercio ha mejorado notablemente, además de que el país encuentra un sitio de reconocimiento a nivel internacional por las exportaciones de flores.

Pero también encontramos algunos aspectos perjudiciales y el principal de ellos es la exposición a compuestos organofosforados.

Algunos trabajadores de la Finca Florícola Flor de Azama sobre todo en el área de fumigación son personas con un bajo nivel cultural, por lo que desconocen las consecuencias de exponerse sin protección a los compuestos organofosforados, o incluso algunos que conociendo los riesgos adoptan un que me importismo pensando en que “no va a sufrir eso efectos”.

Se debe sumar también el caso de que algunas empresas por “reducir costos”, no proporcionan a sus trabajadores el equipo de protección necesario como son overoles, guantes, mascarillas, gafas, etc. Y si bien es cierto que las leyes en nuestro país está mejorando en cuanto a la defensa de los trabajadores, todavía quedan algunos vacíos de los cuales compañías se aprovechan para no tratar a sus empleados como sería lo correcto.

También hay que tomar en cuenta que hay personas que pueden estar expuestas de manera accidental por circunstancias que no son inherentes a la propia actividad y como consecuencia de tratamientos incorrectos realizados por terceras personas

Una de las desventajas de la contaminación por estos compuestos es que son de acción residual, es decir luego de la intoxicación aguda en que los principales síntomas son la opresión torácica, náusea, vómito diarrea, bradicardia, etc., la eliminación de estos compuestos es lenta y el paciente presentará temblores,

cefaleas, aturdimiento, ansiedad, intranquilidad, insomnio etc., hasta algún tiempo después de la fase aguda, mientras se elimina el tóxico.

Entonces es de gran utilidad, cuantificar la colinesterasa para de esta manera saber el grado de intoxicación y por ende saber las medidas a tomar para ayudar a estos pacientes.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Qué importancia tiene determinar los niveles de colinesterasa eritrocitaria en trabajadores de la Finca Florícola “Flor de Azama” expuestos a pesticidas organofosforados durante el periodo marzo – mayo de 2011?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar los niveles de colinesterasa eritrocitaria en los trabajadores de la Finca Florícola Flor de Azama para saber si han sido contaminados por la exposición a insecticidas organofosforados durante el período marzo - mayo de 2011

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer la acción del neurotransmisor acetilcolina y la enzima colinesterasa en la transmisión del impulso nervioso hacia el músculo
- Establecer la relación que existe entre los niveles de colinesterasa eritrocitaria y la contaminación por pesticidas organofosforados.
- Conocer los principales signos y síntomas de una intoxicación por pesticidas organofosforados.
- Aplicar el método de Ellman para la determinación de la colinesterasa eritrocitaria.

1.4 JUSTIFICACIÓN

Recientemente, unido al crecimiento sostenido de la agricultura y en especial de la floricultura en nuestra economía, es de gran importancia pensar en el bienestar de los trabajadores de todas las áreas de las empresas que utilizan este tipo de productos, por lo cual se hace necesario el monitoreo de la exposición de los trabajadores a pesticidas, especialmente organofosforados, de ahí la constante preocupación que debe tener el empleador y el propio trabajador (autocuidado) en el empleo de pesticidas, así como de la exposición involuntaria por el trabajo desarrollado. No son infrecuentes los reportes de casos de exposición accidental a pesticidas debido a su uso inadecuado por parte de personal no calificado. Los bajos niveles socio culturales de muchos de los trabajadores de las empresas florícolas en general hacen que esta problemática pase inadvertida para ellos mismos, ocasionando en lo posterior graves complicaciones que de no tomar las medidas adecuadas podrían tener graves secuelas e incluso acabar con la vida de dichos individuos.

La exposición a organofosforados también puede ser monitoreada por la presencia de metabolitos en orina, los alquilfosfatos, ya que esta molécula es siempre de origen exógeno; sin embargo, el costo de la determinación y la demora en la obtención del resultado no presenta ventajas comparativas sobre la determinación clásica de colinesterasa eritrocitaria.

Estas entre otras razones son las que han motivado la realización de esta investigación con el apoyo de la Finca Florícola Flor de Azama, en la que se ha tomado muestras a partir de un grupo de trabajadores que recién se incorpora al área de fumigación y otro grupo que sale de esta área para poder evaluar los niveles de colinesterasa a medida que transcurre el tiempo de exposición para el primer grupo y el tiempo sin contacto de organofosforados para el segundo grupo de la empresa florícola, con la posterior evaluación y análisis de los datos obtenidos se podrá establecer la relación que existe entre los niveles de colinesterasa y la exposición a los compuestos organofosforados, partiendo desde

pacientes con exposición cero hasta pacientes con tres meses de exposición a dichos compuestos y pacientes con el mismo tiempo de exposición hasta exposición nula.

Además con los datos que arroje la investigación se podrán emitir sugerencias o recomendaciones con las cuales la empresa podrá tomar medidas preventivas y correctivas si es que lo amerita el caso.

También, tomando en cuenta que en la Universidad Nacional de Chimborazo no existe un estudio de este tipo, se quiere aportar a la institución con una explicación detallada de lo que son los compuestos organofosforados, la acetilcolina, la colinesterasa y sobre todo la técnica de determinación de la misma que será de gran utilidad para los compañeros en el ámbito laboral.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN:

En la Universidad Nacional de Chimborazo no existen estudios relacionados con el tema.

En el Departamento de Salud del Municipio de Cotacachi, si existe un estudio de los niveles de colinesterasa en las poblaciones cercanas a las fincas florícolas de la localidad.

A nivel Latinoamericano existen algunas publicaciones al respecto como por ejemplo:

Niveles de colinesterasa sérica en agricultores de la localidad de Carapongo (Perú) del Doctor Polonio Horna Willian.

Monitoreo efectivo de la exposición a carbamatos y organofosforados de Jorge Pineda (Chile)

Valores de referencia de la actividad de la colinesterasa eritrocitaria en la población laboral de Antioquia (Colombia) de Carmona-Fonseca.

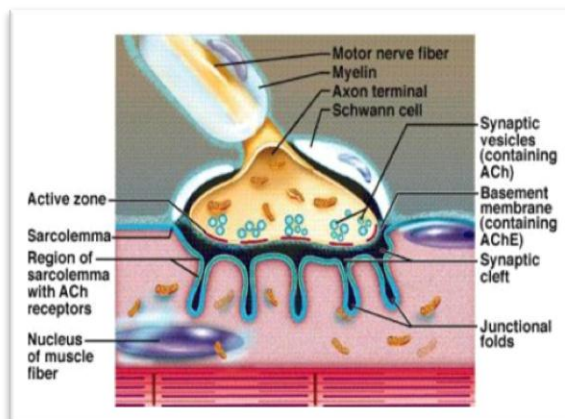
2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.2.1 TRANSMISIÓN DEL IMPULSO NERVIOSO

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LA UNIÓN NEUROMUSCULAR

La transmisión nerviosa tiene lugar en una estructura especializada del músculo esquelético llamada unión neuromuscular o placa motora terminal. El mecanismo de la transmisión neuromuscular consiste en la liberación de acetilcolina, y su unión a los receptores nicotínicos de la membrana postsináptica.

Gráfico N° 1: Unión neuromuscular

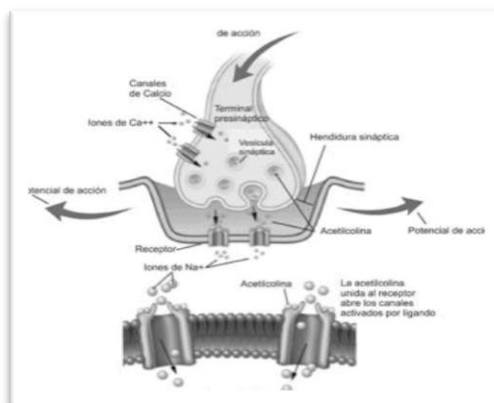


FUENTE:Lic. Alberto Cesar Varillas Marín avarillas@lamolina.edu.pe

El músculo esquelético está inervado por nervios motores mielinizados. Se sabe que el interior de una fibra nerviosa motora tiene un potencial eléctrico de cerca de 70 mV (milivoltios) más negativo que el exterior del nervio, y que si esta diferencia alcanza un valor umbral se genera un potencial de acción que viaja a lo largo del axón y finalmente causa la contracción del músculo que inerva. A medida que el axón de la neurona motora se aproxima a la placa terminal pierde su placa de mielina y se divide en numerosos filamentos no mielinizados, cada uno de los cuales inerva una fibra muscular. Sólo una fibra nerviosa llega a una placa terminal (no hay convergencia) sin embargo, puede haber considerable divergencia puesto que varias placas terminales pueden ser inervadas por un mismo nervio. El filamento nervioso no mielinizado se subdivide en botones terminales que se invaginan en los pliegues de la membrana muscular subyacente llamados hendiduras subneurales que incrementan el área de la superficie en la que actúa el transmisor sináptico. El espacio entre la terminal nerviosa y la fibra muscular se denomina hendidura sináptica, que tiene una amplitud de 20-30 nanómetros (nm). Los impulsos nerviosos son transmitidos por medio de un transmisor químico, la acetilcolina, que es también el neurotransmisor de todas las fibras autonómicas preganglionares.

Las moléculas de acetilcolina junto con adenosíntrifosfato (ATP), proteoglicanos y iones de Ca^{2+} , Mg^{2+} e H^+ , son almacenadas en vesículas de unos 40 nm (nanómetros) de diámetro en el Aparato de Golgi del cuerpo de las neuronas motoras de la médula espinal, que migran hacia la unión neuromuscular por transporte microtubular. Las vesículas están agrupadas en el axoplasma terminal en forma de bandas transversas llamadas zonas activas. En las terminaciones nerviosas de una sola placa terminal hay aproximadamente 1000 zonas activas donde existen cerca de 300,000 vesículas. Un cuanto representa el contenido de acetilcolina de una vesícula presináptica, que almacena 5.000 a 10.000 moléculas. (GUYTON A, HALL J, Tratado de Fisiología Médica, Editorial Elsevier, Decimoprimer edición, España 2009)

Gráfico N°2: Función de la unión neuromuscular



FUENTE: Seeley R, Stephens T. y Tate P. Anatomy & Physiology. Mc Graw-Hill, 2000

Cuando el potencial de acción que viaja por el axón de una neurona motora llega a la terminal presináptica, se produce la apertura de los canales de Ca^{2+} operados por voltaje y de esta manera se eleva la concentración de Ca^{2+} en la terminal nerviosa. El Ca^{2+} que entra a la terminal nerviosa se combina con la calmodulina. La calmodulina es una proteína dependiente del Ca^{2+} , esencial para el proceso de la regulación de la exocitosis de acetilcolina en la terminal nerviosa. La

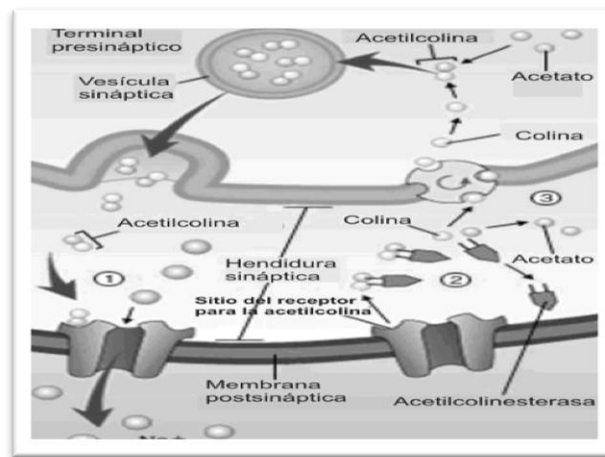
calmodulina interactúa con una de las proteínas íntimamente relacionadas con el proceso de exocitosis, la sinapsina I que en estado desfosforilado inmoviliza las vesículas al unirse con ellas. Las sinapsinas son un grupo de proteínas de la vesícula de acetilcolina, que las une al citoplasma y evita su movilización. La fosforilación de la sinapsina I por la proteína CaM-kinasa II (dependiente del calcio y la calmodulina) anula su afinidad por las vesículas sinápticas e induce el desplazamiento y fusión de las vesículas de acetilcolina hacia la membrana de la terminal nerviosa produciéndose así la exocitosis de la acetilcolina hacia la hendidura sináptica.

La liberación de acetilcolina ocurre espontáneamente cuando la célula nerviosa está en reposo, liberándose en forma aleatoria uno o más cuantos de acetilcolina a la hendidura sináptica; este fenómeno produce diminutas espigas de despolarización llamadas potenciales miniatura de placa terminal (PMPT), que tienen una duración de pocos milisegundos y una amplitud entre 0.5 y 1 milivoltio. Además de la liberación espontánea que ocurre en forma permanente, la acetilcolina se libera cuando un potencial de acción presináptico alcanza la terminal nerviosa y se liberan 100 a 200 cuantos de acetilcolina, que son los que originan los potenciales de placa terminal (PPT) –de 15 a 20 mV de amplitud–, capaces de iniciar una onda de despolarización en la fibra muscular. El PPT es generado por la sumatoria eléctrica de muchos PMPT descargados sincrónicamente de las zonas activas.

Una vez que se libera, una molécula de acetilcolina se une a cada una de las dos subunidades de los receptores nicotínicos de la membrana postsináptica. La acetilcolina tiene un grupo amonio cuaternario de carga positiva, que es atraído por el sitio del receptor, de carga negativa. La compuerta de estos receptores es activada por un ligando, en este caso, la acetilcolina. Un ligando es una señal química que ocupa un lugar específico en el receptor. La activación del receptor por la acetilcolina da origen a un cambio conformacional de éste, que da lugar a la rápida apertura del canal iónico por el que entra Na^+ y sale K^+ . Al entrar el Na^+ se despolariza la membrana de la célula muscular. Esta despolarización local lleva a

la activación de los canales de Na^+ vecinos, que amplifican y propagan los potenciales de acción a toda la superficie de la fibra muscular y hacia los túbulos transversos donde existe una alta densidad de canales de Ca^{2+} . La liberación de grandes cantidades de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico produce la contracción muscular. La transducción de la señal eléctrica de la superficie de la membrana muscular a la liberación de Ca^{2+} intracelular del retículo sarcoplásmico se conoce como el acoplamiento excitación-contracción.

Gráfico N° 3: Ciclo de la acetilcolina en la unión neuromuscular



FUENTE: Seeley R., Stephens T. y Tate P. Anatomy & Physiology. Mc Graw-Hill,2000

Cuando se libera, aproximadamente el 50% de la acetilcolina debe ser removida rápidamente para que ocurra la repolarización. La hidrólisis es llevada a cabo en menos de un milisegundo por la enzima acetilcolinesterasa, que se encuentra en la terminal nerviosa unida a la membrana postsináptica. La enzima desdobla la acetilcolina en ión acetato y colina; esta última no actúa como transmisor del impulso nervioso.



La rápida actividad de la enzima impide que la acetilcolina reaccione más de una vez con el receptor y evita la acumulación de la acetilcolina en la unión

neuromuscular. La disociación de la acetilcolina en sus componentes ocasiona el cierre del canal. La acetilcolinesterasa está presente en todos los sitios donde la acetilcolina funciona como neurotransmisor. (<http://anestesianet.com/unal.htm>).

2.2.2 ACETILCOLINA

Es el primer neurotransmisor descubierto. Se sintetiza a partir de la colina sérica. La acetilcolina esta formada por dos componentes acetato y colina, los cuales se unen mediante la acción de la acetilcolina transferasa, esta reacción tiene lugar en su mayor parte en los terminales nerviosos más que en otras regiones neuronales. Su fórmula química es $\text{CH}_3\text{-CO-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-(CH}_3\text{)}_3$ que se libera de las vesículas sinápticas para propagar impulsos por la brecha sináptica perteneciente a axones de motoneuronas y neuronas colinérgicas, tanto pre y postgangliónicas, como parasimpáticas. Se encuentra en las neuronas motoras de la espina dorsal, en las neuronas preganglionares del SNA (sistema nervioso autónomo) y en las neuronas postganglionares del SNP (sistema nervioso parasimpático). Los receptores colinérgicos se dividen en nicotínicos y muscarínicos. Los receptores nicotínicos se unen a los canales iónicos, son más rápidos y generalmente excitatorios, se bloquean por el curare y se estimulan por la nicotina y la acetilcolina. Los receptores muscarínicos se unen a la proteína G, son más lentos, son excitatorios o inhibitorios, son bloqueados por la atropina y estimulados por la muscarina, y acetilcolina.

La Colina es transportada del plasma a las neuronas gracias a la actividad de sistemas de transporte de alta y baja afinidad; el de alta afinidad es exclusivo de neuronas colinérgicas y dependiente del Sodio extracelular. La Colina puede desempeñar un rol importante en procesos neuroquímicos relacionados con la regulación del afecto. Se han reportado altos niveles cerebrales de Colina asociados a ánimo depresivo.

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.

2.2.2.1 FUNCIONES DE LA ACETILCOLINA

Existen grandes diferencias en los efectos que desencadena la Acetilcolina en diferentes sitios de transmisión colinérgica:

2.2.2.1.1 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. 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 sustancia vasodilatadora —Factor relajante derivado del endotelio— que difunde hasta el músculo liso produciendo relajación.

2.2.2.1.2 FUNCIONES NEUROENDÓCRINAS: Aumenta la secreción de vasopresina por estimulación del lóbulo posterior de la hipófisis. Disminuye la secreción de prolactina de la hipófisis posterior.

2.2.2.1.3 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. Aumenta el tono muscular gastrointestinal. Aumenta las secreciones endocrinas gastrointestinales. Disminuye la frecuencia cardíaca.

2.2.2.1.4 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. La acetilcolina también interviene en la percepción del dolor y la memoria.

2.2.2.2 SÍNTESIS Y ALMACENAMIENTO DE ACETILCOLINA.

La Acetilcolina, éster acético de la Colina, es sintetizada en el citoplasma neuronal a partir de la unión de Colina con Ácido acético, en presencia de Acetil-CoA; y, posteriormente, es almacenada en las vesículas sinápticas, en las que se transporta a las terminaciones nerviosas donde se utiliza para la transmisión del impulso nervioso. De sus precursores, la Colina es un alcohol nitrogenado, Trimetilamincefanol, sintetizado en el hígado y luego transportado a la neurona por vía hemática; y el Ácido acético proviene de la Acetil-CoA formada primordialmente a nivel mitocondrial. La Acetil-CoA se origina de 2 fuentes: puede provenir del piruvato, gracias a la acción de la piruvato deshidrogenasa; o ser sintetizada por la Acetil-CoA sintetasa (Acetatotiocinasa).

La enzima acetilcolintransferasa (ChAT) al parecer es sintetizada en el cuerpo de la neurona y es transportada mediante flujo axoplásmico hasta los terminales, donde se activa. Esta enzima es específica de las terminaciones nerviosas colinérgicas. La Acetilcolina sintetizada es transportada y almacenada en las vesículas sinápticas. Se estima que cada vesícula contiene 5,000 a 10,000 moléculas de Acetilcolina; y una sola terminación nerviosa motora contiene 300,000 o más vesículas.

La colina es sintetizada, en primer lugar en el hígado y es transportada a otros órganos por vía sanguínea. La colina libre se capta específicamente en los terminales nerviosos colinérgicos mediante una bomba de alta afinidad, dependiente de Na.

La colina esta presente en el espacio extracelular como resultado de la hidrólisis externa de la acetilcolina previamente liberada. En todas las neuronas incluso en

algunas células gliales parece existir un sistema de captación de Colina de baja afinidad. La acetilcolina (ACh) es el neurotransmisor específico en las sinapsis del sistema nervioso somático (SNS) y en las sinapsis ganglionares del sistema nervioso autónomo (SNA), así como en los órganos diana de la división parasimpática. Esta situación ha permitido una amplia dedicación científica y, por tanto, un extenso conocimiento de su actividad. En este sentido, la comprobación del papel excitatorio de la sinapsis colinérgica en la placa neuromuscular y de su papel inhibitorio sobre la membrana de las fibras musculares cardíacas confirma el concepto que anteriormente expresábamos sobre la consecuencia derivada, no del neurotransmisor, sino de la naturaleza de los canales iónicos controlados por los receptores colinérgicos postsinápticos. En la musculatura esquelética el control se ejerce sobre el canal iónico del sodio y en la musculatura cardíaca sobre el canal iónico del potasio.

La acetilcolina se encuentra también ampliamente distribuida en el encéfalo y es un neurotransmisor clave en la regulación de los niveles de vigilancia y en el funcionamiento de grandes áreas de asociación.

El acetato se deriva de la glucosa por vía del piruvato y del complejo piruvato deshidrogenasa mitocondrial que genera Acetil CoA.

La acetilcolina transferasa es una proteína globular, se encuentra en el cerebro. La regulación de la síntesis se debe al hecho de que la bomba de colina de alta afinidad resulta inhibida por un exceso de acetilcolina y acelerada por bajos niveles lo que hace que resulte como punto de control.

Su síntesis se realiza en el botón terminal mediante la utilización de dos sustancias precursoras, el acetato y la colina; si bien la síntesis exige la incorporación del acetato a la colina y la intervención del sistema enzimático acetil-colina-transferasa (ChAT), que a su vez necesita la presencia de una coenzima, la coenzima-A, para transferir el acetato.

En la síntesis, el proceso fundamental se refiere a la acción de la acetilcolinotransferasa (ChAT), que ante la presencia de acetilcoenzima A y del aminoalcohol colina, deja libre la coenzima y da como resultado el producto final de la reacción, que es el neurotransmisor acetilcolina.

En cuanto a su degradación, el sistema enzimático imprescindible para la catabolización, es la intervención de la acetilcolinesterasa (AChE) postsináptica, que se une específicamente a la acetilcolina y la rompe en dos moléculas, liberando los propios precursores de su síntesis, es decir, el acetato y la colina.

La importancia del Ca^{+2} en la transmisión colinérgica es enorme, hasta el punto que se sabe que son necesarios cuatro iones de Ca^{+2} para abrir una vesícula colinérgica y que es imprescindible mantener una concentración de calcio extracelular mínima de 10^{-4} M para que la conducción de un impulso nervioso termine con la liberación de acetilcolina. Por tanto, la eliminación del Ca^{+2} extracelular o el bloqueo de su acción, por ejemplo con la competencia del magnesio (Mg^{+2}), disminuye e incluso inhibe la liberación de acetilcolina, como ocurre con algunos venenos y toxinas, como la toxina botulínica.

El papel de la acetilcolina también es importante en el diencéfalo. En el hipotálamo, la activación colinérgica puede provocar hipotermia. También parece ser responsabilidad de la acción colinérgica la liberación de neurohormonas, como la antidiurética y la oxitocina. En el tálamo, parece prioritaria la actividad colinérgica en el funcionamiento del sistema talámico difuso y, consecuentemente, en la regulación del nivel de vigilancia de la corteza cerebral.

Ante esta amplia distribución, los efectos centrales de una acción anticolinérgica se ponen de manifiesto de una manera general sobre la conducta con síndromes característicos como pérdida de memoria y atención, habla confusa y ataxia, confusión y desorientación.

La formación de la acetilcolina está limitada por la concentración intracelular de colina, la cual está determinada por la recaptura de colina dentro del terminal

nervioso. Las neuronas no pueden sintetizar colina nueva; por tanto es suministrada o desde el plasma o por metabolismo de componentes que contienen colina. Al menos la mitad de la colina empleada en la síntesis de ACh se cree que proviene directamente de ACh reciclada o liberada, hidrolizada a colina por la colinesterasa. Otra fuente de colina viene de la ruptura de fosfatidilcolina, la cual puede aumentarse en respuesta a la liberación local de ACh. La colina derivada de estas dos fuentes se hace disponible en el espacio extracelular y está hasta entonces sujeta a la recogida de alta afinidad dentro del terminal nervioso. En el sistema nervioso central estas fuentes metabólicas de colina pueden ser particularmente importantes, ya que la colina en el plasma no puede pasar la barrera hematoencefálica. Así, en el sistema nervioso central, la recogida de colina de alta afinidad dentro de las neuronas colinérgicas no puede saturarse, y la síntesis de ACh (acetilcolina) puede estar limitada por el suministro de colina, al menos durante la actividad sostenida. Esto puede ser una de las causas por las que no hay una mejora en demencias con precursores de colina como la lecitina.

2.2.2.3 LIBERACIÓN DE ACETILCOLINA

Una amplia serie de agentes despolarizantes inducen la liberación de acetilcolina a partir de una serie de preparaciones nerviosas mediante mecanismos que requieren la presencia de calcio.

La liberación de ACh requiere la presencia de Ca^{+2} extracelular, el cual entra en la neurona cuando está despolarizada. La mayoría de los investigadores creen que una corriente de Ca^{+2} dependiente del voltaje es el hecho inicial responsable de la liberación de transmisor. Toda la acetilcolina contenida dentro de la neurona colinérgica no se comporta como si estuviera dentro de un compartimento único. Hay al menos dos fuentes distinguibles de ACh; se han llamado fuentes de disposición rápida o depósito y fuentes reserva o estacionarias.

En un cerebro normal, los niveles de dopamina y acetilcolina, se encuentran en equilibrio e igualados en sus funciones inhibitorias y excitatorias. Cuando se

reducen los niveles de dopamina, se rompe dicho equilibrio pues la acetilcolina comienza a tener un exceso en su actividad excitatoria, lo que provoca enfermedad de Parkinson.

2.2.2.4 INACTIVACIÓN DE LA ACETILCOLINA

El sistema de transporte vesicular de la Acetilcolina, responsable de la concentración de Acetilcolina en las vesículas sinápticas, ha sido caracterizado recientemente, a nivel molecular y funcional, e involucra un sistema torpedo electromotor especializado; la comparación del transporte de la Acetilcolina con los de las monoaminas demuestra la existencia de una nueva familia de genes; el mapeo de genes ha mostrado una única relación entre los genes para el transporte vesicular de la Acetilcolina y para la Colina-acetil-transferasa.

Una vez liberada a la hendidura sináptica, la acetilcolina se une durante un tiempo muy corto a sus receptores postsinápticos antes de ser degradada por la acetilcolinesterasa eritrocitaria (AChE) que esta concentrada en la hendidura. (<http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/acetilcolina.htm>)

2.2.3 COLINESTERASA

La acetilcolinesterasa es una esterasa que hidroliza a la acetilcolina, neurotransmisor en muchas sinapsis, especialmente en las placas neuromotoras.

La AChE es una glicoproteína globular que esta presente en los nervios, músculos y eritrocitos de los vertebrados y es específica para la misma acetilcolina. Esta enzima se sintetiza en el cuerpo celular y se distribuye a través de al neurona mediante flujo axoplásmico.

La degradación hidrolítica de la Acetilcolina se lleva a cabo a nivel extracelular, en la proximidad de la terminación nerviosa, gracias a la acción de la Acetilcolinesterasa, que desdobra la Acetilcolina a sus componentes originales que son acetato y colina. (<http://www.Ini.wa.gov/Spanish/Safety/Topics/Atoz/Cholinestetrse.asp>).

La actividad de la colinesterasa en células rojas humanas, es altamente específica, pero no exclusiva de la acetilcolina. Es llamada colinesterasa específica. La actividad de la colinesterasa presente en el plasma, hidrolisa tanto la colina como los esteres alifáticos, demostrando un rango más amplio de actividad esterolítica, conocido como pseudocolinesterasa o colinesterasa no específica. Esta hidrolisa la acetilcolina lentamente. El nombre sistemático para la acetilcolinesterasa es acetilcolina acetilhidrolasa. El nombre sistemático para la colinesterasa (en plasma) es acilcolina acilhidrolasa. La naturaleza diferente de la colinesterasa fue descubierta en 1940. La enzima plasmática es sintetizada por el hígado, y la enzima de los glóbulos rojos se sintetizada durante la eritropoyesis. La actividad de la colinesterasa es baja en niños recién nacidos y alta en hombres y mujeres adultas. La enzima está formada por un complejo grande de proteínas. Existe evidencia que está conformada por subunidades de estructura múltiple, 4 cadenas peptídicas que forman dos dímeros. Debido a la cantidad de aminoácidos que la conforman, es posible encontrar muchas variaciones moleculares. Los niveles de la enzima en los glóbulos rojos están aumentados en estados hemolíticos, en talasemias, esferocitosis y anemias hemolíticas adquiridas. Y se encuentran disminuidos en la hemoglobinuria paroxística nocturna y en recaídas de anemias megaloblásticas que se normalizan después del tratamiento. (ANGEL Gilberto y ANGEL Mauricio, Interpretación Clínica del Laboratorio, Editorial Panamericana, 7ma edición, Bogotá 2006).

Los potentes inhibidores de la colinesterasa pueden presentar problemas toxicológicos clínicos importantes. Los insecticidas sistémicos (organofosforados, carbamatos) son un ejemplo. Tanto la acetilcolinesterasa del plasma como la de los eritrocitos están generalmente inhibidas. El efecto sobre la enzima del plasma es más marcado, sin embargo, sus niveles son utilizados en el diagnóstico y en la evaluación de la recuperación. La recuperación de la colinesterasa se determina mejor por la comparación de la actividad de la colinesterasa en los eritrocitos. Su potencial tóxico es variable, colinesterasa eritrocitaria versus plasmática, de tal forma que los niveles eritrocitarios pueden ser necesarios para el diagnóstico y /o monitoreo. Si se sospecha disminución de la actividad de la colinesterasa puede

no estar relacionada con el efecto inhibidor de un organofosforado, por lo tanto se debe determinar nuevamente el nivel de acetilcolinesterasa intraeritrocitaria. Si ambos niveles están significativamente disminuidos, los hallazgos son aquellos de los efectos tóxicos exógenos. La acetilcolinesterasa intraeritrocitaria no se encuentra normalmente en el líquido amniótico.

La Acetilcolinesterasa se localiza primordialmente en neuronas colinérgicas (dendritas, pericariones y axones), en la proximidad de las sinapsis colinérgicas, y otros tejidos. De modo predominante, se localiza en las uniones neuromusculares, ganglios vegetativos, terminaciones nerviosas parasimpáticas y núcleo caudado. El plasma sanguíneo contiene el tipo inespecífico de la misma enzima conocido como Pseudocolinesterasa (Colinesterasa, Esterasa sérica o Butirilcolinesterasa). (<http://www.Ini.wa.gov/Spanish/Safety/Topics/Atoz/Cholinestetrase.asp>).

2.2.3.1 INDICADORES DE EFECTO Y EXPOSICIÓN

Los indicadores de efecto y exposición, constituyen la medida de ciertos parámetros para saber si un individuo ha sido expuesto a determinada sustancia, y que efectos a producido esta en el mismo.

Las colinesterasas constituyen los biomarcadores de efecto de elección para el control biológico de los trabajadores expuestos a organofosforados. En realidad, el parámetro que tiene auténtico interés a tal fin es la medida de la inhibición de estas enzimas producida por tal exposición.

Desde un punto de vista analítico, y de cara al control biológico, al hablar de las colinesterasas, puede tratarse de las determinaciones de AChE (acetilcolinesterasa) eritrocitaria, de BuChE (butirilcolinesterasa) plasmática, ya comentadas, y de la colinesterasa en sangre total, que es el resultado de la actividad combinada de ambas enzimas.

Conviene resaltar que, si bien los distintos organofosforados inhiben las colinesterasas neural, eritrocitaria y plasmática en diferente medida y según

diferentes patrones temporales, estas determinaciones proporcionan una indicación valiosa de su absorción por parte de las personas expuestas. Esta es la razón de fondo por la que la OMS (organización mundial de la salud) y organismos de distintos países, han establecido valores límite biológicos, la mayoría para la inhibición de la colinesterasa eritrocitaria en relación al valor basal de cada individuo, por dos motivos principales: 1º) la AChE eritrocitaria es bioquímicamente idéntica a la neural, y por tanto tiende a ser más representativa de la acción que puedan ejercer los organofosforados en el sistema nervioso, aunque su ubicación histológica es totalmente distinta, y 2º) la colinesterasa plasmática se inhibe por muchas otras causas, además de la exposición a los organofosforados, y algunos individuos tienen niveles bajos determinados genéticamente.

Ocasionalmente, con el fin de establecer el diagnóstico etiológico, y siempre que se sospeche que se ha producido una exposición aguda a organofosforados (o a carbamatos, en según en qué condiciones), puede ser útil la determinación de la actividad colinesterásica sin disponer del valor basal, a condición de que la toma de muestra se realice lo más pronto posible después de la exposición. En tal caso esta determinación se emplea como un elemento de confirmación diagnóstica, sin relación alguna con pretendidos fines preventivos del control biológico.

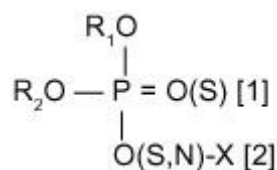
Tal como se ha comentado, la determinación en orina de los alquilfosfatos, comunes al conjunto de los organofosforados, o de los “grupos salientes”, metabolitos específicos para cada especie química, representan otros tantos elementos útiles en el control de la exposición xenobióticos.

Según estudios, se ha demostrado que la colinesterasa eritrocitaria se regenera a una tasa del 1% diario, mientras que la colinesterasa plasmática se regenera a una tasa de 25% en el lapso de 5 a 7 días, por lo cual no sirve para monitoreo. (<http://www.Insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentos/Fichas/NTP.pdf>)

2.2.4 COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS

Los plaguicidas organofosforados constituyen un amplísimo grupo de compuestos de síntesis, en general altamente tóxicos, con un precedente en los gases de guerra, a menudo conocidos bajo el apelativo de ‘gases nerviosos’, entre los que se encuentran el sarin, tabun y soman, y que se desarrollaron de manera especial a partir de la Segunda Guerra Mundial. Las propiedades de estos compuestos como insecticidas fueron el motivo de que ya en 1959 se hubieran sintetizado alrededor de 50.000, al revelarse como útiles elementos de lucha contra las plagas de insectos, por lo que forman parte, como ingredientes activos, de muchos formulados comerciales (CALABRESE A. y ASTOLFI E: Toxicología, Editorial Kapeluz, Buenos Aires 1982).

La fórmula estructural general de estos compuestos, que se caracterizan por la presencia de (en general) tres funciones éster, es la siguiente:



En la que R1 y R2 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.

Se trata de compuestos, en general, marcadamente apolares, lo que significa que desde el punto de vista químico la mayoría son escasamente solubles en agua, aunque con grandes diferencias de un compuesto a otro, y desde el punto de vista biológico tienden a disolverse en grasas. Por tal motivo, la piel, donde se encuentra una importante capa de tejido con elevado contenido en lípidos, puede constituirse en una importante vía de entrada. La estabilidad de los

organofosforados depende del pH del medio; a pH fuertemente alcalino se descomponen, lo que puede ser utilizado para destruirlos.

2.2.4.1 PATRÓN DE EXPOSICIÓN

En general, el patrón de exposición de un trabajador a un contaminante viene determinado por la concentración, el número de horas y la periodicidad de la misma. Cuando la exposición es única (por un periodo de menos de 24 horas) y a una concentración relativamente elevada, hablamos de exposición aguda. Cuando la exposición se repite diariamente durante un periodo de tres o más meses (sin límite máximo) se dice que la exposición es crónica; situaciones intermedias son la subaguda (hasta un mes) y subcrónica (menos de tres meses), siendo habitualmente (aunque no siempre) las concentraciones más bajas que en la exposición aguda.

La exposición a organofosforados (y plaguicidas en general), se caracteriza porque tales patrones son relativamente fáciles de discernir para los trabajadores de la producción industrial, ya que para estos, tiende a ser continua y prolongada, de nivel muy constante, a uno o muy pocos compuestos, y, por tanto, fácil de reducir a límites aceptables, siempre que se adopten y apliquen de manera estricta las medidas de seguridad e higiene industrial adecuadas. De no ser así, el riesgo de enfermedad profesional de los trabajadores por exposición crónica a compuestos organofosforados puede ser elevadísimo, ya que en los procesos industriales se utilizan ingredientes activos con un grado de pureza próximo (o superior) al 95 % (máxima toxicidad, según la especie química implicada; y riesgo de contacto por fugas, vertidos, polvo, etc.) y/o pueden entrar en contacto con importantes cantidades del producto ya formulado.

Por el contrario, la exposición de los trabajadores que utilizan estos productos (manipuladores, aplicadores y similares) es de duración variable, intermitente, muy variable en cuanto al nivel, a numerosos compuestos diferentes (de manera sucesiva en el tiempo o simultáneamente por el uso de mezclas); resumiendo, los

usuarios están sometidos a una exposición intermitente, de intensidad variable y múltiple, por lo que el término exposición crónica no se puede aplicar en el sentido habitual.

2.2.4.2 VÍAS DE EXPOSICIÓN

En el ámbito laboral, la exposición puede tener lugar por las tres vías clásicas: digestiva, inhalatoria y dérmica. La vía digestiva directa se suele considerar como accidental (ingestión de una solución por error o con fines suicidas, o de alimentos directa o indirectamente contaminados). Deberá, por tanto, evitarse en todo momento el contacto de alimentos (y su almacenamiento) con tales productos, así como comer, beber o fumar durante su manipulación o sin lavarse previamente las manos y la cara.

Desde hace muchos años, es bien conocido que las vías inhalatoria y la dérmica están muy estrechamente relacionadas con la exposición en las distintas operaciones en que se pueden manipular este tipo de productos por parte de operarios con distintas actividades o de personas que accidentalmente pueden entrar en contacto con ellos sin manipularlos, tal como ya se ha señalado. La vía digestiva debe considerarse como una vía “atípica” de entrada en el organismo, pero que puede implicar un riesgo importante cuando se utilizan frascos no adecuadamente etiquetados para contener los formulados o sus diluciones, o se consume tabaco, alimentos o bebidas en el puesto de trabajo, contaminados, durante la manipulación o aplicación del producto o con posterioridad a la misma, sin proceder a una higiene personal adecuada.

La penetración de los plaguicidas a través de los trajes de protección (alcanzando la piel) es función del tipo de prenda utilizado, tiempo de contacto, ingrediente activo (y tipo de formulado), tipo de fibra y tratamiento repelente que se le ha aplicado. Los valores experimentales que van del 0.01 al 21.8 % para un mismo tipo de prenda nueva, o del 0.05 al 31 % en una nueva y otra lavada de un mismo tipo desechable (lo que implica que se debe evitar la reutilización de las prendas

de un solo uso). El tiempo de contacto es decisivo: en aplicaciones agrícolas, mientras los porcentajes respectivos de penetración, en dos modelos distintos, a los 5 minutos son inapreciables, a los 15 minutos pueden ser del 0.6 y 2.0 % y a los 30 minutos son de 1.6 y 5.1 %, debido al contacto continuado de la prenda con las hojas húmedas tratadas.

La absorción de la contaminación no eliminada de la piel (que implica un contacto prolongado y por tanto una mayor facilidad del proceso), especialmente cuando el ingrediente activo está diez, cien o mil veces más concentrado que en la dilución final empleada en la aplicación (como en los procesos de formulación, o manipulación del formulado concentrado), puede ser cuantitativamente muy elevada, y frecuentemente conducente a intoxicaciones agudas. Una higiene personal escrupulosa es un elemento preventivo imprescindible, adicional a las medidas de higiene y seguridad a seguir en el desarrollo de la propia actividad.

2.2.4.3 TOXICOCINÉTICA

La toxicidad real por vía dérmica depende de la rapidez con que el ingrediente activo sea capaz de alcanzar la circulación general y de la toxicidad inherente al propio producto. Algunos ingredientes activos se absorben escasamente por esta vía (menos del 1%), mientras otros atraviesan fácilmente la barrera dérmica y la absorción es prácticamente total. La toxicidad aguda por vía dérmica se evalúa mediante la determinación experimental de la DL50: dosis letal media, es decir, la dosis (mg/kg de peso del animal) que causa la muerte del 50 % de los animales a los que se les ha administrado por aplicación sobre la piel.

a. ABSORCIÓN

La absorción por la piel no es uniforme en toda la superficie corporal para un determinado compuesto. 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 temperatura ambiental elevada es otro factor importante que contribuye a favorecer la absorción cutánea. La excreción de p-nitrofenol urinario en voluntarios, tras aplicación de la misma cantidad de paratión a la piel, ha demostrado que la absorción por vía dérmica aumenta con la temperatura, probablemente a consecuencia de un aumento de la circulación periférica en estas condiciones; la humedad relativa alta, que también la favorece, actúa de manera similar.

Temperatura ambiente y excreción de p-nitrofenol

Tabla nº 1: Temperatura ambiente y excreción de paranitrofenol

Temperatura (°C)	14	22	29	40
Excreción (md/h)	5	6	7	20

Fuente: Namba, 1971; Weinbaum y cols., 1995

La absorción por vía inhaladora 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. En general, la absorción por esta vía es muy elevada y, si no se dispone de datos experimentales que demuestren lo contrario, se considera que es del 100%.

La toxicidad aguda por vía inhalatoria, cuando es potencialmente peligrosa, se evalúa determinando experimentalmente la CL50: la concentración letal media, es decir, la concentración en aire (mg/l) que en una exposición de 4 horas causa la muerte del 50 % de los animales sometidos a ensayo.

En los demás casos la evaluación de la toxicidad aguda se realiza administrando el compuesto por vía digestiva a ratas o ratones, obteniéndose así la correspondiente LD50 por vía oral, expresada en mg/kg de peso del animal.

b. 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.

No obstante, los compuestos más lipofílicos pueden almacenarse en pequeña proporción en los tejidos grasos y el tejido nervioso, dada su riqueza en lípidos, de donde pueden ser posteriormente liberados en forma lenta, produciendo intoxicaciones crónicas.

c. METABOLISMO

El catabolismo (descomposición en sustancias más sencillas) de los compuestos organofosforados una vez absorbidos tiene lugar, en parte, a través de las llamadas esterazas.

Las esterazas “A”, son enzimas que los hidrolizan a una velocidad considerable, actuando como detoxificadoras.

Las esterazas “B” no tienen, en general, esta función y, muy al contrario, son las moléculas diana sobre las que los organofosforados actúan en el organismo, ejerciendo así su acción tóxica, como es el caso de la acetilcolinesterasa (con una muy destacada función fisiológica en el sistema nervioso) cuya actividad bioquímica resulta inhibida, con una rapidez e intensidad que dependen de la naturaleza del propio compuesto, además de su concentración. La butirilcolinesterasa, llamada pseudocolinesterasa o colinesterasa sérica, por encontrarse en el suero, es

de características análogas a la anterior pero con función detoxificadora frente a los organofosforados.

La acetilcolinesterasa, además de encontrarse en los glóbulos rojos, donde no se le conoce acción fisiológica, regula la transmisión de los impulsos nerviosos en las terminaciones colinérgicas de las neuronas preganglionares del sistema simpático y parasimpático (receptores nicotínicos), de las postsinápticas del sistema parasimpático (receptores muscarínicos), de una parte importante de las sinapsis existentes entre neuronas del propio SNC, y de las terminaciones motoras en los músculos estriados (voluntarios), en las uniones neuromusculares, también con receptores nicotínicos

El acúmulo de acetilcolina en cualquiera de esos puntos que se acaban de citar, por inhibición de la actividad colinesterásica, trae como consecuencia la aparición de trastornos de mayor o menor intensidad y de naturaleza distinta.

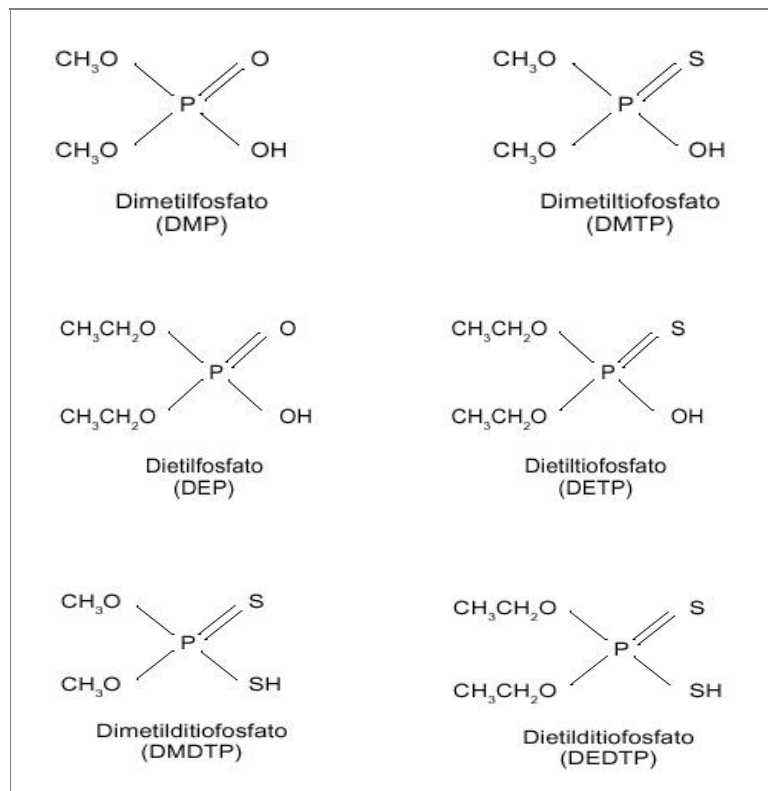
En general, se habla de efectos muscarínicos, (cuando recuerdan los de la muscarina, el agente tóxico de la seta venenosa *Amanita muscaria*), o de efectos nicotínicos, (similares a los de la nicotina, el agente tóxico de la planta del tabaco, *Nicotiana tabacum*), según actúe sobre uno u otro de los referidos tipos de receptores, respectivamente.

El catabolismo de los organofosforados sigue las dos fases habituales de detoxificación de los xenobióticos en el organismo en general, las denominadas fase I y fase II. Paradójicamente, en ocasiones, el organofosforado requiere que se metabolice antes de convertirse en un compuesto biológicamente activo, y por tanto nocivo, en el organismo.

El metabolismo de estos compuestos 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. 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.

Grafico N°4: Estructura de los dialquilfosfatos, resultantes del metabolismo de los plaguicidas organofosforados



Fuente: Namba, 1971; Weinbaum y cols., 1995.

d. ELIMINACIÓN

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 a los que se acaba de aludir, prolongándose su eliminación urinaria por un periodo que oscila entre las 24 y 48 horas tras la administración (experimental). 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.

Los efectos tóxicos producidos por los organofosforados en el organismo, bajo las distintas circunstancias de exposición constituye el objeto de estudio de la toxicodinámica. Debe recordarse que, en general, el conocimiento de la toxicodinámica de un xenobiótico (compuesto extraño al organismo) permite establecer parámetros que reflejan su toxicidad, así como los niveles de exposición aceptables en distintas circunstancias. La correlación, cuando existe y se conoce, entre los niveles de exposición (concentración x horas/jornada) crónica, en el ámbito ocupacional (o los efectos producidos en el organismo por dicha exposición, su toxicodinámica) y los valores de los biomarcadores o indicadores biológicos (obtenidos en muestras biológicas apropiadas) permite establecer “valores de referencia” apropiados, de aplicación en el control biológico de los trabajadores crónicamente expuestos. Por el contrario, el tipo de muestra, el momento de la toma y otros aspectos concretos de la práctica del control biológico vienen determinados por la toxico cinética del compuesto en cuestión.

En el control biológico, cabe distinguir entre control biológico de exposición y el de efecto, según que el indicador utilizado determine la presencia del xenobiótico (o sus metabolitos) o algún efecto biológico para

evaluar la exposición interna del trabajador y el riesgo para su salud que implica, por comparación con un valor de referencia adecuado. (www.estrucplan.com.ar/producciones/toxicologia16.asp).

2.2.4.4 TOXICODINÁMICA

Los efectos que de una manera general se observan a consecuencia de la exposición a organofosforados son, en gran parte, resultado de la combinación del tipo de exposición (aguda/crónica), la intensidad (dosis o concentración) y la/s especie/s química/s implicadas (categoría toxicológica) pudiéndose agrupar en los siguientes tipos:

- a. Exposición aguda. Efectos inmediatos y retardados
- b. Exposición repetida o crónica. Efectos agudos y crónicos
- c. Exposición aguda/crónica. Efectos permanentes y diversos

a. EXPOSICIÓN AGUDA

• Efectos inmediatos

Aquí se sitúan los efectos más frecuentes, constituyen las que comúnmente se denominan intoxicaciones agudas por exposición a organofosforados, siendo sus principales manifestaciones consecuencia directa de la inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa ejercida por estos compuestos. 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), tal como se presenta en la tabla, a consecuencia de la acumulación de la acetilcolina en los receptores. La distribución y severidad de las mismas varían con el grado de intoxicación. Según su severidad, clásicamente las intoxicaciones

agudas se han venido clasificando en: latentes (sin manifestaciones clínicas), ligeras (se presentan manifestaciones muscarínicas típicas y algunas de tipo central, como dolor de cabeza y debilidad general), moderadas (el paciente no puede andar, sintomatología muy marcada; buena recuperación con tratamiento adecuado, sin él puede ser problemática), y graves (el paciente está inconsciente, miosis, falta de reflejos oculares, fasciculaciones musculares, dificultades respiratorias y cianosis; pronóstico fatal sin tratamiento adecuado).

Signos y síntomas de la intoxicación aguda por organofosforados

Tabla N° 2: Signos y síntomas de la intoxicación aguda por organofosforados

TIPO DE MANIFESTACIÓN	SIGNOS / SINTOMAS
Manifestaciones muscarínicas. (Sist. Parasimpático en general)	<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, incontinencia fecal. 3. Bradicardia. Estimulación de distintas terminaciones en glándulas de secreción salival y lacrimal, sudoración, diaforesis. 4. Pupilas: contracción (miosis). 5. Cuerpo ciliar: no se acomoda (visión borrosa). 6. Vejiga urinaria: incontinencia urinaria.
Manifestaciones nicotínicas. (Sist. Simpático y motor)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Músculo estriado: temblor muscular, fasciculaciones, calambres, debilidad muscular incluyendo los músculos respiratorios. 2. Palidez, taquicardia, aumento tensión arterial
Sist. Nervioso central	<ol style="list-style-type: none"> 1. Depresión del centro respiratorio con disnea, cianosis y caída de la tensión arterial. 2. Efectos psicomotores inespecíficos: ansiedad, intranquilidad, inestabilidad emocional, insomnio, pesadillas, dolor de cabeza, temblor, depresión, apatía, dificultad de concentración, confusión, dificultad en la expresión oral, debilidad general. Coma con ausencia de reflejos.

Fuente: Namba, 1971; Weinbaum y cols., 1995

Una característica esencial de este tipo de intoxicaciones lo constituye el descenso de la actividad colinesterásica (eritrocitaria y plasmática). Se considera que la actividad de la colinesterasa eritrocitaria (AChE acetilcolinesterasa) refleja de una forma más fiel que la colinesterasa plasmática (BuCh, butirilcolinesterasa) la actividad de la colinesterasa del sistema nervioso, porque en definitiva es la misma enzima, aunque localizado en otro tejido. Los principales criterios diagnósticos de una intoxicación aguda por organofosforados son:

- ✓ Historia de exposición a uno o más organofosforados
- ✓ Manifestaciones clínicas de tipo muscarínico y/o nicotínico
- ✓ Inhibición de la actividad colinesterásica sanguínea.

La coincidencia de al menos dos de tales criterios en un caso permite deducir, con una alta probabilidad, que se trata de una intoxicación aguda por OP (organofosforados). Un criterio adicional es la evolución favorable del paciente con una terapia a base de atropina y pralidoxima (dos fármacos habitualmente empleados en las intoxicaciones por organofosforados).

Otra cuestión importante es la persistencia de los signos y síntomas en una intoxicación aguda, que puede ser de varios meses, como son la visión borrosa o el dolor de cabeza, entre otros.

- **Efectos retardados**

Dentro de este apartado el aspecto más destacado lo constituye la polineuropatía de retardo inducida por organofosforados (OPIDN u OPIDP), cuyos síntomas empiezan en el hombre entre 1 y 3 semanas después de la exposición aguda (y al cabo de un periodo más incierto cuando la exposición es crónica), retraso que está relacionado con la dosis del agente tóxico y con su naturaleza química. Se trata de una

polineuropatía predominantemente motora, de tipo flácido, pero también con manifestaciones de tipo sensorial, que afecta a los músculos distales de las extremidades en grado variable, incluso tetraplejia, aunque, en general, resultan más afectadas las piernas. Distintas especies animales presentan susceptibilidades diferentes. La NTE (neurotarget esterase) del sistema nervioso sería otra molécula sobre la que incidiría el organofosforado, una vez ingresado en el organismo. La inhibición, primero, y posterior “envejecimiento”, constituyen procesos bioquímicos subyacentes a la aparición de esta polineuropatía axonal. Deben señalarse dos aspectos concretos: 1º) la inhibición de las colinesterasas y la de la NTE son procesos independientes y 2º) los resultados experimentales obtenidos no han permitido calcular el umbral de inhibición de la NTE correlacionable con la polineuropatía en el hombre.

b. EXPOSICIÓN REPETIDA O CRÓNICA:

• Efectos agudos

Los efectos agudos en la exposición repetida, tal como se ha comentado anteriormente, son consecuencia de la inhibición progresiva de la acetilcolinesterasa, que cuanto más lenta es, más tardan las manifestaciones de tipo muscarínico o nicotínico en presentarse. En consecuencia, la actividad puede haberse reducido hasta un 20 ó 30 % del valor de base (80 ó 70 % de inhibición) sin que los trabajadores manifiesten trastorno clínico alguno tras varias semanas de trabajo con una exposición moderada. Por el contrario, si la exposición es intensa y la inhibición es rápida basta con que sea del 30 % del valor de base, o incluso inferior, (manteniéndose un 70 % o más de la actividad) para desencadenar la aparición de la sintomatología descrita.

c. EXPOSICIÓN AGUDA/CRÓNICA:

• Efectos permanentes

Se ha señalado que los efectos neurológicos subclínicos son frecuentes en los sujetos expuestos a organofosforados, en ausencia de signos clínicos, e incluyen una disminución de la velocidad de conducción nerviosa sensorial y un aumento de la densidad de las fibras.

A mediados de los años 50 se empezaron a describir los efectos de los organofosforados sobre el SNC, que se manifiestan como trastornos del comportamiento (cambios neuropsiquiátricos) y/o de las funciones superiores.

Un estudio publicado en 1988 evidenció que trabajadores agrícolas con antecedentes de, al menos, una intoxicación aguda por organofosforados obtenían peores resultados que sus controles emparejados, no expuestos, en tests de capacidades muy diferentes (funciones intelectuales, habilidades intelectuales, abstracción y flexibilidad de pensamiento y habilidades motrices simples, velocidad y coordinación); el 24 % de ellos con resultados en el rango característico del daño cerebral documentado o disfunción, por sólo un 12 % de los controles con similares resultados.

Es decir, que el examen neuropsicológico de pacientes que han sufrido intoxicación aguda por organofosforados puede revelar disminuciones en distintas funciones y habilidades de tipo intelectual (capacidades de tipo cognitivo) que pasarían inadvertidas en un examen neurológico clínico. Posteriormente se ha demostrado y confirmado el descenso persistente de la funcionalidad neuropsicológica (incluyendo la atención acústica, atención verbal, memoria visual, velocidad visuomotora, secuenciación y solución de problemas, estabilidad motora, reacción, destreza) en individuos que han sufrido episodios de intoxicación aguda.

- **Efectos diversos**

Se ha comprobado que los organofosforados pueden unirse directamente con los receptores de la AChE, especialmente los muscarínicos, del cerebro (varios tipos) y más del músculo cardíaco (tipo M2, muy afín). Consecuencia de tal activación directa de los receptores M2 sería un aumento del efecto del exceso de acetilcolina, generada por estimulación vagal y acumulada por inhibición de la AChE, reduciendo aun más la contracción y frecuencia cardíacas. Lo que refuerza el papel terapéutico de la atropina por su acción protectora del tejido cardíaco, bloqueando sus receptores muscarínicos, en las primeras fases de intoxicación por organofosforados.

Se han descrito también alteraciones de tipo bioquímico, como son anomalías en los niveles de catecolaminas. En formuladores de insecticidas expuestos a organoclorados, organofosforados y carbamatos, se han hallado niveles de adrenalina significativamente más altos (alrededor de un 35 %), que favorecen la glucogenólisis hepática y los consiguientes niveles de glucemia más elevados (con ligera tendencia a la hiperglicemia), aun con similares colinesterasas, comparativamente con los controles. La exposición a organofosforados se ha relacionado de forma repetida con la aparición, en algunas personas, de una serie de trastornos, muy variables en su manifestación e intensidad, que han sido englobados bajo la denominación común de síndrome de sensibilidad química múltiple, o MCSS del inglés multiple chemical sensitivity syndrome. (<http://www.Insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentos/Fichas/NTP.pdf>)

2.2.4.5 TRATAMIENTO.

En cuanto al tratamiento se puede mencionar la clasificación que Dereslach (1984) formula: a) medidas generales y b) medidas específicas.

Entre las medidas generales se encuentran:

- Establecer vía aérea permeable
- Respiración artificial y oxígeno
- Lavado Gástrico (colocación de sonda nasogástrica)
- Administración de carbón activado
- Lavado de la piel (si es por exposición dérmica).

En cuanto a las medidas específicas, se refiere a la administración del antídoto:

- Atropina: dosis inicial de 0,5 a 2mg STAT IV, dosis de 0,5mg en 5, 10, 15 30 minutos hasta lograr la atropinización del paciente.
- Oximas: toxogonin (cloruro de obidoxima) 250mg/ml IV, repetir 20min después.

Cabe considerar que la administración de la atropina debe ser cumplida estrictamente en el horario establecido, motivado a que la interrupción brusca de la atropina puede ser seguida rápidamente por edema pulmonar o insuficiencia respiratoria, otra consideración importante es que no debe usarse como punto limite la obtención de taquicardia o miosis solamente, debido a que sus efectos sobre el sistema nervioso central son nulos.

La atropina no reactiva la enzima colinesterasa, cuando el efecto de la atropina desaparece puede presentarse un encrudecimiento del envenenamiento si la concentración de organofosforados en el tejido permanece alta.

Cabe destacar que la atropina es el antídoto ideal para las manifestaciones muscarínicas, pero no tiene acción con los síntomas nicotínicos. Por tal motivo, es necesario señalar que se debe tener seguridad en cuanto al diagnostico de intoxicación con organofosforados, pues la atropina es un compuesto tóxico y si el paciente no está intoxicado por un compuesto inhibidor de la acetilcolinesterasa,

varias dosis del compuesto pueden causar efectos perjudiciales y agravar el cuadro clínico. En las perspectivas que aquí se adoptan, es importante destacar el uso de reactivadores de la acetilcolinesterasa como las oximas, este compuesto se caracteriza porque cruza la barrera hematoencefálica y reactiva la ACh en el SNC, revierte los efectos nicotínicos de la inhibición de la ACh, por lo que debe administrarse cuando estos efectos son severos y en un período de 36 horas, después de este tiempo no se debe administrar ya que no tendría acción, sino que se uniría a la enzima que se está reactivando, ocasionando inhibición de la misma. (www.monografias.com/trabajos13/intox/inox.shtml)

2.2.4 DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA ERITROCITARIA

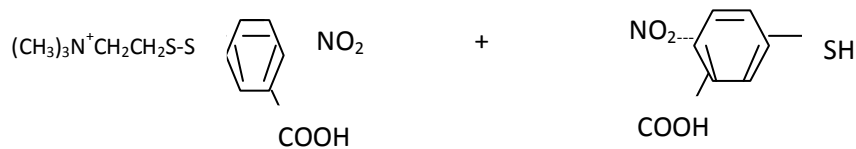
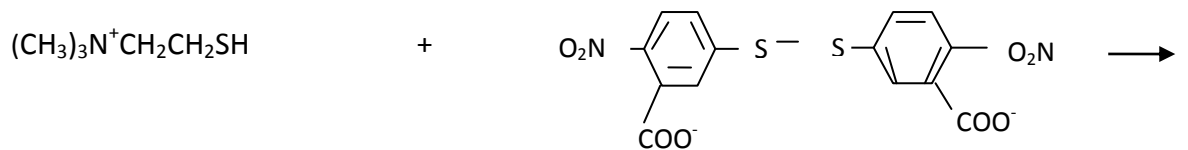
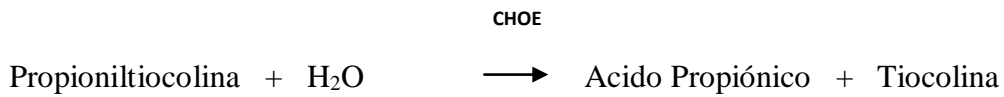
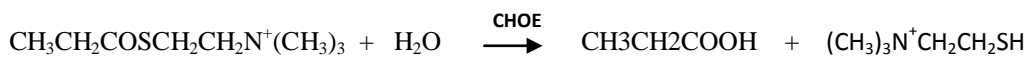
La determinación de colinesterasa se puede realizar por varios métodos como son potenciométrico, conductimétrico, por titulaciones, etc. Para este estudio se utilizará el método de Ellman que es una técnica cinética colorimétrica, en la que se empleará reactivo de la casa TECO.

Este reactivo de colinesterasa es usado para el diagnóstico invitro, en la determinación cuantitativa de colinesterasa en suero humano, plasma o sangre total.

La cuantificación de la colinesterasa del suero ha sido usada para valorar la función del hígado y para monitorear la exposición prolongada en insecticidas organosforados. Esta también es utilizada para predecir la susceptibilidad a una prolongada apnea después de la administración de succinilcolina y la investigación de la variación congénita de la encima colinesterasa.

2.2.5.1 PRINCIPIO

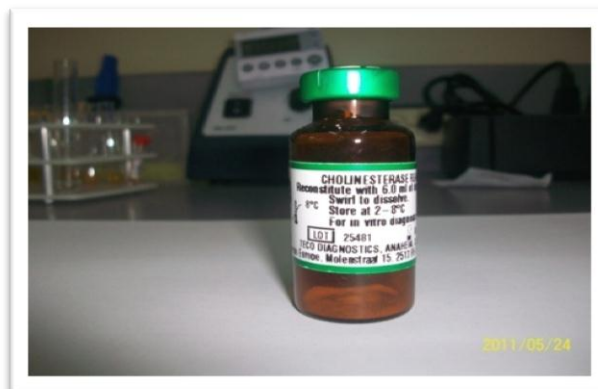
Las reacciones implicadas el ensayo para la determinación de colinesterasa son las siguientes:



La colinesterasa hidrolisa a Propioniltiocolina (PTC) en Tiocolina y ácido Propiónico que reacciona con ácido 5,5'-Ditiobis-2-Nitrobenzoico (DTNB), y produce un compuesto amarillo de 5-Tio-2-Nitrobenzoato con una absorbancia máxima a 405 nm (nanómetros) de longitud de onda. Por consiguiente el rango en el cambio de la absorbancia a 405 nm es directamente proporcional a la actividad de colinesterasa.

2.2.5.2 COMPOSICIÓN DEL REACTIVO PARA DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA

Gráfico N°5: Reactivo para determinación de colinesterasa



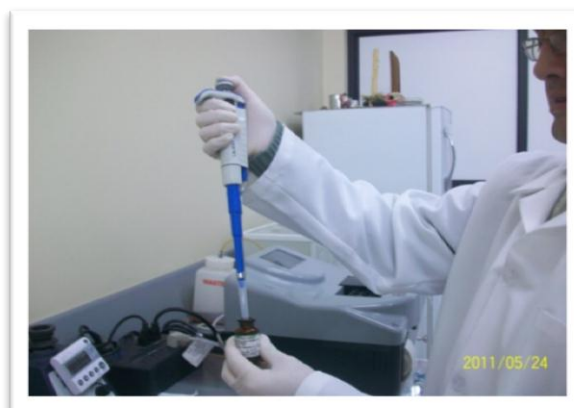
Fuente: Samaniego Carlos

El reactivo de colinesterasa Propioniltiocolina (PTC), cuando es reconstituido de acuerdo a las instrucciones, tiene los siguientes ingredientes activos en las concentraciones aproximadas que se detallan:

Propioniltiocolina 4mM (milimolar), DTNB 0.4mM, Buffer (Ph 6.5) y otros reactivos estabilizantes.

2.2.5.3 PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE COLINESTERASA

Gráfico N°6: Preparación de reactivo de colinesterasa



Fuente: Samaniego Carlos

Reconstituir el reactivo de colinesterasa con el volumen de agua desionizada indicado en el vial, en este caso con 6.0 ml, después de la adición del agua mezclar largo tiempo por inversión.

2.2.5.4 DETERIORO DEL REACTIVO

El reactivo puede estar deteriorado:

1. Si ha ingresado humedad en el vial.
2. Si al determinar la absorbancia del vial reconstituido, esta es superior a 1.2 medido frente al agua destilada a 405 nm de longitud de onda
3. Si el reactivo preparado presenta turbidez.

2.2.5.5 RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA

La actividad de colinesterasa es estable en suero sin diluir por dos semanas a temperatura de 2 a 8° C y de tres meses a -20° C. El suero debe ser separado rápidamente de la muestra. El EDTA (Acido etilen diamino tetraacético) no inhibe la actividad de colinesterasa.

La preparación de la muestra para determinar actividad de colinesterasa en sangre total es de la siguiente manera:

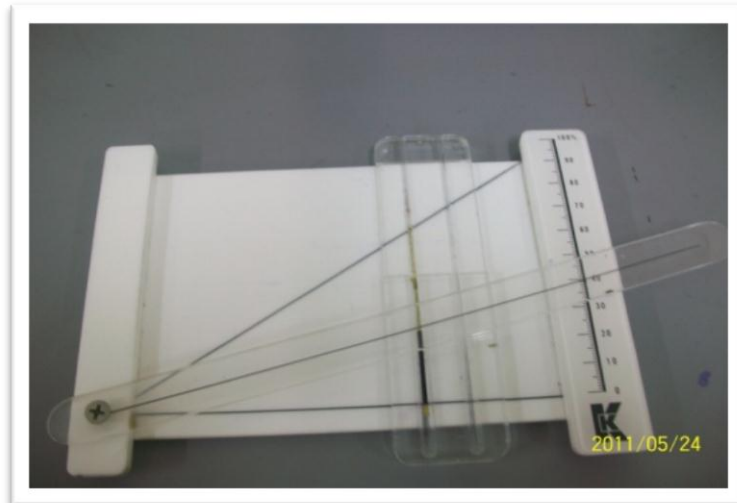
Gráfico N° 7: Toma de muestra



Fuente: Samaniego Carlos

1. Se toma la muestra de sangre en un tubo que contiene EDTA como anticoagulante, se mezcla suavemente.

Gráfico N°8: Determinación del hematocrito



Fuente: Samaniego Carlos

2. Con una alícuota de sangre se determinar el valor de hematocrito.

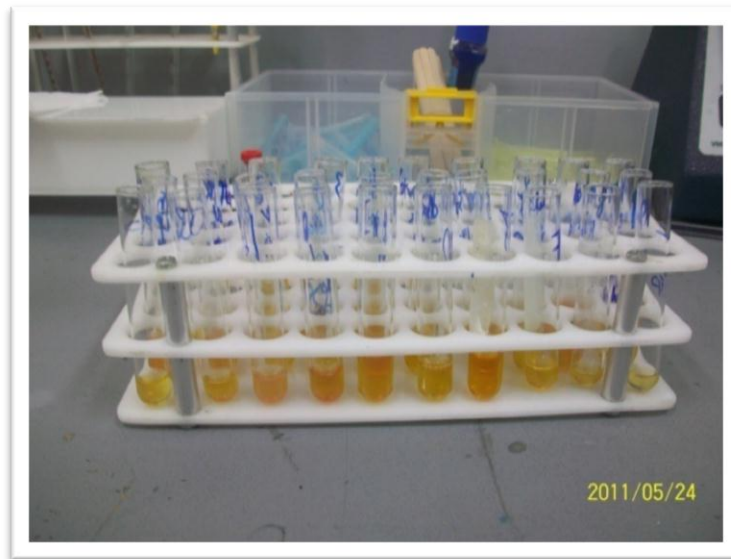
Gráfico N°9: Preparación del hemolisado para la determinación de colinesterasa



Fuente: Samaniego Carlos

3. Se prepara un hemolisado mezclando 0.1 ml de sangre con 1.9 ml de agua destilada, agitar hasta que la hemólisis sea completa.

Gráfico N° 10: Separación del plasma



Fuente: Samaniego Carlos

4. Se centrifuga el resto de sangre para obtener plasma claro.

Para determinar la colinesterasa se procede como se indica a continuación:

Gráfico N° 11: Preparación del reactivo de colinesterasa



Fuente: Samaniego Carlos

1. Se reconstituye el reactivo de acuerdo a las instrucciones indicadas anteriormente (Preparación de reactivo).

Gráfico N° 12: Reactivo listo para prueba de colinesterasa



Fuente: Samaniego Carlos

2. Se pipetea 1.0 ml de reactivo en los tubos de ensayo apropiados y equilibrar a 30°C.

Gráfico N° 13: Espectrofotómetro



Fuente: Samaniego Carlos

3. Se encera el espectrofotómetro a 405 nm de longitud de onda (λ) frente a agua destilada.

Gráfico N° 14: Adición de la muestra para determinación de colinesterasa



Fuente: Samaniego Carlos

4. Se adiciona 10 uL de muestra (suero, plasma o hemolisado) en el tubo con reactivo y mezclar.

Gráfico N° 15: Lectura de absorbancia en el espectrofotómetro



Fuente: Samaniego Carlos

5. Después de 15 segundos se lee la absorbancia (A1), pasados otros 30 segundos leer (A2).

6. Se calcula el cambio de absorbancia ΔA ($A_2 - A_1$) en 30 segundos y multiplicar el resultado por 2 para obtener el ΔA por minuto.
7. Con el cambio de absorbancia, se calcula la actividad de colinesterasa en U/L (Unidades internacionales por litro) multiplicando $\Delta A \times 7426$

2.2.5.6 CÁLCULOS

$$\text{Actividad de Colinesterasa (U/L)} = \frac{\Delta A / \text{min} \times V_T \times 1000}{13.6 \times P_L \times V_M}$$

$\Delta A / \text{min}$ = Cambio de absorbancia por minuto

V_T = Volumen total (1.01 ml)

V_M = Volumen de muestra (0,01 ml)

13.6 = Absorbancia milimolar de DTNB

P_L = Paso de luz (1 cm)

1000 = Factor de conversión de U/ml a U/L

$$\text{Actividad de Colinesterasa (U/L)} = \frac{\Delta A / \text{min} \times 1.01 \times 1000}{13.6 \times 1.0 \times 0.01}$$

$$\text{Actividad de Colinesterasa (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 7426$$

NOTA. El hemolisado se prepara con 0.1 ml de sangre y 1.9 ml de agua destilada es decir una dilución 1 en 20, por lo tanto el resultado deberá ser multiplicado por 20 para obtener la actividad de colinesterasa real.

Ejemplo: $A_1 = 0,316$
 $A_2 = 0,491$
 $A_2 - A_1 = 0,491 - 0,316 = 0,175$
 $\Delta A / \text{min} = \Delta A / 30 \text{ seg} \times 2 = 0,350$

$$\text{Actividad de Colinesterasa (U/L)} = 0,350 \times 7426 = 2599$$

2.2.5.7 ACTIVIDAD DE COLINESTERASA ERITROCITARIA

La actividad de colinesterasa eritrocitaria es calculada con los datos de la colinesterasa del plasma, la colinesterasa del hemolisado y el valor del hematocrito.

$$\text{ColH} = (\text{ColE} \times \text{Hto}) + [\text{ColP} \times (1 - \text{Hto})]$$

Col H	=	Colinesterasa del hemolisado
Col E	=	Colinesterasa Eritrocitaria
Col P	=	Colinesterasa plasmática
Hto	=	Hematocrito.

NOTA: El valor del hematocrito es expresado como el decimal equivalente.

De donde se deduce que:

$$\text{ColE} = \frac{\text{ColH} - [\text{ColP} \times (1 - \text{Hto})]}{\text{Hto}}$$

2.2.5.8 LIMITACIONES

1. Sueros extremadamente lipémicos o ictericos deben ser corridos un blanco de corrección.
2. Sueros hemolisados no deben ser utilizados.

2.2.5.9 VALORES DE REFERENCIA

Colinesterasa plasmática	3167 a 6333 U/L
Colinesterasa eritrocitaria	4300 a 10900 U/L

2.2.5.10 CUIDADOS Y PRECAUCIONES DE ACUERDO A LA TÉCNICA

El reactivo de colinesterasa es utilizado solo para diagnóstico in vitro. Se debe tomar en cuenta las normas básicas de bioseguridad en el laboratorio.

2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

ACETILCOLINA: Neurotransmisor liberado en las terminaciones nerviosas colinérgicas, ante la llegada de un impulso nervioso y que hace posible la propagación de dicho impulso a otra fibra.

ACETILCOLINESTERASA: Enzima que cataliza la hidrólisis de la acetilcolina hacia colina y ácido acético

ANTAGONISTAS: Cualquier sustancia o agente orgánico cuya acción se opone a la de otro.

ANTICOLINÉRGICO: Sustancias que actúan compitiendo con la acetilcolina por los puntos receptores de las uniones sinápticas.

ATROPINA: es una droga anticolinérgica extraída de la belladona (*Atropa belladonna*) y otras plantas de la familia Solanáceas. Es un antagonista competitivo del receptor muscarínico de acetilcolina

BIOMARCADORES:son medidas en los niveles molecular, bioquímico o celular, tanto en poblaciones naturales provenientes de hábitats contaminados, como en organismos expuestos experimentalmente a contaminantes.

BUFFER: Solución de un potencial hidrógeno indicado que amortigua los cambios bruscos de pH

CALMODULINA: Proteína ácida intracelular, es un regulador de la transducción de la señal de calcio. Actúa como receptor de Ca^{+2}

CARBAMATOS: Compuestos orgánicos derivados del ácido carbámico que se utilizan como pesticidas.

CHOE: Siglas de colinesterasa eritrocitaria.

CL50: Concentración letal media. Es la concentración en aire (mg/L) que en una exposición de 4 horas causa la muerte del 50% de los animales en estudio.

COLINÉRGICO: perteneciente a las fibras nerviosas que elaboran acetilcolina en las sinapsis, tienen tendencia a transmitir, estimular o ser estimuladas mediante la elaboración de acetilcolina.

CUANTO: Es el contenido de acetilcolina que hay en una vesícula presináptica, que almacena entre 5000 y 10000 moléculas.

DL50: Dosis letal media. Es la concentración a la cual mueren el 50% de los animales en estudio.

ESTERASAS: Enzima que desdobla los ésteres.

MUSCARÍNICO: Que produce efectos parecidos al de la muscarina que es un alcaloide que se obtiene del hongo *Amanita muscaria*.

NICOTÍNICO: Que produce efectos parecidos a los de la nicotina que es un alcaloide que se obtiene de la planta *Nicotinum tabacum*.

ORGANOFOSFORADOS: Compuestos orgánicos derivados del ácido fosfórico o tiofosfórico y se utiliza como pesticida, son de acción muy tóxica.

PERICARIONES: Parte de las neuronas que generalmente transmiten impulsos hacia el cuerpo celular.

PRESINÀPTICA: Próximo a la hendidura sináptica desde donde se origina el impulso.

OPIDN u OPIDP: Polineuropatía de retardo inducido por organofosforados.

NTE: (Neurotargetesterase): molécula del sistema nervioso sobre la que incide el organofosforado.

POSTSINÁPTICA: Correspondiente a la célula que recibe el impulso a través de la hendidura sináptica.

SARIN: Compuesto órgano fosforado desarrollado como arma química, esta clasificado como gas nervioso ya que sus efectos son mas potentes que los de un pesticida organofosforado.

SINAPSIS: Región que rodea el punto de contacto entre dos neuronas o entre una neurona y un órgano efector.

TOXICOCINÉTICA: Es el transito del toxico por el organismo, que incluye absorción, distribución, localización y eliminación.

TOXICODINÁMICA: Describe y estudia los mecanismos mediante los cuales una sustancia afecta a un ser vivo.

XENOBIÓTICO: Cualquier compuesto o sustancia extraña al organismo.

2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.4.1 HIPÓTESIS

Los niveles de colinesterasa eritrocitaria disminuyen en los trabajadores de la florícola Flor de Azama expuestos a pesticidas organofosforados

2.4.2 VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE

Exposición a insecticidas organofosforados

VARIABLE DEPENDIENTE

Niveles de colinesterasa eritrocitaria en los trabajadores de la Finca Flor de Azama.

2.5.1 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla N° 3: Operacionalización de variables.

VARIABLES	CONCEPTO	CATEGORÍA	INDICADORES	TÉCNICAS
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Exposición a insecticidas organofosforados</p>	<p>Trabajar con insecticidas organofosforados, sin protección que evite que los pesticidas ingresen al organismo</p>	<p>Intoxicación sistémica, aguda o crónica</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vómitos • Calambres • Secreción salival • Miosis • Temblores • Cefaleas, etc. 	<p>Observación</p> <p>Guía de observación</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Niveles de Colinesterasa eritrocitaria en los trabajadores de la Finca Flor de Azama</p>	<p>La cuantificación de los niveles de colinesterasa eritrocitaria realizada a los trabajadores en las diferentes etapas</p>	<p>Método Cinético Cuantitativo</p>	<p>Disminución de los niveles de colinesterasa de los trabajadores</p>	<p>Observación</p>

Fuente: Samaniego Carlos

CAPÍTULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 MÉTODO

El método a utilizarse es el método científico Deductivo – Inductivo, con procedimiento analítico sistemático

TIPO DE INVESTIGACIÓN

DESCRIPTIVA: Porque narra situaciones o sucesos, detalla como es y como se comporta el fenómeno caracterizando el problema e indicando sus rasgos más importantes, los datos obtenidos se procede a analizar para derivar en conclusiones significativas. Además se investiga hechos o sucesos ya producidos, y lo que se manipula son los métodos de observación, de descripción y el modo de analizar las relaciones encontradas.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

De campo cuasi-experimental ya que se analizan las relaciones causa efecto pero en circunstancias en que no es posible el control riguroso de todos los factores que intervienen en el estudio

TIPO DE ESTUDIO

Longitudinal

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 POBLACIÓN

Se hará la investigación en los trabajadores de la Florícola Flor de Azama, que en su mayoría son habitantes de la zona muchos de ellos de bajos recursos económicos y con nivel cultural relativamente bajo.

3.2.2 MUESTRA

El estudio se realizara con 31 trabajadores de La Finca Florícola Flor de Azama. De ellos, 21 recién se integran al área de fumigación, 7 salen de la misma, y 3 personas de bodega que permanecen allí indefinidamente, repitiendo la toma de muestra para su análisis una vez por mes durante los tres meses de permanencia endicha área, lo que da un total de 93 muestras analizadas.

3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1 OBSERVACIÓN: La técnica será la observación para lo que se utilizará como instrumento la guía de observación.

3.4 TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.4.1 TÉCNICASESTADÍSTICAS:

Para el procesamiento de la información usaremos el paquete Excel que permite obtener resultados, desarrollar cuadros y gráficos del tema.

3.4.2 TÉCNICAS LÓGICAS

Para la interpretación de los resultados se va a utilizar el análisis.

3.4.3 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

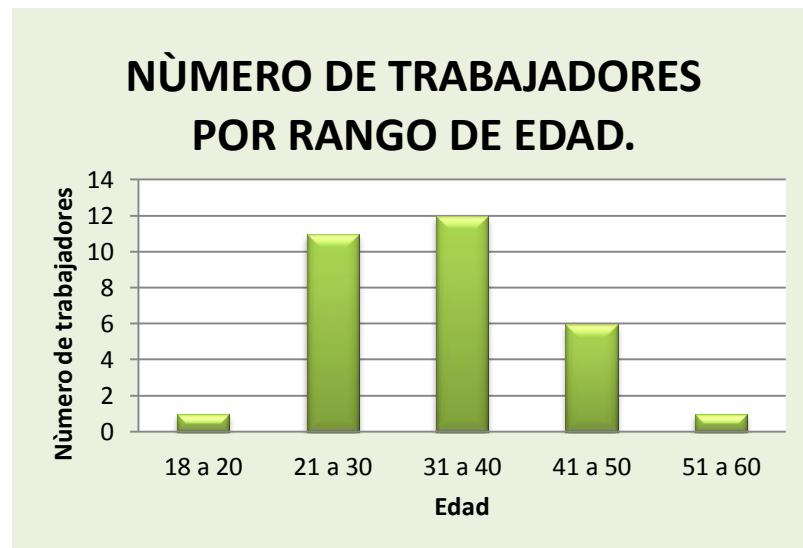
NÚMERO DE TRABAJADORES POR RANGO DE EDAD

Tabla N° 4: Número de trabajadores por rango de edad.

EDAD (Años)	Nº TRABAJADORES
18 a 20	1
21 a 30	11
31 a 40	12
41 a 50	6
51 a 60	1

Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 16: Número de trabajadores por edad.



Fuente: Samaniego Carlos

El estudio se hace con 31 trabajadores, comprendidos en cinco rangos de edad, de los cuales la mayoría están entre los 21-30 y 31-40 años.

VARIACIÓN DE LOS NIVELES DE COLINESTERASA DURANTE TRES MESES DE ESTUDIO (MARZO, ABRIL Y MAYO) EN 21 TRABAJADORES QUE INGRESAN AL ÁREA DE FUMIGACIÓN.

Tabla N° 5: Variación de los niveles de colinesterasa durante tres meses de estudio (marzo, abril y mayo) en los trabajadores que ingresan al área de fumigación.

PACIENTE	EDAD	1ra MUESTRA (Marzo)	2da MUESTRA (Abril)	3ra MUESTRA (Mayo)
1	32	6860	5680	5320
2	43	6540	5580	5960
3	40	6740	6160	5460
4	49	6380	6297	5760
5	30	7680	4520	5120
6	42	6720	6160	7480
7	20	6680	4520	5360
8	32	6400	5360	4760
9	52	6380	5260	5380
10	48	6920	6020	5200
11	35	7360	6520	5620
12	26	6160	5200	5280
13	29	6320	5360	4890
14	40	7480	7980	5140
15	27	5740	5490	4900
16	31	7920	7320	5760
17	21	5840	5780	5620
18	50	6060	6580	6500
19	28	6820	5840	5140
20	21	6380	6080	5680
21	46	6500	5060	5000

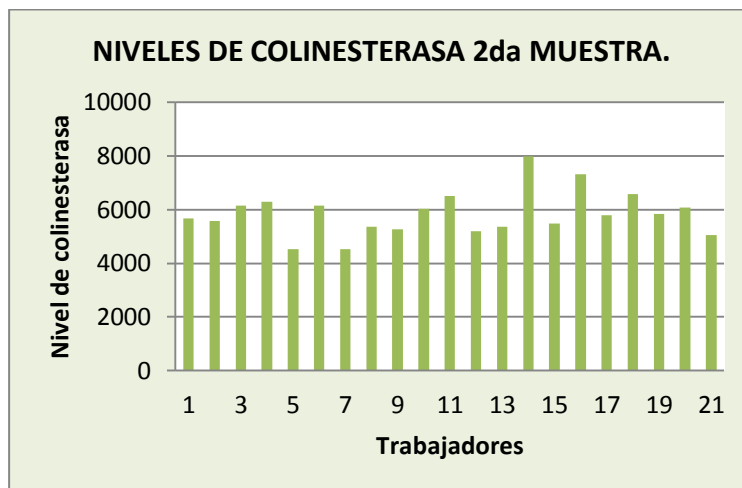
Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 17: Niveles de colinesterasa 1ra Muestra.



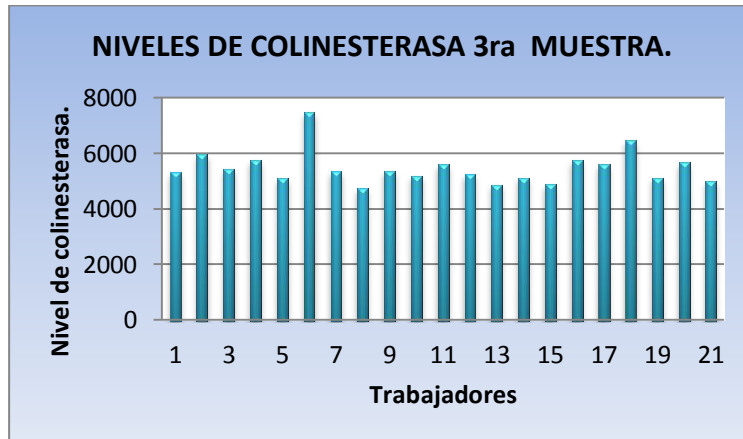
Fuente: Samaniego Carlos.

Gráfico N° 18: Niveles de colinesterasa 2da Muestra.



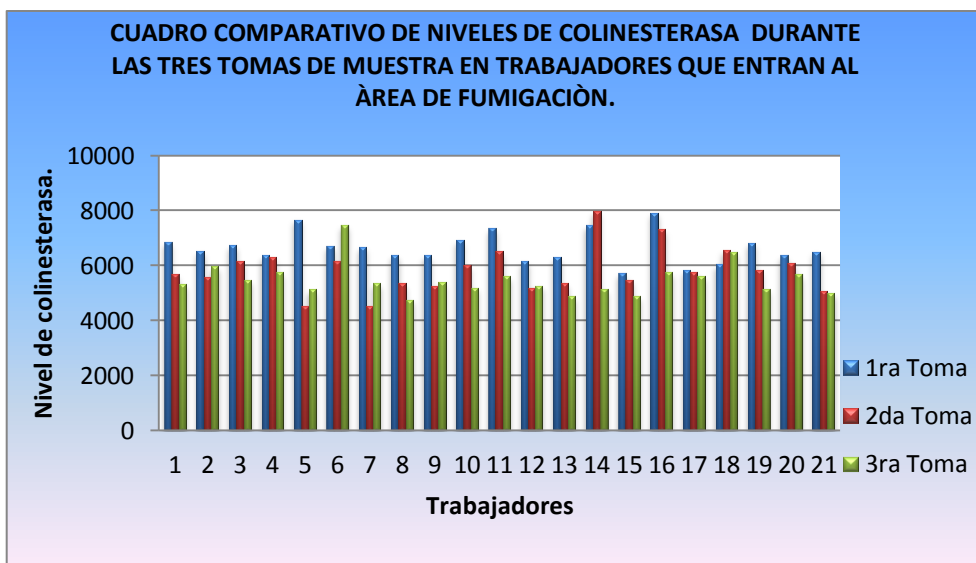
Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 19: Niveles de colinesterasa 3ra Muestra.



Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 20: Comparación de los niveles de colinesterasa en las tres tomas de muestra de trabajadores que entran al área de fumigación.



Fuente: Samaniego Carlos

De los 21 trabajadores que ingresan al área de fumigación, se puede apreciar como en la mayoría de ellos existe una disminución de los niveles de colinesterasa eritrocitaria conforme pasa el tiempo de exposición a los pesticidas.

PROMEDIO DE LOS NIVELES DE COLINESTERASA DE LAS TRES TOMAS DE MUESTRA (MARZO, ABRIL Y MAYO) EN 21 TRABAJADORES QUE ENTRAN AL ÁREA DE FUMIGACIÓN.

Tabla N° 6: Promedio de los niveles de colinesterasa de las tres tomas de muestra (marzo, abril y mayo) en trabajadores que entran al área de fumigación

MUESTRA	PROMEDIO DEL NIVEL DE COLINESTERASA
1ra Muestra	6661
2da Muestra	5846
3ra Muestra	5254

Fuente: Samaniego Carlos

Promedio: $X = \sum Xi/n$

Gráfico N° 21: Promedio de los niveles de colinesterasa de las tres tomas de muestra en trabajadores que entran al área de fumigación



Fuente: Samaniego Carlos

Utilizando la media aritmética en cada toma de muestra, se aprecia la disminución de los niveles de colinesterasa conforme pasa el tiempo, empezando con un valor en el primer mes de 6661 U/L, en el segundo de 5846 U/L y por

último de 5254 U/L, lo que corresponde a una disminución del 12.23% y del 21.12% respectivamente.

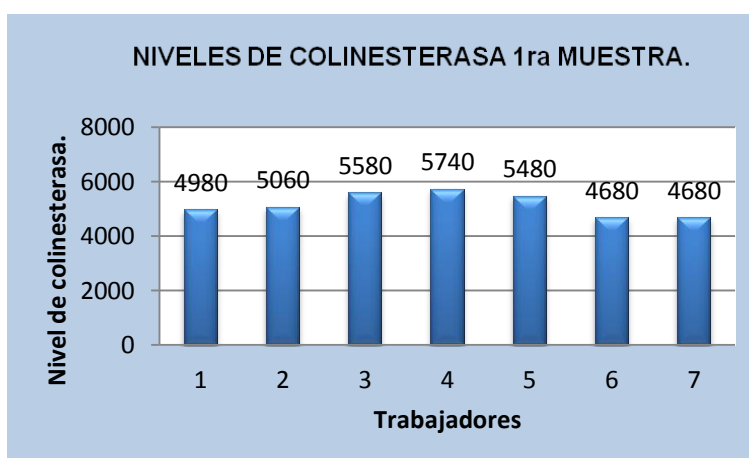
VARIACIÓN DE LOS NIVELES DE COLINESTERASA DURANTE TRES MESES DE ESTUDIO (MARZO, ABRIL Y MAYO) EN 7 TRABAJADORES QUE SALEN DEL ÁREA DE FUMIGACIÓN.

Tabla N° 7: Variación de los niveles de colinesterasa durante tres meses de estudio en los trabajadores que salen del área de fumigación.

TRABAJADOR	EDAD	1ra MUESTRA (Marzo)	2da MUESTRA (Abril)	3ra MUESTRA (Mayo)
1	24	4980	5400	5440
2	27	5060	6300	7280
3	33	5580	6380	5220
4	29	5740	5520	6860
5	35	5480	6060	7040
6	35	4680	5220	7340
7	40	4680	5920	7426

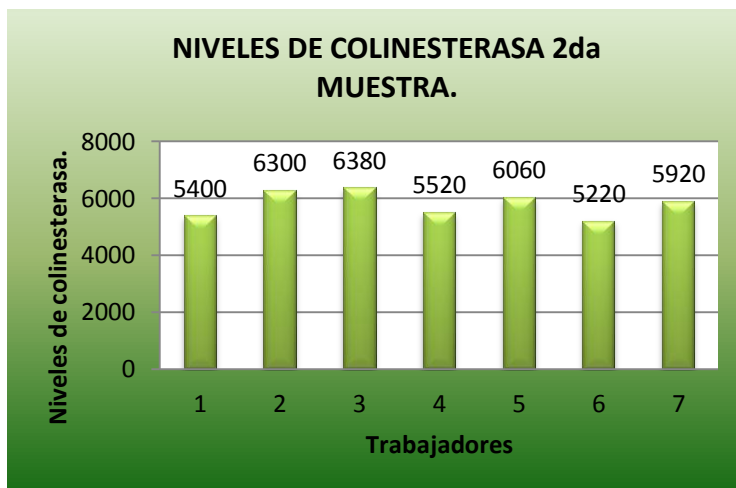
Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 22: Niveles de colinesterasa 1ra muestra de los trabajadores que salen del área de fumigación.



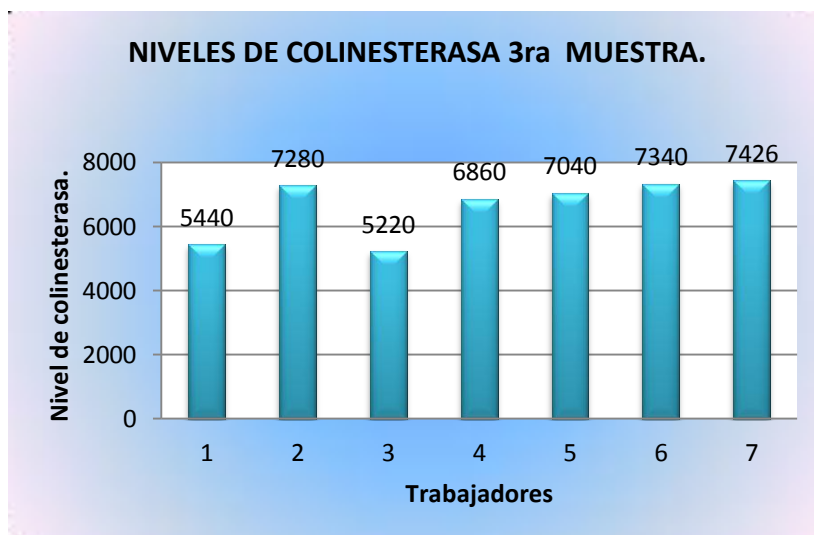
Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 23: Niveles de colinesterasa 2da muestra de los trabajadores que salen del área de fumigación.



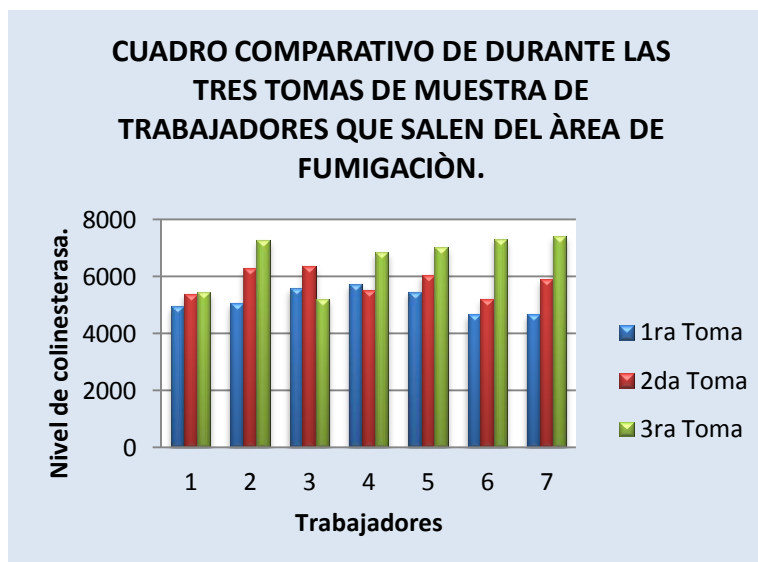
Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 24: Niveles de colinesterasa 3ra muestra de los trabajadores que salen del área de fumigación.



Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 25: Comparación de las tres tomas de muestra en trabajadores que salen del área de fumigación.



Fuente: Samaniego Carlos

Nótese que en los 7 trabajadores que salen del área de fumigación, aumenta gradualmente los niveles de colinesterasa eritrocitaria de acuerdo pasa el tiempo sin exposición a compuestos organofosforados.

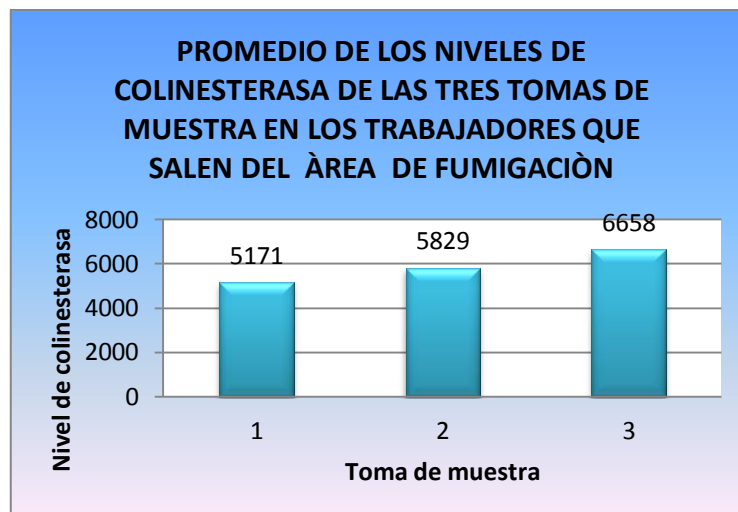
PROMEDIO DE LOS NIVELES DE COLINESTERASA DE LAS TRES TOMAS DE MUESTRA (MARZO, ABRIL Y MAYO) EN 7 TRABAJADORES QUE SALEN DEL ÁREA DE FUMIGACIÓN

Tabla N° 8: Promedio de los niveles de colinesterasa de las tres tomas de muestra en trabajadores que salen del área de fumigación

MUESTRA	NIVELES DE COLINESTERASA
1ra Muestra	5171
2da Muestra	5829
3ra Muestra	6658

Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 26: Promedio de los niveles de colinesterasa de las tres tomas de muestra en trabajadores que salen del área de fumigación



Fuente: Samaniego Carlos

Al igual que en el gráfico N°20, utilizando la media aritmética de cada toma se observa el aumento de los valores de colinesterasa empezando con 5171 U/L en el primer mes, 5829 U/L en el segundo y por último 6658 U/L al tercer mes, lo que corresponde a un aumento del 12.72% y del 28.75% respectivamente

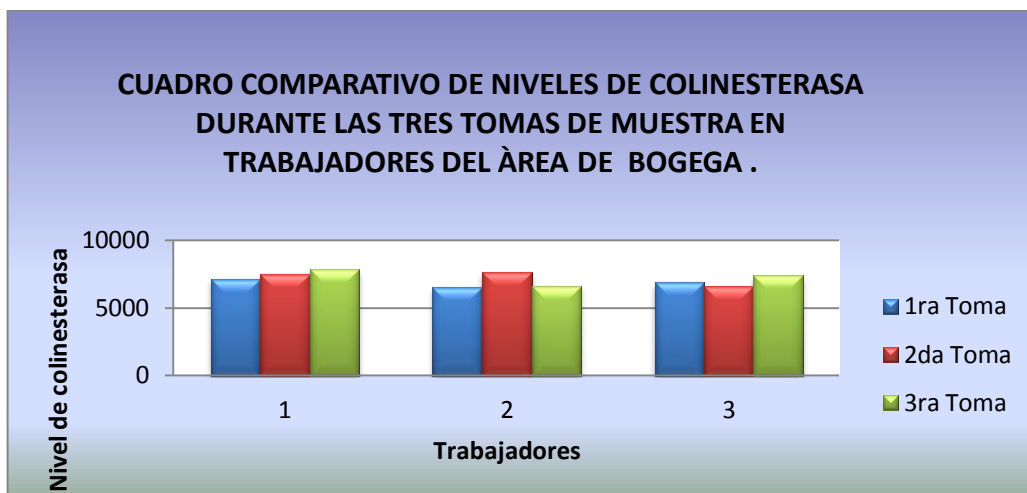
VARIACIÓN DE LOS NIVELES DE COLINESTERASA DURANTE TRES MESES DE ESTUDIO (MARZO, ABRIL Y MAYO) EN 3 TRABAJADORES PERMANENTES DEL ÁREA DE BODEGA.

Tabla N° 9: Variación de los niveles de colinesterasa durante tres meses de estudio en los trabajadores del área de bodega.

TRABAJADOR	EDAD	1ra MUESTRA (Marzo)	2da MUESTRA (Abril)	3ra MUESTRA (Mayo)
1	27	7146	6520	6920
2	35	7542	7620	6560
3	31	7866	6640	7380

Fuente: Samaniego Carlos

Gráfico N° 27: Comparación de de los niveles de colinesterasa durante tres meses de estudio en los trabajadores del área de bodega.



Fuente: Samaniego Carlos

En los 3 trabajadores del de bodega, a pesar de que ellos están permanentemente en esa área, no existe una mayor variación de los niveles de colinesterasa, puesto que la exposición a los pesticidas es menos directa.

CAPÍTULO IV

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- Se ha conseguido entender el mecanismo de acción de la acetilcolina y la inactivación de la misma por medio de la enzima colinesterasa, para comprender la fisiología de la transmisión del impulso nervioso hacia la fibra muscular.
- Analizando los gráficos 20 y 21, se puede concluir que en trabajadores que ingresan al área de fumigación, los niveles de colinesterasa disminuyen de acuerdo al tiempo de exposición a los pesticidas organofosforados.
- En los pacientes que salen del área de fumigación se puede concluir que incrementan los niveles de colinesterasa a medida que transcurre el tiempo sin exposición a pesticidas organofosforados, como se aprecia en los gráficos 25 y 26.
- La relación que existe entre el tiempo de exposición a compuestos organofosforados y los niveles de colinesterasa es inversamente proporcional, a mayor tiempo de exposición, menores niveles de colinesterasa y viceversa.
- Se ha logrado determinar los signos y síntomas que presenta una persona que ha estado en contacto con pesticidas organofosforados, con los que se puede sospechar de una intoxicación por dichos compuestos, cuyo diagnóstico deberá ser confirmado con la determinación de los niveles de colinesterasa eritrocitaria.
- Se empleó el método de Ellman para determinar los niveles de colinesterasa de los trabajadores del área de fumigación de la Finca Florícola Flor de Azama, y se determinó que es una técnica cuantitativa,

rápida y sencilla para determinar si existe o no una contaminación por compuestos organofosforados.

4.2 RECOMENDACIONES

- Todas las personas que tienen contacto con compuestos organofosforados deben utilizar equipo de protección adecuado para evitar la contaminación por este tipo de compuestos.
- Las empresas agrícolas en general, deben proporcionar a todos sus empleados equipo de protección adecuado, a mas de impartir charlas sobre higiene y salud ocupacional.
- También se debe controlar que los trabajadores utilicen de forma adecuada el equipo de protección que se les ha entregado.
- Se debe hacer controles periódicos a los trabajadores que están en contacto con compuestos organofosforados como prevención de accidentes laborales además de cualquier persona que presente signos o síntomas de contaminación.
- Los valores de referencia para niveles de colinesterasa presentados en las diferentes técnicas desgraciadamente no corresponden a nuestra realidad nacional, por lo que sería de gran importancia realizar un estudio para determinar valores referenciales de acuerdo a nuestras condiciones de vida.

BIBLIOGRAFIA

1. ANGEL Gilberto y ANGEL Mauricio , Interpretación Clínica del Laboratorio, Editorial Panamericana, 7ma edición, Bogotá 2006
2. CALABRESE A. y ASTOLFI E: Toxicología, Editorial Kapeluz, Buenos Aires 1982
3. Diccionario de Medicina Océano Mosby, Editorial Océano, España, 2005
4. GUYTON A, HALL J, Tratado de Fisiología Médica, Editorial Elsevier, Decimoprimer edición, España 2009
5. <http://www.anestesianet.com/unal/rnm.htm>
6. http://www.biopsicologia.net/fichas/page_86.html
7. <http://www.estrucplan.com.ar/producciones/toxicologia16.asp>
8. <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/acetilcolina.htm>
9. <http://www.Ini.wa.gov/Spanish/Safety/Topics/Atoz/Cholinestrase/Providers.asp>
10. http://www.Insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentos/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/501a600/ntp_513.pdf
11. <http://www.monografias.com/trabajos13/intox/inox.shtml>

ANEXOS

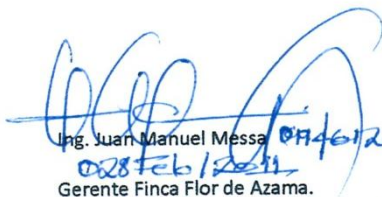
FINCA FLOR DE AZAMA

Otavalo, 28 de Febrero de 2011

A Petición verbal de parte interesada, CERTIFICO Que el señor Luis Carlos Samaniego Parra, A solicitado permiso para realizar el estudio para la realización de su tesis de grado previo la obtención del título de Licenciado en Laboratorio Clínico e Histopatológico, en nuestra finca, misma que ha sido aceptada y se brindara las facilidades para la realización de dicho trabajo.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, pudiendo el interesado hacer uso del presente documento cuando lo considere necesario.

Atentamente


Ing. Juan Manuel Mesa
028 FEB / 2011
Gerente Finca Flor de Azama.

Telf. (06)2915797

ACUERDO SEGUN CONDICIONES
TECNICAS Y DE COSTO ACORDADAS
EN EL DPTO MEDICO DE LA EMPRESA



Azama 04 de Julio-2011

CERTIFICADO

Falconfarms de Ecuador S.A. Finca Flor de Azama, extiende el presente certificado al señor **SAMANIEGO PARRA LUIS CARLOS con C.I. 060296003-1** como constancia de haber realizado un estudio de acetilcolinesterasa al grupo de fumigadores, en el período comprendido desde marzo a mayo -2011, como Proyecto de Tesis.

El interesado puede dar uso de l presente para los fines que crea conveniente.

Atentamente

Sra. Wilma Ruiz G.
JEFE DE RECURSOS HUMANOS
FINCA FLOR DE AZAMA

Sebastián Quintero N37-58 y José Correa • Quito - Ecuador
Telefax: (593-2) 2461751 / 2249178 • E-mail: falconecu@andinanet.net
Finca Camila: Telf.: (593-2) 2365630 • Fax: 2365782 • Tabacundo - Ecuador
Finca Flor de Azama: Telf.: (593-6) 916509 / 916511 • Fax: 916510 • Azama - Ecuador



INGRESO FINCA FLOR DE AZAMA



PERSONAL DE LA FINCA FLOR DE AZAMA.



TRABAJADORES EN EL ÁREA DE PODA



INVERNADERO DE ROSAS



EQUIPO DE PROTECCIÓN PARA LABORES DE FUMIGACIÓN



EQUIPO DE TRABAJO FUERA DEL ÁREA DE FUMIGACIÓN.



INGRESO A INVERNADEROS