



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“MEDIDORES BIOQUÍMICOS PARA INTOXICACIÓN EN
AGRICULTORES EXPUESTOS A ORGANOFOSFORADOS EN LA
PARROQUIA SAN MIGUELITO DEL CANTÓN PÍLLARO”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

Autora: Yánez Toapanta, Paulina del Carmen

Tutor: Dr. Vailati López, Juan Pablo

Ambato- Ecuador

Enero 2020

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutor del proyecto de investigación sobre el tema “MEDIDORES BIOQUÍMICOS PARA INTOXICACIÓN EN AGRICULTORES EXPUESTOS A ORGANOFOSFORADOS EN LA PARROQUIA SAN MIGUELITO DEL CANTÓN PÍLLARO” de Paulina del Carmen Yánez Toapanta, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometida a la evaluación del jurado examinador designado por el Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato. Octubre del 2019

EL TUTOR

.....
Dr. Vailati López Juan Pablo

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Informe de Investigación “MEDIDORES BIOQUÍMICOS PARA INTOXICACIÓN EN AGRICULTORES EXPUESTOS A ORGANOFOSFORADOS EN LA PARROQUIA SAN MIGUELITO DEL CANTÓN PÍLLARO”, como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autora de este trabajo de grado.

Ambato, Octubre del 2019

LA AUTORA

.....
Yánez Toapanta, Paulina del Carmen

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis parte de ella un documento disponible para la lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimonial de mi tesis con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de esta tesis, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Octubre del 2019

LA AUTORA

.....
Yánez Toapanta, Paulina del Carmen

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación sobre el tema “MEDIDORES BIOQUÍMICOS PARA INTOXICACIÓN EN AGRICULTORES EXPUESTOS A ORGANOFOSFORADOS EN LA PARROQUIA SAN MIGUELITO DEL CANTÓN PÍLLARO” de Yánez Toapanta Paulina del Carmen estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Enero del 2020

Para constancia firman:

.....

PRESIDENTE/A

.....

1ER VOCAL

.....

2DO VOCAL

DEDICATORIA

Todo el esfuerzo plasmado en este trabajo quiero dedicarlo a Dios por regalarme el don de la vida y la sabiduría necesaria para alcanzar esta meta, a mis padres Julio y Olga quienes han sido los pilares fundamentales en mi vida y en todo el proceso de mi formación académica. A mi hermana Evelyn por todo el cariño que me brinda en cada momento, a mi esposo Héctor por el apoyo y el amor incondicional que me ha brindado durante todo este proceso y a una persona aún más importante en vida, a mi hijo Alan Jalieth por ser motor que me ha movido a seguir día tras día y por ser la motivación de seguir adelante en cada momento y por quien he superado cada momento difícil hasta alcanzar este objetivo

Yáñez Toapanta, Paulina del Carmen

AGRADECIMIENTO

Todo este trabajo necesitó de mucho esfuerzo y dedicación y en estas líneas quiero agradecer en primer lugar a Dios y al Príncipe San Miguel por regalarme cada día la vida para continuar con mis sueños, por bendecirme en cada momento y en todo lugar y por haberme permitido llegar hasta este momento de mi vida.

Un agradecimiento muy sincero a mis padres que con su trabajo y esfuerzo pudieron brindarme una formación académica y por cada uno de sus consejos, sus palabras de aliento cuando más las necesitaba, infinitas gracias porque sin ustedes nada de esto hubiera sido posible y todo lo alcanzado se los debo a ustedes.

A mi hermana por su compañía en las noches que tenía que quedarme estudiando y porque supo ayudarme cuando más lo necesitaba.

A mi esposo por el amor puro y sincero que siempre me ha motivado a seguir adelante.

A mi hermoso hijo que con sus ojitos me transmitía su amor y su apoyo y porque supo acompañarme durante mis estudios.

A mi familia, mis tíos, mis primos por sus palabras de motivación siempre en cada momento.

A mis docentes que cada día dejaron lo mejor de cada uno de ellos en las aulas de clases y porque en muchas ocasiones tuvieron que salir de su rol de maestros y brindarme su apoyo como amigos.

A mi tutor Dr. Juan Pablo Vailati por haberme guiado con sus conocimientos y haberme permitido terminar con este proyecto.

A la Ing. Carmen Viteri por su apoyo incondicional durante la realización de este proyecto.

Al Ing. Danees Bustillos (ESPEL) por compartirme parte de sus valiosos conocimientos

Y sin dejar pasar por alto un agradecimiento fraterno a todos mis amigos porque compartimos buenos y malos momentos y supimos levantarnos en cada batalla, y recorrer juntos toda esta maravillosa carrera, gracias por haberme enseñado que la vida es mejor con amigos y aún más cuando encontré personas tan maravillosas como ustedes.

Un agradecimiento a la Universidad Técnica de Ambato y a la Carrera de Laboratorio Clínico por haberme permitido formar parte de tan noble carrera e institución.

Mi agradecimiento quedará guardado por siempre en mi corazón.

Yáñez Toapanta, Paulina del Carmen

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO.....	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	ix
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	3
1.1 Antecedentes investigativos	3
1.2 Objetivos.....	11
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA	13
2.1 Materiales, Equipo y Reactivos	13
2.1.1 Materiales para la extracción de sangre venosa periférica	13
2.1.2 Equipos y materiales para procesamiento de muestras	13
2.1.3 Reactivos.....	14
2.2 Método.....	14
2.2.1 Nivel o tipo de investigación	14
2.2.2 Población	15
2.2.3 Criterios de inclusión:.....	15
2.2.4 Criterios de exclusión:	15
2.2.5 Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de información.....	15
2.2.5.1 Pasos de la investigación	15
2.2.5.2 Procedimiento de venopunción	16
2.2.5.3 Procedimiento de análisis de muestras.	17
2.2.5.4 Análisis estadístico:	18
2.2.6 Aspectos éticos.....	18
2.2.6.1 Autonomía del paciente	18
2.2.6.2 Aprobación del Comité de Bioética	18
2.2.6.3 Consentimiento informado.....	18
CAPÍTULO III.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20

3.1 Análisis y discusión de los resultados	20
3.1.2 Discusión	30
3.2 Hipótesis	33
3.2.1 Hipótesis nula.....	33
3.2.2 Hipótesis alternativa	33
3.2.3 Verificación de la hipótesis.....	33
CAPÍTULO IV	35
4.- Conclusiones y Recomendaciones.....	35
4.1 Conclusiones	35
4.2 Recomendaciones.....	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	37
Bibliografía.....	37
ANEXOS.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Caracterización demográfica por edad.....	20
TABLA 2. Distribución demográfica por el sexo.	21
TABLA 3. Medición de la concentración de la enzima acetilcolinesterasa	21
TABLA 4. medidores de la función hepática	22
TABLA 5. Nivel de instrucción educativa de los agricultores	23
TABLA 6. Tiempo de exposición en horas semanales los agricultores se exponen a organofosforados.....	24
TABLA 7. Uso de equipo de protección personal para realizar actividades de fumigación.	25
TABLA 8. Tabla cruzada de relación entre el nivel de instrucción educativa y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.	25
TABLA 9. Tabla cruzada de relación entre el tiempo de exposición en horas por semana y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.	27
TABLA 10. Tabla cruzada de la relación entre el uso de equipo de bioseguridad y la alteración de los nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.	29

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Relación entre el nivel de instrucción educativa y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.	26
GRÁFICO 2. Relación entre el tiempo de exposición en horas por semana y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.	28
GRÁFICO 3. Relación entre el tiempo de exposición en horas por semana y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.	30

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**“MEDIDORES BIOQUÍMICOS PARA INTOXICACIÓN EN
AGRICULTORES EXPUESTOS A ORGANOFOSFORADOS EN LA
PARROQUIA SAN MIGUELITO DEL CANTÓN PÍLLARO”**

Autor: Yánez Toapanta, Paulina del Carmen

Tutor: Dr. Vailati López, Juan Pablo

Fecha: Octubre del 2019

RESUMEN

La agricultura es una de las actividades económicas que se desarrollan en el Ecuador, en la cual se posiciona a un elevado número de personas que trabajan diariamente en la siembra y conservación de cultivos, de esta manera para el desarrollo de dichas actividades se utilizan plaguicidas de una forma libre para el control de plagas, en este mismo contexto es evidente la disminución de la actividad colinérgica por la exposición permanente a plaguicidas que son por lo general del tipo organofosforados y que han repercutido en la salud de los trabajadores agrícolas. La población de interés para este estudio es la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro, considerado un territorio altamente agrícola dedicado en gran parte al cultivo de papa y otros tubérculos, para esta investigación se ha seleccionado una muestra de 40 participantes compuesta entre hombres y mujeres pertenecientes a una asociación agrícola que mantienen contacto directo con plaguicidas de tipo organofosforados que ocasionan una disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa y alteraciones adversas en la función hepática. La presente investigación establece determinaciones espectrofotométricas en la sangre referente a los niveles de concentración de la enzima acetilcolinesterasa y de marcadores de la función hepática en cada uno de los participantes y a su vez relaciona estas alteraciones con

factores principales de riesgo como: el nivel de educación de los agricultores, el tiempo de exposición en horas por semana y el uso adecuado de un equipo de protección personal. Los resultados evidencian la presencia de 12 agricultores que muestran disminución en la concentración de la enzima que corresponden al 30% de la muestra en estudio, igualmente en los valores obtenidos del perfil hepático, no se pudo evidenciar alteraciones que indiquen una posible hepatotoxicidad, así mismo con el cruzamiento de tablas para cada una de las variables de interés con la ayuda de una prueba de Chi Cuadrado de Pearson entre la relación directa de los factores de riesgo y la disminución de la enzima, se concluye que existe relación estadística significativa entre ellas.

PALABRAS CLAVES: AGRICULTURA, PLAGUICIDAS, ORGANOFOSFORADOS, ACETILCOLINESTERASA, HEPATOTOXICIDAD

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO

FACULTY OF HEALTH SCIENCES

CLINICAL LABORATORY CAREER

“BIOCHEMICAL METERS FOR INTOXICATION IN FARMERS EXPOSED TO ORGANOPHOSPHORATED IN SAN MIGUELITO PARISH OF THE PÍLLARO CANTON”

Author: Yánez Toapanta, Paulina del Carmen

Tutor: Dr. Vailati López, Juan Pablo

Date: October of 2019

ABSTRACT

Agriculture is one of the economic activities that take place in Ecuador, in which a large number of people who work daily in the planting and conservation of crops are positioned, in this way for the development of these activities pesticides are used. a free form for the control of plagues, in this same context the decrease of the cholinergic activity is evident by the permanent exposure to pesticides that are generally of the organophosphorus type and that have impacted on the health of the agricultural workers. The population of interest for this study is the San Miguelito parish of the Píllaro canton, considered a highly agricultural territory largely devoted to the cultivation of potatoes and other tubers, for this research a sample of 40 participants has been selected composed of men and women belonging to an agricultural association that maintains direct contact with organophosphorus-type pesticides that cause a decrease in the concentration of the enzyme acetylcholinesterase and adverse liver function alterations. The present investigation establishes spectrophotometric determinations in the blood regarding the levels of concentration of the enzyme acetylcholinesterase and markers of liver function in each of the participants and in turn relates these alterations to main risk factors such as: the level of education of farmers, exposure time in hours per week and proper use of personal protective equipment. The results show the presence of 12 farmers who

show a decrease in the concentration of the enzyme corresponding to 30% of the sample under study, also in the values obtained from the liver profile, it was not possible to show alterations that indicate a possible hepatotoxicity, likewise With the crossing of tables for each of the variables of interest with the help of a Pearson Chi Square test between the direct relationship of the risk factors and the decrease in the enzyme, it is concluded that there is a significant statistical relationship between them.

KEY WORDS: AGRICULTURE, PESTICIDES, ORPHANOPHOSPHORATED, ACETILCOLINESTERASA, HEPATOTOXICITY

INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (14), los datos disponibles son demasiado limitados para calcular los impactos de los plaguicidas en la salud mundial (20) aunque se ha calculado que cada año terminan intoxicadas por plaguicidas 3 millones de personas, y llegan a morir hasta 20.000 de ellos, la mayoría de individuos son los que se encuentran en países en desarrollo (14). Los organofosforados son esteres de ácido fosfórico, en general son considerados de alta toxicidad aguda debido a que algunos de ellos son potentes inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa. (15) (19). La inactivación de la colinesterasa por los pesticidas da paso a la acumulación de grandes cantidades de acetilcolina lo cual conlleva a que se presente un síndrome colinérgico (17) (26). Los plaguicidas de tipo organofosforados se utilizan masivamente en la agricultura como insecticida para el control principalmente de plagas e insectos. (18) (16) (25)

Por primera vez se alcanza una investigación en población latinoamericana en donde este estudio demostró la asociación entre exposición laboral a organofosforados y el desarrollo de la polineuropatía periférica en trabajadores agrícolas, la cual reporta que el 38% de la población expuesta a plaguicidas de tipo organofosforados han presentado esta enfermedad. (9) (24)

Este estudio busca determinar cómo se ve afectado el estado de salud de las personas que se encuentran en contacto directo con plaguicidas de tipo organofosforados y si la disminución de la concentración de la enzima guarda una relación con el nivel de instrucción educativa, el tiempo de exposición en horas semanales que los agricultores dedican a la fumigación y el uso de un equipo de bioseguridad, en la parroquia de San Miguelito del cantón Píllaro, en donde se ha evidenciado que es un sector agrícola principalmente en el cultivo de tubérculos y otros vegetales (21) (23).

La presente investigación es importante porque busca demostrar que la exposición a plaguicidas de tipo organofosforados afecta a las personas que los manipulan, causándoles problemas en el organismo a nivel bioquímico, afectando principalmente el sistema nervioso central y periférico, llevándolas en ocasiones a la muerte.

La presente investigación creará un gran impacto sobre la sociedad en vista que al cantón Píllaro lo conforman varios agricultores expuestos a organofosforados; exposición que provoca la intoxicación y afecciones a las personas que se encuentran en contacto directo con los mismos sin los conocimientos previos del uso del plaguicida, promoviendo a estudios futuros sobre este problema de importancia nacional.

Los beneficiarios directos de este proyecto investigativo son los agricultores expuestos a organofosforados de la parroquia de San Miguelito del Cantón Píllaro, a los que se les realizara las diferentes pruebas de forma gratuita (Colinesterasa en suero, Perfil Hepático, Biometría Hemática), puesto a que al confirmar el problema que se plantea con la investigación, se podrá emplear medidas de prevención y cuidado para las personas que están expuestas directamente a plaguicidas organofosforados y de esta manera se logrará reducir la tasa de intoxicaciones que presenta la provincia por estos productos.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

Fernández et al. (1) (2017) realizaron una investigación científica en donde describen las intoxicaciones por organofosforados en diferentes campos laborales. Dijeron que los compuestos organofosforados forman parte de un conjunto de sustancias orgánicas derivadas principalmente de la estructura química del fósforo y tienen una gran cantidad utilidades, aplicaciones y usos. Gran parte de estos productos han sido empleados como aditivos del petróleo, dentro de las industrias como colorantes, disolventes, barnices, impermeables, aislantes eléctricos, suavizantes de plásticos, fungicidas, plaguicidas, insecticidas entre otros. Debido a su extensa comercialización y empleo dentro de las industrias y en gran parte en la agricultura, es muy habitual que se exterioricen intoxicaciones accidentales por estos agregados, como puede ser el almacenamiento en frascos y lugares inadecuados, falda de eliminación de los desechos, falta de aseo personal luego del contacto con el plaguicida, ingesta accidental del producto, etc.

Los informes de la organización mundial de la salud (OMS) revelan que cada año a nivel mundial, hay alrededor de un millón de envenenamientos accidentales y dos millones de intoxicaciones inducidas (suicidios) con insecticidas, dentro de las cuales cerca de 200.000 acaban en la muerte (3), una vez que los plaguicidas han sido absorbidos y distribuidos dentro del organismo son metabolizados con sustancias afines al compuesto, este proceso se realiza principalmente en el hígado. Ya que el compuesto ha ingresado al organismo tienen una vida media limitada en el plasma y un eminente volumen de distribución y almacenamiento en los tejidos. (1)

Según Toro Osorio et al. (4) (2017), determinaron los niveles de concentración de la colinesterasa sérica en caficultores y relacionaron si la alteración de la enzima se ve asociada con factores demográficos y ocupacionales. Realizaron un estudio

descriptivo, con una muestra de estudio de 1098 agricultores, mediante una encuesta analizaron características propias de cada trabajador incluyendo datos de tipo: sociodemográfico, ocupacional y clínicos, además como un punto muy importante el analizaron nivel de la concentración sérica de la colinesterasa. Obtuvieron como resultados que a nivel ocupacional el 90,8 % de los participantes refirieron riesgo de exposición directa al compuesto, lo que hace referencia a las personas que se encargan de la aplicación del plaguicida en los cultivos. Los valores de referencia manejados en este estudio fueron de 4 659 a 14 443 U/L a 37°C (casa comercial Spinreact). El 3,8 % de las determinaciones de la concentración de la colinesterasa fueron anormales, reportando valores menores a 4 659 U/L. Relacionaron que el 75,6 % de los agricultores que preparan la mezcla del plaguicida, el 22,2 % preparan el compuesto con una frecuencia de más de dos veces por semana y el 37,8 % no utiliza un equipo de protección durante el tiempo de fumigación. Reportaron que los plaguicidas más utilizados fueron los de tipo organofosforados. Concluyendo que la vigilancia a la exposición a plaguicidas se torna bastante difícil debido a que la mayoría de trabajadores son de tipo informal, mencionaron que se requiere fortalecer proyectos de capacitación y campañas de sensibilización sobre los efectos negativos que los plaguicidas causan en la salud, acentuando a cerca de las medidas de higiene y seguridad laboral, mencionan que los niveles bajos de colinesterasa se deben a la absorción inclusive de cantidades mínimas de plaguicidas.

Kori Rk et al. (5) (2019), realizaron un proyecto en el que investigaron los efectos desfavorables para la salud que causan los pesticidas, las modificaciones hematológicas y bioquímicas de los agricultores. Realizaron un estudio transversal con una muestra de 51 agricultores expuestos y 54 no expuestos. A los participantes expuestos a plaguicidas les comunicaron resultados clínicos adversos, dentro de ellos incluyen dolor muscular, hormigueo, enfermedad de la piel y cefalea. Además las alteraciones a nivel de los medidores hematológicos, marcadores de disfunciones renales, hepáticas y perfil lipídico conjuntamente con la disminución significativa en la actividad de la acetilcolinesterasa, también se observó una disminución del glutatión y aumento en el nivel de peroxidación de lípidos en esos agricultores. Concluyendo que la exposición diaria a plaguicidas causa disminución en la

actividad de la acetilcolinesterasa y acrecienta el riesgo de efectos clínicos adversos en los trabajadores.

Usha Kiran Pothu et al. (6) (2019), realizaron un estudio investigativo en el Departamento de Bioquímica, Andhra Pradesh, India, donde estudiaron una población conformada por agricultores que usaban plaguicidas de tipo organofosforados, carbamatos y piretroides frente a un grupo control. El tamaño de la muestra incluyó a 283 trabajadores agrícolas con edades entre 20 y 60 años, realizaron una determinación previa de los niveles de colinesterasa, con los resultados obtenidos dividieron a la población en dos grupos: el grupo con niveles disminuidos de colinesterasa fueron considerados como casos y el grupo con niveles normales de colinesterasa fueron considerados como controles. Los análisis se realizaron con las muestras de sangre venosa extraída de cada uno de los participantes. Realizaron determinaciones como: glucosa en ayunas, glucosa postprandial, urea, creatinina, BUN, colesterol total, colesterol HDL, LDL y triglicéridos. Dentro de los resultados en el grupo se observó un aumento significativo del perfil lipídico como es el colesterol total, triglicéridos y LDL y la relación directa entre los valores disminuidos de colinesterasa, mientras que el grupo control no presentó cambios.

Según Blanco et al. (7) (2015), realizaron un estudio investigativo en donde lograron analizar la actividad de la enzima colinesterasa en sangre total para personas expuestas y no expuestas al uso de plaguicidas en la comunidad de La Brea, en el municipio de Leparique en donde su principal fuente de empleo es la agricultura, especialmente la siembra y cosecha de hortalizas. Seleccionaron la muestra mediante datos estadísticos del censo del 2001, siendo en total 245 personas el total de pobladores que se dedican a la agricultura en la región entre hombres y mujeres. La muestra de personas expuestas y no expuestas al uso de plaguicidas fue calculada mediante un sistema electrónico, en donde se seleccionaron 69 participantes para cada grupo. Aplicaron una encuesta a los participantes en donde pudieron recolectar datos importantes como : la edad de cada participante, la edad en la que iniciaron el contacto con plaguicidas, cuantos años llevan trabajando en dicha actividad, cuantos días a la semana dedican a la fumigación y a su vez cuantas horas al día emplean en

esta actividad, como es el tratamiento y almacenamiento de sobrantes y desechos de los compuestos, tipo de indumentaria que utilizan en su trabajo y si reciben o no algún tipo de capacitación previa para el uso de los plaguicidas. Dentro de los resultados obtenidos en las encuestas se conoció que al menos el 35% de ellos almacenan plaguicidas dentro de sus hogares, únicamente el 14% aseguraba haber recibido algún tipo de capacitación previa a la fumigación, el 50% trabaja con plaguicidas por más de 10 años y el 62% afirmó que lo realizan con una frecuencia de 1 a 3 veces por semana, aunque el 33% asegura haber recibido charlas sobre el uso y manejo seguro de plaguicidas, se manifiesta que existe una refutación debido a que gran parte de los agricultores no aplican las medidas de seguridad. Posteriormente realizaron la toma de muestras de sangre venosa a los agricultores participantes y se realizó la determinación de la colinesterasa, el método analítico empleado fue el potenciométrico de Michel, el cual mide la actividad enzimática en sangre total, reportando valores en pH/hora, en donde se considera normal un valor igual o mayor a 154 unidades de pH/ hora, obtuvieron como resultado que solamente tres de los participantes presentaban una inhibición moderada con un valor de 120 unidades de pH/hora. El estudio demostró que un bajo porcentaje de pobladores expuestos presentaron valores de leve inhibición e inhibición moderada, lo que no excluye la posibilidad de intoxicación por el uso de plaguicidas.

Amaya et al. (8) (2008), relatan que el empleo de plaguicidas dentro del campo de la agricultura ha sido una fuente primordial para el control de plagas y otros insectos. No obstante estos compuestos químicos han sido utilizados de forma impropia, principalmente por parte de los trabajadores agrícolas, debido a esto se manifiesta en los efectos perjudiciales sobre la salud humana; como intoxicación y en muchas ocasiones la muerte, este problema se evidencia principalmente en países que aún se encuentran en desarrollo. La investigación tuvo como objeto la valoración de los factores de riesgo coligados a los hábitos de manejo, uso y exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos mediante la aplicación de una encuesta estructurada, el análisis del nivel de la actividad colinesterásica, y marcadores hemáticos en trabajadores y habitantes de la vereda de Bateas en Colombia, identificados con la posible presencia de intoxicación. Encontraron que los factores de riesgo más

sobresalientes fueron el uso inadecuado de un equipo de bioseguridad y la falta de evacuación anterior a la fumigación. Obtuvieron resultados de interés debido a que el 100% de la muestra participante en el proyecto presentó disminución en la actividad de colinesterasa, Dentro de los datos notables de este proyecto investigativo se encuentra que el promedio de horas laborales fue de 9 a 10 horas por día y con una asiduidad de trabajo de 6 y 7 días a la semana. Todos los resultados obtenidos hacen referencia a la ausencia o mal uso de equipo de protección personal por lo que existe riesgo de exposición mayor que puede conllevar a una intoxicación. La no evacuación previa de fumigación es un contingente para la intoxicación debido a que se encuentran expuestos a altas dosis de compuesto y por la vulnerabilidad que presentan los agricultores.

Según Grillo Pizarro et al. (9) (2018), describen que los organofosforados (OP) se utilizan de forma masiva, por su bajo costo, su fácil adquisición, su baja persistencia en el ambiente y su potente efecto en el control de plagas e insectos. Por otra parte los agricultores cuando se exponen a organofosforados desarrollan consecuencias nocivas en la salud, especialmente a nivel neurológico, como es la polineuropatía. El objetivo de su investigación se enfocó en relacionar la exposición laboral en contacto con plaguicidas de tipo organofosforados y la desarrollo de polineuropatía en trabajadores de la región agrícola del Maule, Chile. Realizó un estudio transversal con una población de estudio de 55 trabajadores expuestos a organofosforados y 58 trabajadores agrícolas no expuestos, en donde realizó una prueba concreta para el diagnóstico de polineuropatía, en donde sus resultados arrojaron que el 26% del total de la muestra entre agricultores expuestos y no expuestos sufrían de polineuropatía, dando en un 38% casos positivos para agricultores expuestos y 14 % en trabajadores agrícolas no expuestos.

Fuentes et al. (10) (2011), Citó que el paratión metílico (PM) es un plaguicida organofosforado usado en la agricultura. Y en el humano es absorbido por diferentes vías, como son las respiratorias, cutáneas y digestivas. Realizo su trabajo en donde se investigó el daño hepático de ratas Wistar tratadas con PM disuelto en aceite de maíz. Las ratas fueron distribuidas en dos grupos entre expuestos y no expuestos.

Para la determinación de toxicidad aguda, los animales expuestos recibieron el paratión metílico disuelto en aceite de maíz, durante 20 días, mientras que los animales que sirvieron como testigos solamente recibieron aceite de maíz, por vía oral, durante 20 días. Para la determinación de toxicidad crónica los animales tratados recibieron en paratión metílico disuelto en aceite de maíz, durante 6 semanas, mientras que los animales testigos recibieron únicamente el aceite de maíz durante las 6 semanas; al finalizar la cuarta y la sexta semana de tratamiento, se obtuvieron muestras de hígado de 3 ratas para su evaluación estructural. Como resultados generales encontraron que la exposición subaguda (3 mg/kg/día), generó necrosis hepática, aumento en la concentración de malondialdehído (213 %) y disminución de la concentración de ATP en el hígado (29.3 %). En la exposición crónica al PM (0.56 mg/Kg/día, oral, 6 semanas) hubo vacuolización citoplásmica de los hepatocitos (inclusiones de lípidos), particularmente en el área centrolobulillar del hígado. Concluyendo que el PM produce daño hepático oxidativo y estructural en la exposición subaguda y daño estructural en la intoxicación crónica.

Marrero et al. (11) (2017), realizaron un estudio investigativo en Venezuela, lugar en donde la aplicación de organofosforados y carbamatos ha provocado generar un sitio propicio para la presencia de intoxicaciones agudas y crónicas a nivel de la población, convirtiéndose en un problema de salud pública. Estudió la exposición en trabajadores agrícolas en la comunidad agraria. En donde realizaron un estudio descriptivo-correlacional en agricultores expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados. Utilizaron 2 grupos de estudio, un grupo expuesto conformado por 17 trabajadores entre hombres y mujeres con una edad promedio de $37,06 \pm 15,66$ años y un grupo control conformada de 13 trabajadores administrativos de una universidad con edad promedio $39,77 \pm 13,23$ años. Realizaron una entrevista y se determinaron niveles de concentración de colinesterasa sérica y marcadores hemáticos y bioquímicos. En el grupo expuesto obtuvieron un valor promedio de la actividad de la colinesterasa de $6,7465 \pm 1,0314$ U/L y para el grupo control obtuvieron un valor promedio de $8,6546 \pm 1,6014$ U/L. Evidenció la presencia de una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre las medias para el biomarcador de efecto en estudio como fue la acetilcolinesterasa en el grupo expuesto, el manejo inadecuado de los plaguicidas y los síntomas asociados a

manifestaciones clínicas debido a la exposición. Un 41,2% de los empleados utilizan medidas de protección personal, como mascarilla, ropa impermeable y guantes. Los trabajadores expuestos a organofosforados y carbamatos presentaron biomarcadores de exposición y de efecto dentro de los rangos normales, con presencia de síntomas que pudieran relacionarse con dicha exposición.

Según la definición dada por la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (2) un plaguicida “es una sustancia o mezclas de sustancias químicas destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier tipo de plaga, incluyendo vectores de enfermedad humana o animal, especies indeseadas de plantas o animales capaces de causar daños o interferir de cualquier otra forma con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o mercado de los alimentos, otros productos agrícolas, madera y sus derivados o alimentos animales, o que pueden ser administrados a animales para el control de insectos, arácnidos u otras plagas en su organismo”.

Los organofosforados son ésteres orgánicos del ácido fosfórico, son sustancias biodegradables en la naturaleza, sin tendencia a acumularse en las grasas del organismo, pero con gran actividad neurotóxica que va a producir intoxicaciones agudas de gravedad. Son los insecticidas, junto con los carbamatos y piretroides, más ampliamente utilizados en la actualidad. (12)

Estos despliegan su toxicidad a través de la fosforilación de la enzima acetilcolinesterasa que ocurren en las terminaciones nerviosas. Los plaguicidas organofosforados se activan con la zona esterásica de la enzima colinesterasa estableciendo una unión estable que si no se destroza mediante un tratamiento, se hace irreversible, quedando la enzima inhabilitada para cumplir con su función normal. La pérdida de la función enzimática provoca la acumulación de acetilcolina en las uniones colinérgicas neuroefectoras a lo que se le conoce como efectos muscarínicos, en las uniones mioneurales del esqueleto y los ganglios autónomos conociéndose como efectos nicotínicos y en el sistema nervioso central (SNC). (1)

Las intoxicaciones por plaguicidas organofosforados pueden desarrollar tres cuadros clínicos: la intoxicación aguda, el síndrome intermedio y una neurotoxicidad tardía. El cuadro de intoxicación aguda crea un conjunto de signos y síntomas designado como síndrome colinérgico el cual se presenta como resultado de la excesiva estimulación de los receptores de acetilcolina, y que se caracteriza especialmente por cambios en el estado de conciencia, debilidad muscular y excesiva actividad secretora. (1)

El síndrome Intermedio se presenta posterior a los efectos agudos, normalmente después de las 24 - 48 horas siguientes a la exposición, se identifica por la debilidad de los músculos proximales de las extremidades, flexores del cuello, lengua, faringe y músculos respiratorios, con la complicación de la función respiratoria, disminución o ausencia de los reflejos miotendinosos y compromiso de pares craneales principalmente del sexto (Motor ocular externo), algunos estudios han manifestado que el síndrome intermedio se presenta únicamente en pacientes con inhibición prolongada de la acetilcolinesterasa y que a presencia del síndrome no depende netamente del tipo de agente toxico involucrado. (1)

La neuropatía retardada se muestra especialmente con los compuestos que contienen flúor, puede iniciarse entre una a cuatro semanas después de la exposición aguda al compuesto. Los posibles mecanismos fisiopatológicos para su aparición son la inhibición de una enzima axonal conocida como esterasa neurotóxica (NTE) del sistema nervioso y el incremento del Ca^{2+} intracelular por la alteración de la enzima calcio-calmodulinaquinasa II, produciendo degeneración axonal. Se trata de una polineuropatía predominante motora, de tipo flácido, pero también con manifestaciones de tipo sensorial, que afecta a los músculos distales de las extremidades y estas manifiestan debilidad ascendente pero de predominio distal, ataxia, parestesias, calambres, hipotrofia muscular, dolor neuropático e hipoestesia. Entre los organofosforados que más se han asociado a esta enfermedad se encuentran el clorpirifox, leptofox, triclorfón, mipafox, fentiión y diazinón (1)

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General:

- Evaluar las alteraciones en los medidores bioquímicos de intoxicación por organofosforados en los agricultores de la parroquia San Miguelito del Cantón Píllaro.

1.2.2 Objetivos Específicos:

- Analizar las alteraciones en el nivel de concentración de la Acetilcolinesterasa en los agricultores de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro.
- Determinar alteraciones en los medidores de la función hepática en los agricultores de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro
- Relacionar la alteración del nivel de concentración de la acetilcolinesterasa con el grado de educación y la capacitación profesional que reciben los agricultores de la parroquia San Miguelito del Cantón Píllaro.
- Evaluar la relación existente entre el número de horas por semana que los agricultores de la parroquia de San Miguelito del Cantón Píllaro dedican a la fumigación de sus cultivos y la alteración de la concentración sérica de la enzima acetilcolinesterasa.
- Correlacionar el uso adecuado de los equipos de protección personal y la alteración de la concentración de la acetilcolinesterasa de los agricultores de la parroquia San Miguelito del Cantón Píllaro.

1.2.3 Cumplimiento de los objetivos:

Se evaluó las alteraciones de los medidores bioquímicos de intoxicación por organofosforados en los agricultores de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro, siendo principalmente el análisis del nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa, para la determinación de una posible hepatotoxicidad se analizó dentro del perfil hepático analitos como: TGO, TGP, Bilirrubina Total, Bilirrubina Directa y Fosfatasa Alcalina, con los valores obtenidos de la concentración de la

acetilcolinesterasa se analizó mediante tablas cruzadas una relación directa entre las variables: Nivel de instrucción educativa de los agricultores, Tiempo de exposición en horas por semana que los agricultores dedican a la fumigación y el uso de un equipo de bioseguridad para dichas actividades.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Materiales, Equipo y Reactivos

2.1.1 Materiales para la extracción de sangre venosa periférica

- Torundas de algodón
- Alcohol antiséptico
- Curitas redondas
- Agujas Vacutainer
- Capsulas para Vacutainer
- Torniquete
- Guantes de látex estériles
- Mandil
- Tubos con anticoagulante EDTA (Tubo Lila)
- Tubos sin anticoagulante (Tubo Rojo)
- Recipiente para desechos comunes
- Recipiente para desechos infecciosos
- Guardián para desechos cortopunzantes
- Gradillas de plástico
- Cooler para almacenamiento y transporte de muestras

2.1.2 Equipos y materiales para procesamiento de muestras

- Humalizer 3000 chemistry analyzer (Química Sanguínea)
- Sysmex kx21 (Biometría Hemática)
- Centrifuga de 8 tubos
- Pipetas semiautomáticas de 1000 uL y 100 uL
- Puntas plásticas para pipetas semiautomáticas
- Tubos de vidrio de 3 ml

- Gradillas
- Rotulador

2.1.3 Reactivos

- Kit de TGO y TGP (HUMAN)
- Kit de Bilirrubinas Total, Directa (HUMAN)
- Reactivo de Fosfatasa Alcalina (WIENER LAB)
- Reactivo Cells Pack para Biometría Hemática

2.2 Método

2.2.1 Nivel o tipo de investigación

En el presente estudio investigativo se encuentran los siguientes tipos y niveles de investigación:

Estudio descriptivo transversal: porque permite analizar los datos de variables recopiladas en un periodo de tiempo sobre una población o muestra, es este caso nos permite conocer los valores de la concentración sérica de la acetil colinesterasa y perfil hepático en los agricultores expuestos a organofosforados de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro.

Estudio Experimental: porque nos encontramos manipulando directamente el factor de estudio de la investigación, en este caso el análisis de las muestras de sangre de cada uno de los agricultores se lleva a cabo por parte de la investigadora.

Estudio predictivo: porque anticipa posibles afectaciones al estado de salud relacionados con la exposición a organofosforados en los agricultores de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro.

Estudio Bibliográfico: porque se realizó una revisión bibliográfica de los estudios escritos acerca de la posibles afectaciones en el estado de salud y su relación con la exposición y uso de organofosforados.

Asociación entre variables: porque existe relación entre la variable dependiente con la variable independiente. La variable dependiente es la posible alteración en los medidores bioquímicos de intoxicación (acetilcolinesterasa y perfil hepático) en agricultores expuestos a organofosforados en la parroquia San Miguelito del cantón

Píllaro y la variable independiente es el estudio de las alteraciones a nivel orgánico por la exposición a plaguicidas de tipo organofosforados.

2.2.2 Población

La población y muestra de estudio está conformada por 40 agricultores expuestos a organofosforados, clasificados por la edad, sexo, grado de educación y capacitación que reciben los agricultores, número de horas a la semana que se dedican a la fumigación de los cultivos y el uso de un equipo de bioseguridad, mismos que fueron seleccionados en base a los siguientes criterios:

2.2.3 Criterios de inclusión:

- Agricultores que cultivan y cosechan papas y otros vegetales en la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro.
- Personas que lean, comprendan y firmen el consentimiento informado.
- Agricultores que utilicen plaguicidas organofosforados.

2.2.4 Criterios de exclusión:

- Personas que no deseen participar y no hayan firmado el consentimiento informado.
- Agricultores que tengan antecedentes de enfermedades hepáticas
- Agricultores que presenten o tengan antecedentes de anemia.
- Agricultores que presenten enfermedades neurológicas.

2.2.5 Descripción de la intervención y procedimientos para la recolección de información

2.2.5.1 Pasos de la investigación

El primer paso de esta investigación fue identificar los principales problemas socioeconómicos y las actividades que la población realiza para solventarse siendo la agricultura el principal eje que mueve la economía del Ecuador. Conociendo que la agricultura es la actividad de alrededor del 60 % de ecuatorianos se la ha relacionado con el estado de salud que agrava con el tiempo en las personas que se encuentran expuestas al uso consecutivo de plaguicidas y en este caso de tipo organofosforados. Seguidamente se identificó la localidad en donde se va a llevar a cabo el estudio,

siendo selecciona la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro que gracias a los dirigentes de la comunidad y al MAG sede Ambato se pudo obtener información acerca de las personas que llevan varios años dedicándose a la agricultura principalmente al cultivo de papa y otros vegetales.

Una vez identificados a los agricultores se procedió a dar una charla educativa sobre los plaguicidas organofosforados y cómo el uso inadecuado de estos afecta al estado de salud de las personas, se le puso a consideración este proyecto investigativo y el propósito de este trabajo, para que seguidamente las personas que cumplan los criterios de inclusión y exclusión y deseen participar voluntariamente registren sus datos en el proyecto. Con la población objeto de estudio de planifico la toma de la muestra de sangre proporcionándoles las indicaciones necesarias previas a la toma de muestra.

Previo a la toma de muestra se realizó una encuesta en donde se centraban los objetivos de este estudio, posteriormente les hizo firmar un consentimiento informado para que puedan participar en el proyecto y se procedió a la toma de muestra siguiendo los protocolos de bioseguridad para salvaguardar el estado de salud del paciente y del investigador.

2.2.5.2 Procedimiento de venopunción

- Colocarse el equipo de bioseguridad (mandil, guantes, mascarilla).
- Pedir al paciente que tome asiento en la silla de toma de muestras.
- Preguntar los datos del paciente, asignar el código y rotular los tubos.
- Recordarle al paciente cual es el proceso que se va a realizar.
- Preparar el vacutainer con la aguja y las torundas con alcohol.
- Palpar la vena del paciente.
- Colocar el torniquete de 7 a 8 cm sobre el pliegue del brazo.
- Desinfectar la zona de punción.
- Introducir la aguja a 45° del nivel del antebrazo
- Colocar los tubos primero en que contiene el tubo sin anticoagulante y luego el tubo con EDTA.
- Retirar el torniquete.
- Sacar la aguja y colocar una torunda seca y pedirle al paciente que se sujete

mientras de deténgala sangre.

- Desechar la aguja en el bote de cortopunzantes y las torundas en desechos infecciosos.
- Colocar las muestras en un cooler con gel refrigerante con una temperatura aproximada a 6°C, para ser transportadas al laboratorio para su posterior análisis dentro de las 2 horas siguientes.

2.2.5.3 Procedimiento de análisis de muestras.

Para el análisis de las muestras se realizó mediante diferentes métodos analíticos, siguiendo rigurosos procesos para asegurar la calidad de los resultados, teniendo en cuenta la calibración de los equipos y los diferentes controles antes de procesar las muestras en estudio. En cada una de las muestras sanguíneas se determinará niveles de colinesterasa, TGO, TGP, Fosfatasa Alcalina, Bilirrubina Total, Bilirrubina Directa y Biometría Hemática.

Una vez con las muestras en el laboratorio UTALAB, los tubos que contienen las muestras con anticoagulante EDTA son llevados al agitador de tubos para mantener las muestras en óptimas condiciones para su análisis en el equipo hematológico, los tubos que contienen las muestras sin anticoagulantes se los lleva a centrifugación a 5000 RPM durante 10 minutos, seguidamente para separar los sueros de las muestras en tubos de vidrio previamente codificados. Se realizó primero el análisis hematológico de las muestras, para tener detectar posibles anemias que podrían dar falsos positivos y afectar al análisis de los estudios posteriores. Posteriormente se realizó la determinación de la acetilcolinesterasa utilizando 1 método cinético espectrofotométrico de la casa comercial Wiener-lab en las 40 muestras de los agricultores, luego se realizó las pruebas de medición de la función hepática: Aspartato Aminotransferasa TGO, Alanina Aminotransferasa TGP mediante la prueba liquiUV, Bilirrubina total y directa mediante la prueba liquicolor, todas estas de la casa comercial HUMAN, determinación de la Fosfatasa Alcalina mediante el procedimiento y casa comercial Wiener-lab, en cada uno de los análisis se utilizó métodos cinéticos espectrofotométricos, se reportó cada uno de los resultados entregando una copia a cada paciente.

2.2.5.4 Análisis estadístico:

Los resultados serán tabulados y representados una tabla de Excel para con la ayuda de métodos estadísticos como la prueba de chi cuadrado de pearson y el análisis de tablas cruzadas puedan plasmarse el cumplimiento de los objetivos planteados en esta investigación.

2.2.6 Aspectos éticos

2.2.6.1 Autonomía del paciente

En este proyecto de investigación fue primordial usar el principio de autonomía del paciente, en donde a cada participante tuvo la oportunidad de conocer detalladamente cual es el objetivo del estudio y cómo será el proceso de análisis de su muestra desde su extracción hasta su liberación de resultados, teniendo así cada individuo la libre decisión de participar voluntariamente y de retirarse del proyecto en el momento que él así lo desee, como investigadora me aseguraré de salvaguardar la integridad de cada persona cuidando así que no exista presiones externas ni influencias que obliguen a las personas a participar en este proyecto, respetando así sus derechos humanos.

2.2.6.2 Aprobación del Comité de Bioética

La presente investigación cuenta con una previa aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato, en donde se evaluó cada una de los aspectos de este proyecto y en donde se verificó la factibilidad de la realización y culminación del mismo, controlando y verificando que se respete los derechos humanos y la protección de la integridad de cada uno de los participantes.

2.2.6.3 Consentimiento informado

En este proyecto investigativo, previa a la obtención de muestras de los participantes se obtuvo una carta de consentimiento informado aprobada por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencia de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato, en donde se detalla la participación de cada persona en el proyecto, extracción de muestra, estudios que se realizaran, tiempo que le tomara participar en el proyecto, beneficios que obtendrá y como se cuidará la confidencialidad de sus nombres y resultados, solicitando la aprobación de cada participante para el uso de los

resultados de su muestra, dando cumplimiento al uso de los derechos humanos de cada participante.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

Para el estudio, se empleó una muestra de 40 agricultores, quienes constantemente están expuestos a plaguicidas del tipo organofosforados en la parroquia de San Miguelito en el cantón Píllaro, a los que se les realizó determinaciones en sangre de los niveles de concentración de la enzima acetilcolinesterasa y marcadores que permiten conocer el estado funcional del hígado. A cada uno de los participantes se los clasificó dependiendo su nivel de instrucción educativa, tiempo de exposición a plaguicidas en horas por semana y si utilizan un equipo de bioseguridad para realizar actividades de fumigación.

Distribución demográfica de la muestra estudiada

La muestra en estudio se encuentra distribuida demográficamente de la siguiente manera:

Tabla 1. Caracterización demográfica por edad.

	EDAD			
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
15-25	5	12,5	12,5	12,5
26-35	6	15,0	15,0	27,5
36-45	8	20,0	20,0	47,5
46-55	12	30,0	30,0	77,5
56-65	9	22,5	22,5	100,0
Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: La investigadora

La distribución demográfica por edad de los agricultores expuestos a organofosforados de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro está dividida en 5

rangos etarios, que se evidencia de forma ascendente dentro de la tabla, donde se muestra que el rango de edad prevalente es de 46-55 años con un porcentaje del 30% del total de la población en estudio, siendo nuestra investigación concordante con la mayor parte de estudios realizados en donde se evidencia el manejo del mismo rango de edad, asumiendo que este rango de edad es el promedio de edad activa y productiva de la población dedicada a la agricultura en el Ecuador.

Tabla 2. Distribución demográfica por el sexo.

SEXO				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
MASCULINO	17	42,5	42,5	42,5
FEMENIO	23	57,5	57,5	100,0
Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: La investigadora

Acorde a la distribución demográfica por el sexo en la muestra estudiada de los agricultores expuestos a organofosforados de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro, muestra que con 23 participantes que representan el 57,5% del total de la muestra son de sexo femenino, caso contrario a lo que se encuentra en los antecedentes investigativos del estudio en donde se muestran que la mayor parte de trabajadores del sector agrícola son de sexo masculino.

Tabla 3. Medición de la concentración de la enzima Acetilcolinesterasa

Acetilcolinesterasa en UI/L				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Menor a 3139 UI/L	12	30,0	30,0	30,0
Rango aceptable 3140-6100	28	70,0	70,0	100,0
Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: La investigadora

En la presente investigación la disminución de la concentración de la enzima Acetilcolinesterasa se presenta en 12 agricultores que representan el 30% de la muestra, que calculado mediante una t-Student con 39 grados de libertad siendo el valor tabulado de 1.684 mayor al valor calculado de 0.609 lo que indica que no es un valor estadísticamente significativo, pese a que si haya existido cambios en la concentración de la enzima en los trabajadores agrícolas, se estima que la exposición prolongada y directa a compuestos de tipo organofosforados causa a largo plazo la disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa.

Tabla 4. Medidores de la Función Hepática

		FRECUENCIA	PORCENTAJE	PORCENTAJE VALIDO	PORCENTAJE ACUMULADO
TGO	Hombre <37 UI/L	14	35,0	35,0	35,0
	Hombre >37 UI/L	3	7,5	7,5	42,5
	Mujer <31 UI/L	21	52,5	52,5	95,0
	Mujer >31 UI/L	2	5,0	5,0	100,0
	Total	40	100,0	100,0	
TGP	Hombre <42	16	40,0	40,0	40,0
	Hombre >42	2	5,0	5,0	45,0
	Mujer <32	18	45,0	45,0	90,0
	Mujer >32	4	10,0	10,0	100,0
	Total	40	100,0	100,0	
BILIRRUBINA TOTAL	< 1.1 mg/dl	34	85,0	85,0	85,0
	>1.1 mg/dl	6	15,0	15,0	100,0
	Total	40	100,0	100,0	
BILIRRUBINA DIRECTA	< 0,25 mg/dl	24	60,0	60,0	60,0
	> 0,25 mg/dl	16	40,0	40,0	100,0
	Total	40	100,0	100,0	

FOSFATASA ALCALINA	Rango 80-306 UI/L	27	92,5	92,5	92,5
	> 306 UI/L	3	7,5	7,5	100,0
	Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: La Investigadora

En la presente investigación de acuerdo a los marcadores de la función hepática se evidencia que dentro del TGO existen 5 participantes entre hombres y mujeres presentan una alteración en el rango normal que representan en 12,5% de la muestra en estudiada, con los valores obtenidos del TGP se puede evidenciar que el 15% del total de la muestra presenta una alteración en dicho marcador, del mismo modo se evidencia el mismo porcentaje de alteración en los niveles de la Bilirrubina Total, mientras tanto los valores obtenidos de la bilirrubina directa de los agricultores muestran una ligera alteración en el 40% de la población de interés, en los niveles de la Fosfatasa Alcalina se muestra una alteración en el 7,5% de la muestra estudiada. Sin embargo no se evidencio alteraciones en todos los parámetros de funcionalismo hepático en ninguno de los participantes de la investigación por lo que no podemos reportar la presencia de una posible hepatotoxicidad por exposición a organofosforados.

Tabla 5. Nivel de instrucción educativa de los agricultores.

		Nivel de instrucción educativa			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	Ninguno	8	20,0	20,0	20,0
	Primaria	16	40,0	40,0	60,0
	Secundaria	5	12,5	12,5	72,5
	Superior	11	27,5	27,5	100,0
	Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: La investigadora

El nivel de estudios de los agricultores que están expuestos a plaguicidas del tipo organofosforados consta de la siguiente distribución en porcentajes: Existen 8

agricultores que no han recibido ningún tipo de estudios o capacitación profesional que representa un 20%, 16 agricultores que representan un mayoritario 40% que han cursado la primaria completa, 5 agricultores que han cursado la secundaria con un porcentaje correspondiente del 12.5% y finalmente un total de 11 agricultores que han cursado un nivel de estudios superior representado por el 27.5%. Se conoce mediante estudios realizados que la mayor parte de trabajadores agrícolas no cuentan con estudios educativos.

Tabla 6. Tiempo de Exposición en horas semanales los agricultores se exponen a organofosforados.

Tiempo de Exposición en horas por semana				Porcentaje acumulado
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	
BAJA EXPOSICIÓN	11	27,5	27,5	27,5
MEDIANA EXPOSICIÓN	24	60,0	60,0	87,5
ALTA EXPOSICIÓN	5	12,5	12,5	100,0
Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: La investigadora

En esta investigación para determinar el tiempo de exposición en horas por semana que los agricultores dedican a la actividad de la fumigación se ha clasificado como de BAJA EXPOSICION: de 1 a 3 horas semanales, en donde se sitúa el 27.5% de la muestra, de MEDIANA EXPOSICION: de 4 a 7 horas semanales en donde se ubica el 60% y de ALTA EXPOSICION: de 8 o más horas semanales en donde se encuentra el 12,5% de la muestra estudiada. La cantidad de horas por semana que un agricultor se expone al contacto con plaguicidas es el principal factor de riesgo en la disminución de la concentración de la enzima, debido a que existe un contacto casi permanente con los compuestos, se ha evidenciado en investigaciones previas que los agricultores que se exponen a las de 5 horas por semana son los más susceptibles a presentar alteraciones enzimáticas.

Tabla 7. Uso de equipo de protección personal para realizar actividades de fumigación.

		Uso de Equipo de Bioseguridad			Porcentaje acumulado
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	
Utilizan equipo de Bioseguridad	No	7	17,5	17,5	17,5
	Si	33	82,5	82,5	100,0
	Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: La investigadora

Como resultado de esta investigación se conoció que el 17.5% del total de la muestra refirió que no utiliza un equipo de bioseguridad para las actividades de fumigación, lo que es el principal factor de riesgo debido a la gran absorción que tiene el compuesto al organismo.

Tabla 8. Tabla cruzada de relación entre el nivel de instrucción educativa y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.

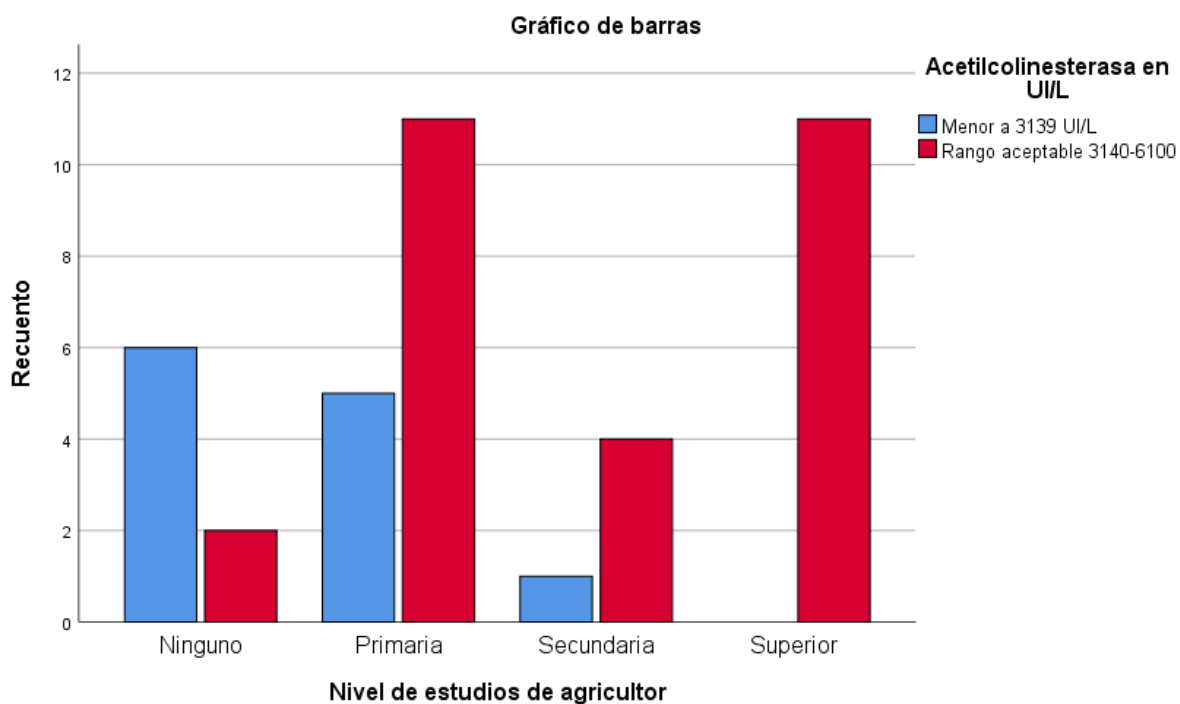
Tabla cruzada: Nivel de Instrucción Educativa y Acetilcolinesterasa en UI/L					
		Acetilcolinesterasa en UI/L		Total	
		Menor a 3139 UI/L	Rango aceptable 3140-6100 UI/L		
Nivel de estudios de agricultor	Ninguno	Recuento	6	2	8
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	50,0%	7,1%	20,0%
	Primaria	Recuento	5	11	16
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	41,7%	39,3%	40,0%
	Secundaria	Recuento	1	4	5
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	8,3%	14,3%	12,5%
	Superior	Recuento	0	11	11
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	0,0%	39,3%	27,5%
Total		Recuento	12	28	40
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	100,0%	100,0%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	Grados de libertad	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	12,679	3	,005
Razón de verosimilitud	14,993	3	,002
Asociación lineal por lineal	11,080	1	,001
N de casos válidos	40		

Elaborado por: La investigadora

Gráfico 1. Relación entre el nivel de instrucción educativa y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.



Elaborado por: La investigadora

Análisis

En la presente investigación en el cruce de los parámetros enzima colinesterasa con el nivel de instrucción educativa de los agricultores, se obtuvieron los siguientes resultados: dentro de los agricultores que no han recibido o no tienen ningún nivel de estudios encontramos 6 participantes que presentan disminución en la concentración

de la enzima, los agricultores que han recibido únicamente instrucción primaria encontramos 5 participantes, entre los agricultores que han recibido hasta la instrucción secundaria tan solo 1 presenta niveles bajos de la concentración de la enzima, y finalmente los agricultores que han terminado sus estudios superiores encontramos 11 participantes de los cuales ninguno presenta niveles bajos de la enzima acetilcolinesterasa, resultados que mediante la prueba de Chi Cuadrado si se relaciona la significación asintótica con un 95% de confianza ($\alpha = 0.05$) al tener el valor calculado 0,05 menor o igual al valor tabulado de 0.05 , lo que evidencia que el nivel instrucción educativa de los agricultores guarda relación estadísticamente significativa con la disminución de los niveles de la concentración de la enzima acetilcolinesterasa.

Tabla 9. Tabla cruzada de relación entre el tiempo de exposición en horas por semana y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.

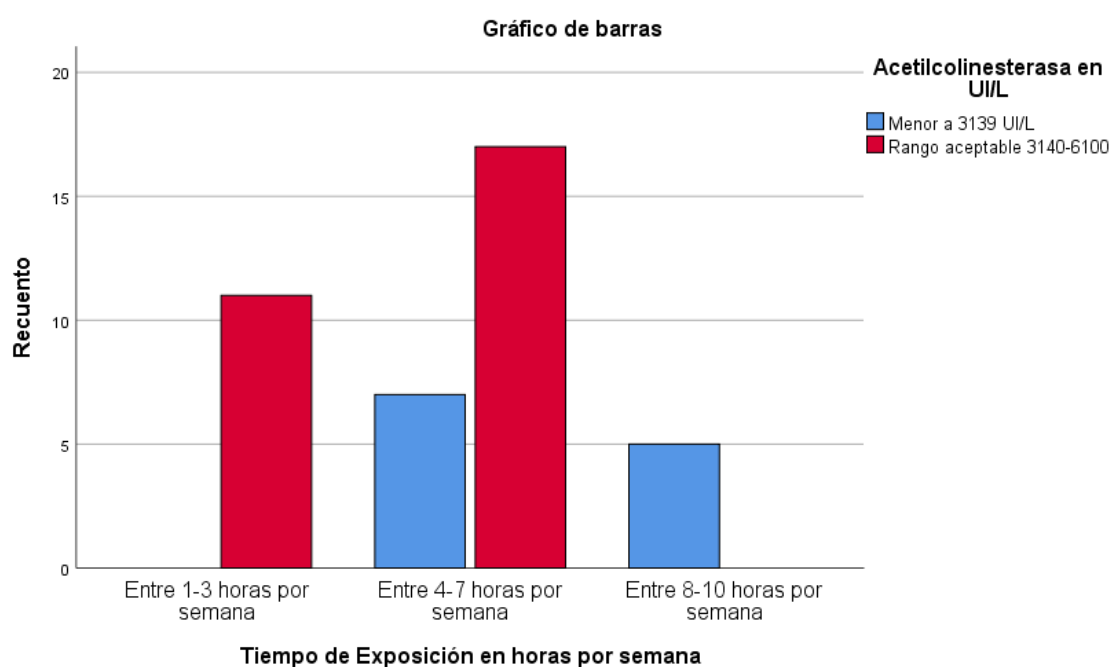
				Acetilcolinesterasa en UI/L		Total
				Menor a 3139 UI/L	Rango aceptable 3140-6100	
Tiempo de Exposición en horas por semana	BAJA EXPOSICIÓN: 1-3 horas por semana	Recuento	0	11	11	
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	0,0%	39,3%	27,5%	
	MEDIANA EXPOSICIÓN: 4-7 horas por semana	Recuento	7	17	24	
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	58,3%	60,7%	60,0%	
	ALTA EXPOSICIÓN: 8 o más horas por semana	Recuento	5	0	5	
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	41,7%	0,0%	12,5%	
Total		Recuento	12	28	40	
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	100,0%	100,0%	100,0%	

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	Grados de libertad	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	16,389	2	,000
Razón de verosimilitud	19,895	2	,000
Asociación lineal por lineal	14,218	1	,000
N de casos válidos	40		

Elaborado por: La investigadora

Gráfico 2. Relación entre el tiempo de exposición en horas por semana y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.



Elaborado por: La investigadora

Análisis

En esta investigación se puede evidenciar la relación entre la disminución de la concentración de la enzima colinesterasa con el tiempo de exposición en horas por semana que los agricultores dedican a la fumigación de los cultivos, se obtuvieron los siguientes resultados: dentro de los agricultores que se dedican de 1 a 3 horas por semana encontramos 11 agricultores que representan el 27,5% del total de la muestra, de los cuales ninguno de ellos presentan niveles bajos en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa, en los agricultores que dedican de 4 a 7 horas por semana encontramos 24 participantes que representan el 60% de la población en

estudio, de los cuales 7 de ellos presentan niveles bajos en la concentración de la enzima, finalmente los agricultores que dedican de 8 o más horas por semana tenemos 5 agricultores en donde absolutamente todos presentan disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa. De tal modo que mediante la prueba de Chi Cuadrado si se analiza la significación asintótica con un 95% de confianza ($\alpha = 0.05$) al tener el valor calculado de 0,00 siendo un valor menor al tabulado de 0,05 lo que determina que si existe una relación estadísticamente significativa entre el número de horas de fumigación por semana y la disminución en la concentración de la enzima.

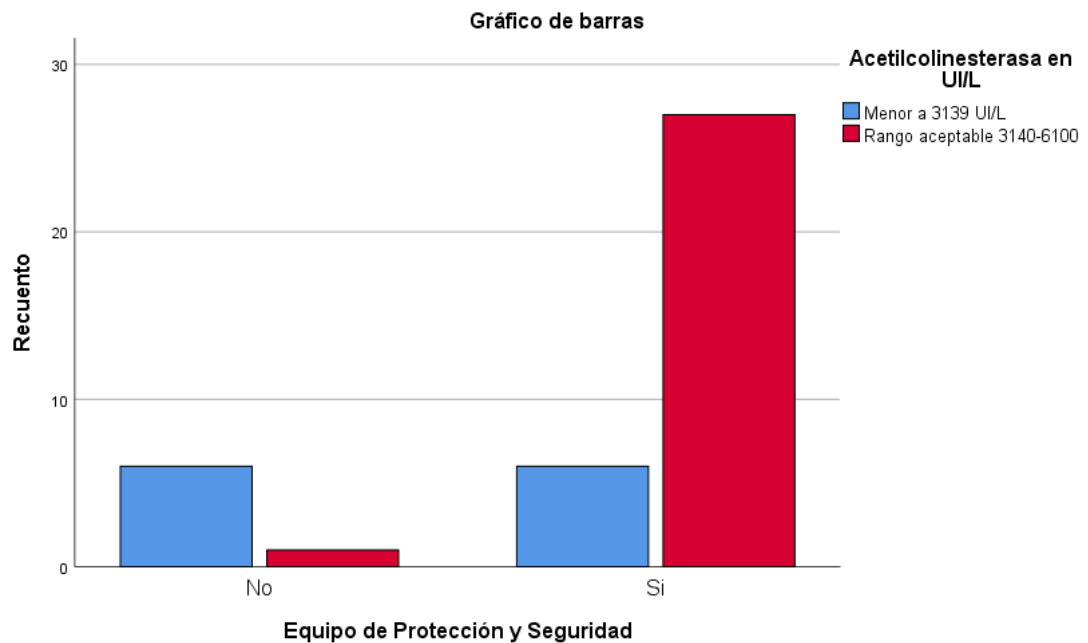
Tabla 10. Tabla cruzada de la relación entre el uso de equipo de bioseguridad y la alteración del nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.

		Acetilcolinesterasa en UI/L		Total	
		Menor a 3139 UI/L	Rango aceptable 3140-6100		
Equipo de Protección y Seguridad	No	Recuento	6	1	7
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	50,0%	3,6%	17,5%
	Si	Recuento	6	27	33
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	50,0%	96,4%	82,5%
Total		Recuento	12	28	40
		% dentro de Acetilcolinesterasa en UI/L	100,0%	100,0%	100,0%

	Valor	Grados de libertad	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	12,542	1	,005
Corrección de continuidad	9,532	1	,002
Razón de verosimilitud	11,834	1	,001
Prueba exacta de Fisher			
Asociación lineal por lineal	12,228	1	,000
N de casos válidos	40		

Elaborado por: La investigadora

Gráfico 3. Relación entre el tiempo de exposición en horas por semana y el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa.



Elaborado por: La investigadora

Análisis

Como se evidencia en esta investigación el cruzamiento de los parámetros enzima colinesterasa con uso de equipo de bioseguridad, se obtuvieron los siguientes resultados: 7 agricultores mencionaron que no utilizan ningún equipo de bioseguridad para la fumigación, de los cuales 6 de ellos presentaron disminución en la concentración de la enzima, en el mismo contexto mediante la prueba de Chi Cuadrado si relacionamos la significación asintótica con un 95% de confianza ($\alpha=0.05$) al tener el valor calculado de 0,05 menor o igual al valor tabulado de 0.05, por lo cual determinamos que el uso o no de un equipo de bioseguridad tiene relación significativa con la disminución en la concentración de la enzima.

3.1.2 Discusión

Con los resultados obtenidos en esta investigación, se puede evidenciar que a pesar que una parte de los agricultores presentaron disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa esto no ha resultado estadísticamente significativo de

acuerdo a una t-Student calculada con 39 grados de libertad siendo el valor tabulado de 1.6849 mayor al valor calculado de 0.609, no obstante se conoce que la exposición por tiempo prolongado y permanente si afecta el estado de salud de los trabajadores agrícolas, tal es el caso en donde Ortega Freire E.(2016) (22) realizó un estudio para determinar el daño oxidativo y la actividad de la colinesterasa a causa de la exposición a organofosforados, su estudio se basó en comparar un grupo expuesto y un grupo control, en donde determinaron marcadores lipídicos y la concentración de la enzima acetilcolinesterasa en ambos grupos, obteniendo como resultado que los participantes del grupo expuesto son los que presentan alteraciones a nivel oxidativo y disminución en la concentración de la enzima.

Una de las variables de investigación es el nivel de educación de los agricultores , que en este caso se evidencia que la mayor parte de los agricultores que presentan los niveles bajos de la enzima son aquellos que no han recibido ningún tipo de instrucción educativa, por otra parte es muy evidente que los agricultores que si tienen un nivel de educación superior o aun recibido instrucción educativa hasta un nivel técnico no presentan niveles bajos en la concentración de la enzima, tal es así que nuestro estudio concuerda con el realizado por Juan Manuel Ospina (2008) (13) en donde él, junto a otros colaboradores realizaron un estudio sobre la intervención educativa en cultivadores de papa en Colombia, seleccionando una muestra de 65 participantes, fue un estudio del antes y después, es decir que realizaron una evaluación primaria a todos los participantes, luego realizaron una intervención educativa sobre los cultivadores acerca de las practicas correctas, protección personal y el riesgo laboral, luego de terminada la intervención educativa realizaron la segunda evaluación, en donde obtuvieron como resultados cambios estadísticos significativos en los conocimientos de los participantes. (13)

Referente al tiempo de exposición en horas por semana que los agricultores de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro dedican a la fumigación, se obtuvo como resultado que los agricultores que dedican de 1 a 3 horas en la semana son los menos propensos a presentar disminución en la concentración de la enzima, caso contrario a lo que sucede con los agricultores que dedican más de 4 horas a la fumigación quienes presentaron una clara disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa, tal como lo redacta Alba Ruth Blanco (2015) (7), quien junto a un

grupo de investigadores realizaron un estudio sobre la actividad de la colinesterasa en pobladores que utilizan plaguicidas en Lepaterique en Honduras, dentro del estudio se encontraba como una de las variables la frecuencia semanal con la que los pobladores utilizaban plaguicidas, en donde el 62% del total de muestra mencionaron que ocupan de una a tres horas por cada aplicación y realizaban al menos 2 aplicaciones semanales por lo que fueron considerados por los investigadores como un grupo de exposición elevada exposición elevada a plaguicidas, al finalizar el estudio obtuvieron como resultados que tres de los participantes presentaban disminución en la concentración de la enzima.(7)

En relación al uso del equipo de bioseguridad, en nuestra investigación logramos evidenciar que 7 agricultores que corresponden al 17.5% de la muestra total no utilizaban equipo de protección personal, de los cuales 6 de ellos presentan niveles bajos en la concentración de la enzima, caso contrario a lo que sucede con los agricultores que si utilizan equipo de protección personal ellos no presentaron afectaciones en el estado de salud, nuestros resultados se respaldan con los datos obtenidos por Sharim Marrero (2017) (11) que realizó un estudio a cerca de exposición a organofosforados y carbamatos en la comunidad agraria en Venezuela, dentro de ese estudio se mencionó que uno de los factores de riesgo para la intoxicación por organofosforados y carbamatos era la falta de uso del equipo de bioseguridad., sin embargo dentro de su muestra de estudio detalló que el 41.2% de los participantes si utilizan un equipo de bioseguridad completo lo cual a ella le permite mencionar en los resultados que existe una leve o aceptable disminución de la concentración de la enzima acetilcolinesterasa.(11)

Para esta investigación se realizó también una medición de analitos como es el TGO, TGP, Bilirrubina Total, Directa y Fosfatasa Alcalina que son marcadores de la función hepática, debido a que el órgano afectado de igual manera por la exposición a plaguicidas de tipo organofosforados es el hígado, según nuestros resultados obtenidos no evidenciamos alteraciones significativas en la funcionalidad hepática a diferencia de un estudio realizado en México por Víctor Hugo Fuentes (2011) (10) en donde se estudió la Hepatotoxicidad subaguda y crónica producida por el tipo de plaguicida paratión metílico, esta investigación fue realizada en ratas, en donde se separaron 2 grupos de rata y al grupo expuesto se les administraba cada día una cierta

cantidad de este tipo de plaguicida y mientras que al grupo control se realizaba una administración de otro compuesto que no contenía el plaguicida, al cabo de 6 semanas se realizó una biopsia del hígado de la rata tanto del grupo expuesto como del grupo control, obteniendo como resultado que existía un cierto daño hepático en la rata que pertenecía al grupo expuesto.(10) El análisis de estos analitos nos permite conocer también si existe daño a nivel hepático por la exposición prolongada a organofosforados.

3.2 Hipótesis

3.2.1 Hipótesis nula

La disminución de la concentración de la enzima Acetilcolinesterasa no guarda relación con la exposición a plaguicidas organofosforados en relación a nivel de estudios, tiempo de exposición semanal y uso de equipos de bioseguridad en los agricultores de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro.

3.2.2 Hipótesis alternativa

La disminución de la concentración de la enzima Acetilcolinesterasa si guarda relación con la exposición a plaguicidas organofosforados en relación a nivel de estudios, tiempo de exposición semanal y uso de equipos de bioseguridad en los agricultores de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro.

3.2.3 Verificación de la hipótesis

De acuerdo a nuestra investigación logramos evidenciar que los agricultores expuestos al contacto con plaguicidas de tipo organofosforados pueden presentar alteraciones en el estado de salud, pese a que los resultados no reflejaron estadísticamente significativo mediante la prueba de t- Student con 39 grados de libertad siendo el valor tabulado de 1.684 mayor al valor calculado de 0.609, se detectó que 12 personas presentaron valores menores al permitido; de acuerdo a los marcadores de la función hepática no se encontraron alteraciones significativas que conlleven a un diagnóstico de una hepatotoxicidad, es por ello que a continuación se presenta la significación del trabajo estadístico para la comprobación de hipótesis: En

relación al nivel de instrucción educativa y con la disminución de la concentración de enzima Acetilcolinesterasa, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna en base al análisis estadístico de chi cuadrado que a su vez tiene un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0.05$), en donde el valor de chi cuadrado de pearson calculado es de 12.679 con 3 grados de libertad y el valor de chi cuadrado de Pearson tabulado o crítico es de 7.815, por consiguiente al ser el valor calculado mayor al tabulado, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, lo que significa que si hay relación entre estas variables.

En relación al tiempo de exposición en horas por semana que los agricultores dedican a las actividades de fumigación y el nivel de la concentración de la enzima acetilcolinesterasa, se efectuó una tabla cruzada, de las variables con análisis estadístico de la prueba chi cuadrado que a su vez tiene un nivel de confianza del 95%, en donde el valor calculado de chi cuadrado es 16,389 con 2 grados de libertad y el valor de chi cuadrado tabulado es 5,992 razón por la cual al ser el valor calculado mayor al valor tabulado, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, lo que significa que si existe una relación entre estas dos variables en estudio.

Para la relación de la tercera variable que es el uso de un equipo de bioseguridad con el nivel de concentración de la enzima acetilcolinesterasa, se ha empleado del mismo modo una tabla cruzada de las variables con un análisis estadístico de la prueba de chi cuadrado, trabajada con un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0.05$), en donde se obtuvo un valor de chi cuadrado calculado de 12,542 con 1 grado de libertad y el valor de chi cuadrado tabulado de 3,842 lo que indica que el valor calculado es mayor al valor tabulado en consecuencia se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula, afirmando que existe una relación estadística entre estas dos variables.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- La investigación realizada determina que si bien es cierto el uso de plaguicidas de tipo organofosforados causa daños a la salud de los trabajadores agrícolas y más aún cuando no existe los conocimientos para el correcto uso y manejo de estos compuestos, se evidenció la disminución de la concentración de la enzima acetilcolinesterasa en doce agricultores de nuestra muestra en estudio, aunque mediante cálculos estadísticos no fueron datos estadísticamente significativos se conoció que si existe alteraciones en el estado de salud de los agricultores.
- Posterior a nuestra investigación podemos concluir que la correlación entre el nivel de instrucción educativa y la disminución de la concentración de la enzima colinesterasa, si guardan una relación directa entre sí, debido a que se observó que los agricultores que no han recibido una instrucción educativa fueron los más vulnerables es por esta razón que mientras más educación o conocimientos tenga un agricultor del correcto uso y manejo de plaguicidas el riesgo a sufrir una intoxicación por estos productos puede ser menor.
- En virtud a los resultados obtenidos podemos concluir que el número de horas de exposición a plaguicidas por semana guarda relación con la disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa de modo que se relaciona que mientras más horas a la semana fumigue un agricultor es más susceptible a presentar alteración o cambio en el estado de salud.
- Dentro del análisis realizado a cerca de la falta de uso de equipos de bioseguridad por parte de los agricultores en las actividades de fumigación pudimos concluir que este representa uno de los principales factores de riesgo para intoxicación por plaguicidas, debido a que no existe al menos una barrera de protección para impedir la absorción de los compuestos al interior del organismo.

- En base a la investigación realizada y tomando en cuenta el análisis de los principales marcadores hepáticos podemos concluir que el contacto con plaguicidas de tipo organofosforados no generó signos de hepatotoxicidad dentro de los agricultores de nuestra muestra estudiada, pese a que en una exposición prolongada al compuesto si puede presentar alteraciones en la funcionalidad hepática.

4.2 Recomendaciones

- Realizar cursos dirigido a agricultores de zonas vulnerables, en donde se pueda compartir conocimientos de prácticas correctas en la agricultura, debido a que existe una cantidad considerable de agricultores que no tienen conocimientos acerca del uso y manejo correcto de plaguicidas, lo cual evidencia daños en la salud de los trabajadores.
- Organizar brigadas médicas con especialidades básicas que puedan ayudar a los agricultores que no tienen acceso a un centro de salud u hospital, para así poder identificar a tiempo factores de riesgo para una posible intoxicación por plaguicidas en este caso de tipo organofosforados que tienen efectos deletéreos en la salud humana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Bibliografía

- Bev-Lorraine True, Manual de toxicología clínica de Dreisbach. 7ª. Edición. México: Manual Moderno Editorial;2003. Pág.107 (17)
- Bolognesi c, parrinni m, merlo f, bonassi s.frequency of micronuclei in lymphocytes from a group of floriculturists exposed to pesticides.journal of toxicology and environmental health1993;40 (2-3) (20)
- Darío Córdova. Toxicología. 5ª. Edición. Bogotá-Colombia: Manual Moderno Editorial;2006. Págs.121-122. (15)
- Faustiño Menéndez. Higiene Industrial-Manual para la formación del especialista. 5ta. Edición. España: Lex NOVA Editorial; 2006. Pág.461. (19)
- Laura Börgel, Jorge Brantes, Gloria Briones-Organización Panamericana de la Salud. Protocolos para el manejo del paciente intoxicado. Única Edición. Chile: Paltex Editorial;2001. Pág.108 (16)
- Ricardo Rozo, Toxicología-Prácticas y Procedimientos. 1era. Edición. vol. 2. Tomo IV. Colombia: EML Editorial;2004. Pág.84 (18)

Linkografía

- Alba Ruth Blanco et al. Rev. Ciencia y Tecnología N°19. Actividad de la colinesterasa total en pobladores que utilizan plaguicidas en La Brea Leparique durante el año 2015. [Internet] 2016.Disponible en: <https://lamjol.info/index.php/RCT/article/view/4276> (7)
- Ángela Grillo Pizarro et al. Rev Esp Salud Pública. Exposición a plaguicidas organofosforados y polineuropatía periférica en trabajadores de la región del Maule, Chile [Internet].2018; 92:10. Disponible en:<https://medes.com/publication/134483> (9)
- Bibiana M. Toro-Osorio et al. Rev Esp Salud Pública. Niveles de colinesterasa sérica en caficultores del Departamento de Caldas, Colombia. [Internet].2017; 19 (3): 318-324. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revsaludpublica/article/view/52742> (4)

- Daniel G Fernández et al. Intoxicación por organofosforados. Revista Med. Scielo [Internet]. 15-Junio-2010.Vol 1. 18(1):84-92. Disponible en : <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.scielo.org.co/pdf/med/v18n1/v18n1a09.pdf> (1)
- Guidelines for Legislation on the Control of Pesticides.Food and Agriculture Organization of the United Nations.1989. Disponible en: <http://www.fao.org/AG/AGP/AGPP/Pesticid> (2)
- WHO.Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture. Ginebra: WHO 1990. Disponible en: <http://www.who.int/theli/risk/toxics/chemical/en/index.html> (3)
- Juan M Ospina et al. Rev. Salud Publica. Intervención Educativa Sobre Conocimientos Y Practicas Referidas A Los Riesgos Laborales En Cultivadores De Papa En Boyacá, Colombia. [Internet]. 11 (2): 182-190, 2009.Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revsaludpublica/article/view/10271> (12)
- Kori RK et al. J Biochem Mol Toxicol Rev. Cholinesterase inhibition and its association with markers of hematological, biochemical and oxidative stress in agricultural workers exposed to chronic pesticides. [Internet]. 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31332866> (5)
- Ortega Freire E et al. Asociación de la exposición ocupacional a plaguicidas organofosforados con el daño oxidativo y actividad de acetilcolinesterasa [Internet]. 2016.33:39-43. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5563847> (22)
- proyecto-de-riego-en-pillaro-aumenta-productos-de-cinco-a-80-por-ano @ www.eltelegrafo.com.ec [Internet]. Available from: <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/regional/1/proyecto-de-riego-en-pillaro-aumenta-productos-de-cinco-a-80-por-ano> (21)
- Usha Kiram Pothu et al. J Family Med PrimCare. Evaluación de los niveles de colinesterasa y perfil lipídico en personas expuestas a pesticidas crónicos. [Internet]. 2019;8(6): 2073-2078. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6618179/> (6)

- Víctor Hugo Fuentes Delgado et al. Rev. mex. cienc. farm. Hepatotoxicidad subaguda y crónica producida por el plaguicida paratión-metílico en la rata.[Internet].2011;42(3).Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952011000300007 (10)

Citas bibliográficas Base de Datos UTA

- **E-LIBRO:** Elkyn F. Amaya V. et al. NOVA - Publicación Científica EN CIENCIAS BIOMÉDICAS. Valoración de factores de riesgo asociados a los hábitos de manejo y exposición a organofosforados y carbamatos en habitantes y trabajadores de la vereda de Bateas del municipio de Tibacuy, Cundinamarca, Colombia [Internet].2008; vol. 6. (8)
- **PRO QUEST:** Sharim Marrero et al. Evaluación de la exposición a organofosforados y carbamatos en trabajadores de una comunidad agraria. [Internet]. 2017; 17(1). (11)
- **PROQUEST:** Elena Pitechart A. Desarrollo de metodología analítica para la determinación de plaguicidas organofosforados y organoclorados en muestras biológicas humanas. Universitat Jaume I. Servei de Comunicació i Publicacions. 2001-01-01.461 (23)
- **SCOPUS:** La vanguardia. La OMS pide prohibir los plaguicidas más dañinos para las personas [Internet]. publicado y revisado:11/08/2017. (13)
- **SPRINGER LINK:** Bianco, GE, Suárez, E., Cazon, L. et al. Environ Sci Pollut Res (2017) 24: 21146. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9664-3> (24)
- **SPRINGER LINK:** Barrera JF (2008) Las plagas del café y su gestión. En: Capinera JL (eds) Enciclopedia de Entomología. Springer, Dordrecht (25)
- **SPRINGER LINK:** Lucchi, A. y Benelli, G. Environ Sci Pollut Res (2018) 25: 13439. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1919-0> (26)

ANEXOS

Anexo 1. Encuesta formulada a los agricultores expuestos a organofosforados de la parroquia San Miguelito del cantón Píllaro.

FORMULARIO PARA EVALUAR LA SALUD DE POBLACIONES VULNERABLES A EXPOSICIÓN POR PLAGUICIDAS

Código de encuesta _____ Cantón: _____ Parroquia: _____

1. DATOS SOCIO DEMOGRÁFICOS

- 1) Apellido y Nombre: _____ Peso: 86 Kg. Talla: 175 cm. IMC: 40.9
- 2) Edad 40 años
- 3) Desde que edad se dedicó a la agricultura? 20 años
- 4) Máximo nivel de Instrucción alcanzado: 3.Superior 2.Secundario 1.Primaryo 0.Ninguno
- 5) Estado civil: 1.Casado 2.Viudo 3. Divorciado 4.Soltero
- 6) Número de Hijos: 2
- 7) Algún hijo padece alguna enfermedad? 1.Si 2.No Cual? _____
- 8) Alguien de sus familiares padece alguna enfermedad? 1.Si 2.No Cual? _____
- 9) Alguien de sus familiares murió con cáncer? 1.Si 2.No Quién? _____

2. ANTECEDENTES PERSONALES y FAMILIARES

	Si	No
1. Toma alcohol?	<input checked="" type="checkbox"/>	
2. Fuma?		<input checked="" type="checkbox"/>
3. Hubo abortos en la familia?		<input checked="" type="checkbox"/>
4. Algún miembro familiar presenta malformaciones (discapacidad)?		<input checked="" type="checkbox"/>

- 9) Con qué frecuencia consume alcohol: 3. Todos los días 2. 1vez/semana 1. 1vez/mes 0.Nunca
- 10) Su estado de salud es: 4.Malo 3.Regular 2.Bueno 1.Muy bueno 0.Excelente
- 11) Presenta o presentó alguna de las siguientes enfermedades?

Enfermedades	SI	NO
1.Diabetes		<input checked="" type="checkbox"/>
2.Presión elevada		<input checked="" type="checkbox"/>
3.Problemas en la piel		<input checked="" type="checkbox"/>
4.Neumonía, Asma o Bronquitis		<input checked="" type="checkbox"/>
5.Enfermedades del corazón		<input checked="" type="checkbox"/>
6.Cáncer		<input checked="" type="checkbox"/>
7.Problemas del riñón		<input checked="" type="checkbox"/>
8.Hepatitis		<input checked="" type="checkbox"/>
9.Tiroides		<input checked="" type="checkbox"/>
10.Temblores involuntarios (Parkinson)		<input checked="" type="checkbox"/>

- 12) En el último mes ha presentado alguno de los siguientes síntomas?

	SI	NO
1.Cansancio excesivo	<input checked="" type="checkbox"/>	
2.Dolor de cabeza con una sensación de pesadez	<input checked="" type="checkbox"/>	
3.Alteraciones del sueño	<input checked="" type="checkbox"/>	
4.A veces siente una profunda tristeza	<input checked="" type="checkbox"/>	
5.Cambio de carácter	<input checked="" type="checkbox"/>	
Dermatológicos	SI	NO
6.Suda mucho	<input checked="" type="checkbox"/>	
7.Picazón en la piel	<input checked="" type="checkbox"/>	
8.Manchas en piel	<input checked="" type="checkbox"/>	
9.Enrojecimiento de la piel	<input checked="" type="checkbox"/>	
Neurológicos	SI	NO
10.Mareos o vértigo	<input checked="" type="checkbox"/>	
11.Temblores en las piernas	<input checked="" type="checkbox"/>	
12.Hormigueos en el cuerpo	<input checked="" type="checkbox"/>	
13.Nerviosismo	<input checked="" type="checkbox"/>	
14.Se olvida con facilidad	<input checked="" type="checkbox"/>	
15.Dificultad para caminar	<input checked="" type="checkbox"/>	
16.Debilidad muscular	<input checked="" type="checkbox"/>	

17. Dificultad en el lenguaje		X
18. Dificultad para concentrarse	X	
Oculares	SI	NO
19. Visión borrosa		X
20. Lagrimeo o irritación		X
21. Disminución de la visión		X
22. Picazón en los ojos	X	
23. Enrojecimiento.	X	
Cardiorrespiratorios	SI	NO
24. Palpitaciones rápidas	X	
25. Dolor de pecho	X	
26. Tiene dificultades para respirar	X	
27. Tos		X
Gastrointestinales	SI	NO
28. Salivación excesiva		X
29. Molestias de la garganta		X
30. Náuseas	X	
31. Vómitos		X
32. Dolor de estómago		X
33. Diarrea		X
34. Estreñimiento		X
35. Ardor en el estómago		X
Urinarios	SI	NO
36. Molestias al orinar		X
37. Disminución de la orina	X	
38. Aumento de la orina		X
39. Hinchazón de brazos y piernas	X	

III. DATOS TOXICOLÓGICOS (Percepción de riesgo)

Señale tres plaguicidas que usa con mas frecuencia

1	2	3
Sulfato de cobre	Magnesio	Enefes

Cuál es la dosis de plaguicida que emplea por hectárea de cultivo?: 2 fundas por 1 tanque

Cuál es la cantidad de terreno que fumiga? 1 cuadro





Cuántas fumigaciones realiza al año? 2

Cuando fumiga, cuántas horas por día lo dedica a fumigar? 1

La última vez que fumigó fue La semana pasada

La peligrosidad de un plaguicida lo identifica por:	3. Olor del producto	1. Color de la etiqueta	0. Nombre del producto	2. Desconoce
		X		

Utiliza un equipo de protección a la hora de fumigar?	0. Si	1. No
	X	

Señale si alguno de estos equipos emplea durante la fumigación	 1. Mascarilla	 1. Gafas	 1. Guantes	 1. Camisa manga larga	2. Ninguno de los anteriores
	X		X	X	

Si al momento de preparar el producto, este se derrama, Usted	2. No hace caso y sigue trabajando	1. Limpia con abundante agua	0. Lo recoge y entierra
		X	

Los plaguicidas comprados o sobrantes en donde lo guarda?	1. Dentro de casa	0. En una bodega lejos de la casa	1. En el lugar donde guardo los animales	1. En la misma bomba
		X		

Después de aplicar el plaguicida usted	2.Se lava las manos	1.Se da un baño completo	0.Se da un baño completo y lava la ropa utilizada, usando guantes para el lavado	3.Primeramente se alimenta y luego se da un baño
	<input checked="" type="checkbox"/>			

Los envases de los plaguicidas que ya están vacíos, usted	3.Lo vuelve a emplear en casa para coger agua, maceteros, etc.	2.Le tira a la basura común	1.Lo entierra	0.Lo quema lejos de la casa
		<input checked="" type="checkbox"/>		

Percepción/Riesgo	Si	No
1.Recibe advertencias sobre el peligro de los plaguicidas	<input checked="" type="checkbox"/>	
2.Ha comprado alguna vez un plaguicida sin etiqueta?	<input checked="" type="checkbox"/>	
3.Conoce las condiciones adecuadas de almacenamiento de plaguicidas?	<input checked="" type="checkbox"/>	
4.Cualquier miembro de la familia puede usar el plaguicida?		<input checked="" type="checkbox"/>
5.Acostumbra leer la etiqueta de los envases?	<input checked="" type="checkbox"/>	
6.Sabe usted si alguien se ha enfermado por el uso indebido de plaguicidas ?	<input checked="" type="checkbox"/>	
7.Cree que un plaguicida puede ingresar al organismo a través de la piel?	<input checked="" type="checkbox"/>	
8.Todos los plaguicidas que ocupo son buenos para matar plagas		<input checked="" type="checkbox"/>
9.Cree que los plaguicidas dañan el ambiente	<input checked="" type="checkbox"/>	
10.Ha percibido la ausencia de aves e insectos como abejas y mariquitas?	<input checked="" type="checkbox"/>	
11.Emplea los plaguicidas para aumentar la producción?	<input checked="" type="checkbox"/>	
12.Regresaría a las actividades antiguas como: hacer que el terreno descansa 1 año, no sembrar un solo producto, no usar plaguicidas?	<input checked="" type="checkbox"/>	

Señale el **orden** en que realiza las siguientes actividades **después de fumigar**, desde la hasta la última :

5.Descanso 4.Me alimento 2.Me lavo las manos 3. Me cambio de ropa 1.Lavo el tanque

Gracias por su colaboración 😊

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

He sido invitado a participar en la investigación "Efecto de plaguicidas en la salud de la población". Entiendo que se realizará un análisis de mi muestra de sangre, análisis neurológico, para identificar posibles problemas en mi salud. He sido informado de que no existe ningún riesgo, y que el beneficio que obtendré es enterarme del estado de mi salud. Que el costo de los análisis son completamente gratuitos, y que se guardará absoluta reserva de mi identidad. Por tanto consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante.

Nombre del Participante

[Redacted]

Firma del Participante

[Redacted]

Teléfono ó Email de Contacto para la entrega de resultados

[Redacted]

Anexo 2. Consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad Técnica de Ambato.

COMITÉ DE BIOÉTICA PARA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS CBISH-FCS-UTA

F C S
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

Consentimiento informado para recolección, y uso de muestras biológicas y datos personales

Título del estudio: Evaluación de riesgo - Biomarcadores de efecto

A) Hoja de información:

Le estamos pidiendo que autorice la recolección y uso de una muestra de sangre para la evaluación de riesgo por exposición a contaminantes (plaguicidas).

Su participación es completamente voluntaria; puede aceptar participar o no en el estudio, sin que ello provoque inconveniente alguno.

Lea toda la información que se le ofrece en este documento y haga todas las preguntas que necesite al investigador que se lo está explicando, antes de tomar una decisión. También lo alentamos a consultarlo con su familia, amigos y médicos de cabecera.

- 1) **¿Por qué se realiza este estudio?** El propósito de esta investigación es para evaluar su estado de salud, pues al utilizar productos químicos como los plaguicidas su salud podría verse afectada
- 2) **¿Qué pasará si participo de esta parte del proyecto de investigación?** Luego de que firme este Consentimiento Informado: Usted tiene derecho sobre los resultados de los análisis clínicos que se le va a realizar, y una explicación de los mismos en relación a los valores referenciales
 - a) Le sacaremos 5 ml de sangre en una sola oportunidad a través de la punción de una vena del brazo.
- 3) **¿Qué estudios harán con mis datos/muestras?** En la muestra de sangre se evaluará biometría hemática, perfil hepático y colinesterasas.
- 4) **¿Qué riesgos podría tener si participo?** Los riesgos asociados con la toma de muestras de sangre de su brazo son el dolor momentáneo y la posibilidad de un hematoma (moretón) en la zona de la extracción.
- 5) **¿Cuánto tiempo me tomará participar en esta parte del estudio?** Solo 5 minutos mientras se le toma la muestra
- 6) **¿Tendré beneficios por participar?** Si, podrá conocer el estado de su salud. En caso de que la misma esté afectada se le remitirá al médico de la Universidad ó de la Unidad de Salud de la parroquia ó cantón en el que usted vive.
- 7) **¿Me darán información sobre los resultados del estudio, luego de su finalización?** Se le entregarán todos los resultados de los análisis.
- 8) **¿Qué gastos tendré si participo del estudio?** Ud. no tendrá ningún gasto relacionado a los procedimientos y materiales necesarios para esta investigación.
- 9) **¿Cómo mantendrán la confidencialidad de mis datos/muestras?** Sus datos estarán codificadas/os, lo que hace que Ud. permanezca anónimo.
- 10) **¿Quiénes tendrán acceso a mis datos personales?** Solo el investigación tendrá acceso a los resultados de sus estudios.
- 11) **¿A quiénes puedo contactar si tengo dudas sobre el estudio y mis derechos como participante en un estudio de investigación?**

COMITÉ DE BIOÉTICA PARA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS CBISH-FCS-UTA

FCS
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

Contactar al Investigador Principal o al tutor del mismo Mg. Carmen Viteri - Cel:0996619994

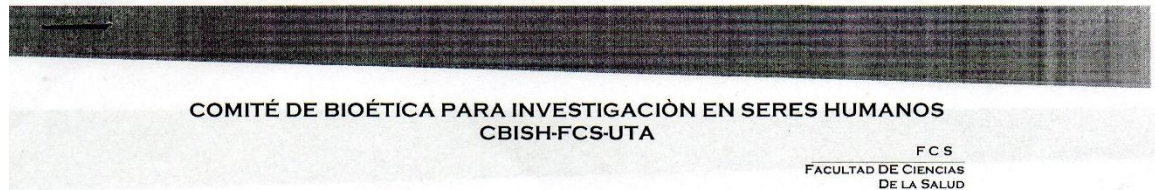
B) Consentimiento Informado

He recibido una explicación satisfactoria sobre el procedimiento del estudio, su finalidad, riesgos, beneficios y alternativas. Presto mi consentimiento para el procedimiento propuesto y conozco mi derecho a retirarlo cuando lo desee, con la única obligación de informar mi decisión al responsable del estudio.

Firma
Nombre
CI

Fecha: ____ de Julio del 2018

Anexo 3. Aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Técnica de Ambato.



INFORME DE EVALUACIÓN

DATOS DE LA INVESTIGACION	
Nombre del Proyecto de Investigación:	" MEDIDORES BIOQUIMICOS PARA INTOXICACION EN AGRICULTORES EXPUESTOS A ORGANO FOSFORADOS EN LA PARROQUIA SAN MIGUELITO DEL CANTON PILLARO"
Nombre de la o las Institución Vinculada: (Institución a la que pertenece)	Universidad Técnica de Ambato
Nombre de Investigador Principal:	Paulina Del Carmen Yáñez Toapanta
Fecha y lugar de la decisión:	Ambato 19 de Agosto del 2019
Nombre del CEISH evaluador:	CBISH – FCS -UTA
Fecha de registro de solicitud de aprobación de estudios observacionales o ensayo clínico	10 de Julio del 2019

TIPO DE EVALUACIÓN (escoja una o varias opciones)	
Proyecto de investigación:	X
Manual de investigación:	
Enmienda al protocolo de investigación	
Enmienda al manual de investigador	
Consentimiento informado	x
Ampliaciones o modificaciones adicionales	
Informe de eventos adversos	
Informe de futilidad	
Cambios administrativos	
Reportes internacionales de seguridad	
Informe de seguimiento	
Informe final	
Otros (detallar)	

**COMITÉ DE BIOÉTICA PARA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS
CBISH-FCS-UTA**

FCS
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

ASPECTOS ÉTICOS			
PARÁMETRO	EVALUACIÓN		CRITERIO
	Adecuado	No adecuado	
Justificación del estudio	X		
Tipo de intervención en el estudio	-		
Participación voluntaria en el estudio	X		
Derecho a retirarse del estudio	X		
Responsabilidades del participante	X		
Responsabilidades del investigador	x		
Riesgos para los sujetos de la investigación	X		
Beneficios potenciales para los sujetos de la investigación	X		
Inclusión de poblaciones vulnerables	x		
Criterios de inclusión y exclusión de participantes	X		
Protección de confidencialidad	X		
Consentimiento informado	X		Ha sido corregido de acuerdo a las observaciones realizadas.
Manejo de muestras	X		Se ha corregido
Seguro por daños por incapacidad o muerte			No aplica por el tipo de investigación.


ASPECTOS METODOLÓGICOS (Criterio de metodología usada en estudio)
Las recomendaciones han sido consideradas y se han realizado las correcciones respectivas
ASPECTOS LEGALES (Criterio de consideración y cumplimiento de aspectos legales del Ecuador)
Ninguna Observación

**COMITÉ DE BIOÉTICA PARA INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS
CBISH-FCS-UTA**

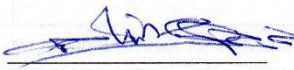
FCS
FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA SALUD

RESOLUCIÓN	
Aprobado	. Una vez realizados los cambios de acuerdo a las correcciones sugeridas, se aprueba el proyecto y puede continuar el trabajo
Condicionado	
No aprobado	

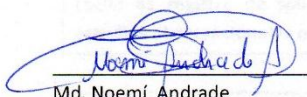
Atentamente



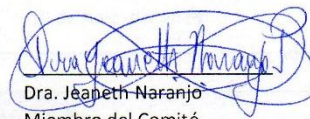
Dra. Aída Aguilar
Presidente de Comité



PsCl. Carolina García
Secretario de Comité



Md. Noemí Andrade
Miembro del Comité



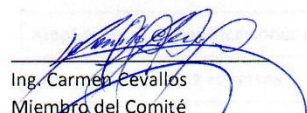
Dra. Jeaneeth Naranjo
Miembro del Comité



Dra. María Dolores Villagómez
Miembro del Comité



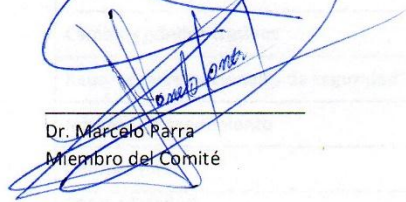
Ing. Carmen Viteri
Miembro del Comité



Ing. Carmen Cevallos
Miembro del Comité

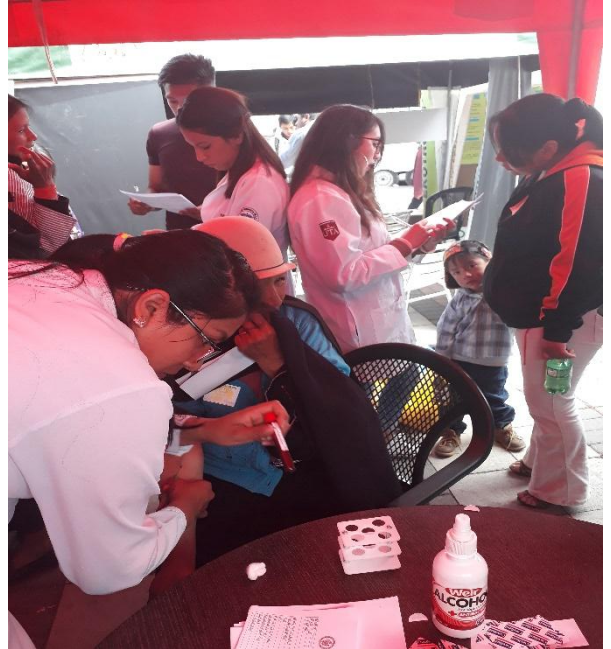


Dr. Patricio Villacís
Miembro del Comité



Dr. Marcelo Parra
Miembro del Comité

Anexo 4. Toma de muestras a los agricultores en Día Internacional de la Papa, realizado en la explanada de la Municipalidad de Ambato.



Anexo 5. Equipos de laboratorio utilizados para el análisis de las muestras.



- Sysmex kx21 (Biometría Hemática)



- Centrifuga de 8 tubos



- HumaLyzor 3000 chemistry analyzer (Química Sanguínea)

Anexo 6. Insertos de las pruebas bioquímicas realizadas en las muestras de sangre obtenidas de los agricultores expuestos a organofosforados de la parroquia San Miguelito del canton Pillaro.

GOT (ASAT) IFCC mod.

Prueba liquiUV

Aspartato aminotransferasa (EC 2.6.1.1)

Presentación del estuche

[REF]	12211	16 x 5 ml	Estuche MI-Test completo
	12011	10 x 10 ml	Estuche completo
	12001	8 x 50 ml	Estuche completo
	12001	4 x 250 ml	Estuche completo

[TVE]

Método¹

Método clínico para la determinación de la actividad de ASAT de acuerdo a las recomendaciones del panel de expertos de la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica) sin activación por piridoxalfofosfato.

Principio de la reacción



Contenidos

[REF]	12211	12011	12001	12001
[QU]	50 x 4 ml	50 x 8 ml	8 x 40 ml	4 x 200 ml
[QU]	1 x 16 ml	2 x 10 ml	8 x 10 ml	4 x 50 ml
[QU]	Buffer / reactivo enzimático			
	Buffer TRIS (pH 7,8)			100 mmol/l
	L-aspartato			300 mmol/l
	LDH			≥ 0,9 U/LM
	MDH			≥ 0,5 U/LM
[QU]	Substrato			
	2-oxoglutarato			60 mmol/l
	NADH			0,9 mmol/l

Preparación de reactivos y estabilidad

Procedimiento 1, partida con sustrato

Los reactivos están listos para usar.

Los reactivos son estables, aún después de abiertos, hasta su fecha de caducidad cuando se almacenan a 2...8°C protegidos de la luz. Evitar la contaminación.

Procedimiento 2, partida con muestra

[REF] 12011 y 12001: Poner el contenido de un frasco [QU] en un frasco [QU], mezclar cuidadosamente.

[REF] 12211: Pipetear 1 ml del frasco [QU] en un frasco [QU] respectiva, mezclar cuidadosamente.

[REF] 12011: Pipetear 2 ml del frasco [QU] en un frasco [QU] respectiva, mezclar cuidadosamente.

El reactivo de trabajo es estable 4 semanas a 2...8°C y 6 días a 15...20°C.

Muestras

Suero, plasma con heparina o EDTA.

Evitar la hemólisis!

Disminución de la actividad a los 3 días

a +4°C - 8%
a 20...25°C - 10%

Ensayo

Longitud de onda: Hg 365 nm, 340 nm ó Hg 324 nm

Peso de luz: 1 cm

Temperatura: 25°C, 30°C o 37°C

Medición: Frente al aire (disminución de la absorbancia)

Levar los reactivos y las cubetas a la temperatura deseada. La temperatura debe permanecer constante ($\pm 0,2^\circ\text{C}$) durante la prueba.

Procedimiento 1²

Pipetear en cubetas	25°C, 30°C	37°C
Muestra	200 μl	100 μl
[QU]	1000 μl	1000 μl
Mezclar, incubar por 5 minutos a la temperatura deseada		
[QU]	250 μl	250 μl
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 minuto y al mismo tiempo activar el cronómetro. Leer nuevamente la absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 minutos.		

Procedimiento 2³

Pipetear en las cubetas	25°C, 30°C	37°C
Muestra	200 μl	100 μl
Reactivo de trabajo	1000 μl	1000 μl
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 minuto y al mismo tiempo activar el cronómetro. Leer nuevamente la absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 minutos.		

³Método simplificado para métodos de muestra multiplicar valores por 2.

Cálculos

Para cambios de absorbancia por minuto ($\Delta\text{A}/\text{min}$) de 0,06 a 0,56 (Hg 365 nm) ó de 0,12 a 0,16 (Hg 324 nm, 340 nm) (procedimiento 1-2) solo emplear la medición de los 2 primeros minutos en el cálculo (1 minuto de incubación, 2 minutos de medición).

[U] = $\Delta\text{A}/\text{min}$ a	partida con muestra		partida con sustrato	
	25°C, 30°C	37°C	25°C, 30°C	37°C
Hg 324 nm	671	1780	1173	2184
340 nm	652	1745	1151	2143
Hg 365 nm	1785	3235	2132	3971

Factor de conversión de unidades tradicionales U/L a unidades SI, test:
 1 U/L = $16,67 \times 10^3$ $\mu\text{kat/l}$
 1 $\mu\text{kat/l}$ = 60 U/L

Características de la ejecución

Líneaalidad

Si la diferencia de absorbancia por minuto ($\Delta\text{A}/\text{min}$) ó la actividad excede

Longitud de onda (nm)	$\Delta\text{A}/\text{min}$	25°C, 30°C [U/L]	37°C [U/L]
Hg 365	0,060	170	320
Hg 324/340	0,150	190	350

añadir 0,1 ml de muestra con 0,9 ml de solución salina fisiológica (NaCl 0,9%) y repetir el ensayo usando esta dilución. Multiplicar el resultado por 10.

En sueros con muy alta actividad, la absorbancia inicial puede ser muy bajo dado que la mayor parte del NADH ya puede haberse consumido antes de la primera lectura. En este caso, diluir la muestra como descrito antes.

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía

www.human.de/data/got/uv-test-got1.pdf

www.human.de/com/cata/got/uv-test-got1.pdf

Valores de referencia^{4,5}

Temperatura	25°C	30°C	37°C	IFCC ⁶
Hombres hasta	18 U/L	25 U/L	37 U/L	35
Mujeres hasta	15 U/L	21 U/L	31 U/L	31

⁴ con activación por piridoxalfofosfato

Control de calidad

Pueden ser empleados todos los sueros control con valores de GOT determinados por este método.

Normalmente recomendamos el uso de nuestro suero de origen animal HUMATROL ó nuestro suero de origen humano SERRODOL como control de calidad.

Automatización

Proposiciones para la aplicación de los reactivos sobre analizadores están disponibles sobre demanda. Cada laboratorio tiene que validar la aplicación en su propia responsabilidad.

Notas

[QU] y [QU] contienen ácido de sodio (0,09%). No ingerirlos. Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.

Literatura

1. Clin. Chim. Acta 70, 19-40 (1976)
2. Synopsis der Leberkrankheiten; H. Walthoff, E. Schmidt und F.W. Schmidt, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974
3. Threlkelt, W. et al.; Deuts. med. Wochschr. 89, 343 (1964)
4. Schumann, G. et al.; Clin. Chem. Lab. Med. 40, 726-730 (2002)
5. Schumann, G., Klaus, R.; Clin. Chim. Acta 287, 69-76 (2000)
6. Fischbach, F., Zandt, B.; Klin. Lab. 28, 650-661 (1982)

EN 0076-1
 REF 12211/101/0
 12-2006-10



HUMAN

GPT (ALAT) IFCC mod.

Prueba liquiUV

Alanina aminotransferasa (EC 2.6.1.2)

Presentación del estuche

REF	12212	16 x 5 ml	Estuche M-test completo
	12012	10 x 10 ml	Estuche completo
	12022	8 x 50 ml	Estuche completo
	12032	4 x 250 ml	Estuche completo

IVD

Método¹

Método clínico para la determinación de la actividad de la ALAT (GPT) de acuerdo a las recomendaciones del panel de expertos de la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica). Sin activación por piridoxalfato.

Principio de la reacción



Contenido

REF	12212	12012	12022	12032
REF	16 x 4 ml	10 x 8 ml	8 x 40 ml	4 x 200 ml
REF	1 x 16 ml	2 x 10 ml	8 x 10 ml	4 x 50 ml
REF	Buffer / Reactivo analítico			
	Buffer TRIS (pH 7,5)			150 mmol/l
	L-alanina			750 mmol/l
	LDH			> 1,2 U/l
REF	Substrato			
	2-oxoglutarato			90 mmol/l
	NADH			0,9 mmol/l

Preparación del reactivo y estabilidad

Procedimiento 1; partida con sustrato

Los reactivos están listos para el uso.

Los reactivos son estables, aún después de abiertos, hasta su fecha de caducidad cuando se almacenan de 2...8°C protegidos de la luz.

Evitar la contaminación del reactivo!

Procedimiento 2; partida con muestra

REF 12032 y 12022: Poner el contenido de un frasco **REF** en un frasco **REF**, mezclar cuidadosamente.

REF 12212: Pipetear 1 ml del frasco **REF** en un frasco **REF** respectiva, mezclar cuidadosamente.

REF 12012: Pipetear 2 ml del frasco **REF** en un frasco **REF** respectiva, mezclar cuidadosamente.

El reactivo de trabajo es estable 4 semanas de 2...8°C; 5 días de 15...25°C.

Muestras

Suero, plasma con heparina ó con EDTA.

Evitar la hemólisis!

Disminución de la actividad con 3 días: a +4°C: ~ 10%
a 20...25°C: ~ 17%

Ensayo

Longitud de onda: Hg 365 nm, 340 nm, ó Hg 334 nm

Pase de luz: 1 cm

Temperatura: 25°C, 30°C ó 37°C

Medición: Frente a aire. (eliminación de la absorbancia)

Llevar los reactivos y cubetas a la temperatura deseada. La temperatura debe permanecer constante ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) durante la prueba.

Procedimiento 1²

Pipetear en cubetas	25°C, 30°C	37°C
Muestra	200 μl	100 μl
REF	1000 μl	1000 μl
Mezclar, incubar por 5 minutos a la temperatura deseada		
REF	250 μl	250 μl
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 minuto y al mismo tiempo activar el cronómetro. Leer nuevamente la absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 minutos.		

Procedimiento 2³

Pipetear en las cubetas	25°C, 30°C	37°C
Muestra	200 μl	100 μl
Reactivo de trabajo	1000 μl	1000 μl
Mezclar, leer la absorbancia después de 1 minuto y al mismo tiempo activar el cronómetro. Leer nuevamente la absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 minutos.		

³ Método semi micro; para método macro multiplicar los volúmenes por 2.

Cálculos

Para cambios de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$) entre 0,05-0,08 (Hg 365 nm) ó de 0,13-0,16 (Hg 334 nm, 340 nm) emplear la medición de los 2 primeros minutos en el cálculo. (1 minuto de incubación, 2 minutos de medición).

UI = $\Delta A/\text{min} \times$	partida con muestra		partida con sustrato	
Longitud de onda	25°C, 30°C	37°C	25°C, 30°C	37°C
Hg 334 nm	971	1780	1173	2184
340 nm	982	1745	1151	2143
Hg 365 nm	1785	3235	2132	3671

Factor de conversión de unidades tradicionales UI en unidades SI katl

$$1 \text{ UI} = 16,67 \times 10^{-3} \mu\text{katl}$$

$$1 \mu\text{katl} = 60 \text{ UI}$$

Características de la ejecución

Linealidad

Si la diferencia de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$) o la actividad excede

Longitud de onda [nm]	$\Delta A/\text{min}$	25°C, 30°C [UI]	37°C [UI]
Hg 365	0,080	170	320
Hg 334/340	0,160	180	350

diluir 0,1 ml de la muestra con 0,9 ml de solución salina fisiológica (NaCl 0,9%) y repetir el análisis usando esta dilución. Multiplicar el resultado por 10.

En sueros con muy alta actividad, la absorbancia inicial puede ser muy bajo dado que la mayor parte del NADH ya puede haberse consumido antes de la primera lectura. En este caso, diluir la muestra como descrito antes.

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible via www.human.de/data/gb/vr/en-gpfl.pdf ó www.human-de.com/data/gb/vr/en-gpfl.pdf

Valores de referencia^{4,5}

Temperatura	25°C	30°C	37°C	IFCC ⁶
Hombres hasta	22 UI	30 UI	42 UI	48 UI
Mujeres hasta	17 UI	23 UI	32 UI	34 UI

⁷ con activación por piridoxalfato

Control de calidad

Todos los sueros controles con valores de GPT determinados por este método pueden ser empleados.

Recomendamos el uso de nuestro suero de origen animal HUMATROL ó nuestro suero de origen humano SERODOS como control de calidad.

Automatización

Proposiciones para la aplicación de los reactivos sobre analizadores están disponibles sobre demanda. Cada laboratorio tiene que validar la aplicación en su propia responsabilidad.

Nota

REF y **REF** contienen ácido de sodio (0,065%). No ingerir. Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.

Literatura

1. Clin. Chim. Acta 195, 147-172 (1980)
2. Synopsie der Leberkrankheiten: H. Walthers, E. Schmidt und F.W. Schmidt, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974
3. Thefeld, W.-et al; Dtsch. med. Wschr. 99, 343 (1974)
4. Schumann, G. et al., Clin. Chem. Lab. Med. 40, 725-733 (2002)
5. Schumann, G., Klauke, R., Clin. Chim. Acta 327, 69-79 (2003)
6. Fischbach, F., Zavita, B., Klin. Lab. 38, 555-561 (1992)

EN-GPTLI
REF 12212/12012 II
09-2006-10



human

Human Gesellschaft für Biochemie und Diagnostik mbH
Max-Planck-Ring 21 • D-66226 Wiesbaden • Germany
Telefon: +49-6122 9988-0 • Telefax: +49-6122 9988-100 • eMail: human@human.de

BILIRUBIN D+T liquicolor

Prueba fotométrica para bilirrubina directa (D) y bilirrubina total (T)
Método modificado Jendrassik/Gróf

Presentación del estuche

REF 10740 2 x 100 ml Estuche completo
IND

Principio de la reacción

La bilirrubina reacciona con el ácido sulfanílico diazotado (DSA) formando un color rojo. La absorbancia de este color a 546 nm es directamente proporcional a la concentración de bilirrubina en la muestra. Los glucuronidos de la bilirrubina solubles en agua reaccionan directamente con DSA mientras la bilirrubina "indirecta" conjugada con albúmina reacciona sólo en la presencia de un acelerador.

Bilirrubina total = Bilirrubina directa + Bilirrubina indirecta

Ácido sulfanílico + nitró de sodio → DSA
Bilirrubina + DSA directa → azobilirrubina DIRECTA
Bilirrubina + DSA + acelerador → azobilirrubina TOTAL

Contenido

TBR	1 x 100 ml Reactivo de bilirrubina total (tapa blanca)	
	Ácido sulfanílico	14 mmol/l
	Ácido clorhídrico	300 mmol/l
	Cafeína (acelerador)	200 mmol/l
	Benzato de sodio	420 mmol/l
TNR	1 x 8 ml Reactivo T-nitró (tapa blanca)	
	Para la determinación de bilirrubina total	
	Nitró de sodio	360 mmol/l (N, R 22)
DRD	1 x 100 ml Reactivo de bilirrubina directa (tapa azul)	
	Ácido sulfanílico	14 mmol/l
	Ácido clorhídrico	300 mmol/l
DRR	1 x 8 ml Reactivo D-nitró (tapa azul)	
	Para la determinación de bilirrubina directa	
	Nitró de sodio	25 mmol/l

Preparación y estabilidad de los reactivos

Ambos reactivos y las soluciones de nitró están listos para su uso. Ambos reactivos y las soluciones de nitró son, aún después de haberse abierto, hasta la fecha de caducidad y almacenados de 15...25°C. Debe evitarse la contaminación.

Muestras

Suero o plasma con heparina.
Evitar la hemólisis! Las muestras deben estar protegidas de la luz.
Estabilidad: Cuando se almacena la muestra protegida de la luz de 2...8°C la bilirrubina es estable por 3 días.

Ensayo

Longitud de onda: 546 nm
Peso de luz: 1 cm
Temperatura: 20...25°C
Medición: Frente a un blanco de muestra.

Procedimiento

Para bilirrubina total

Pipetear en cubetas	Blanco	Muestra
TBR	1000 µl	1000 µl
TNR	—	1 gota*
Mezclar cuidadosamente, incubar de 5 minutos.		
Muestra	100 µl	100 µl
Mezclar, incubar a temperatura ambiente de 10 a 30 min. Leer la absorbancia de la muestra, frente al blanco (A ₅₄₆).		

* 1 gota = 40 µl

Para bilirrubina directa

Pipetear en las cubetas	Blanco	Muestra
DRD	1000 µl	1000 µl
DRR	—	1 gota*
Mezclar cuidadosamente, añadir muestra dentro de 2 minutos.		
Muestra	100 µl	100 µl
Mezclar, incubar a temperatura ambiente exactamente 5 min. Leer la absorbancia de la muestra frente al blanco (A ₅₄₆).		

* 1 gota = 40 µl

Cálculos

Calcular la concentración de bilirrubina total y directa usando el factor 13,6.

$C = \Delta A_{546} \times 13,6 = \text{mg/dl}$
 $(\text{mg/dl}) \times 17,1 = (\mu\text{mol/l})$

Características de la prueba

Linealidad: El ensayo es lineal hasta 25 mg/dl. Para concentraciones de bilirrubina que exceden de 25 mg/dl diluir la muestra 1+4 con solución salina fisiológica (0,9%) y repetir la prueba. Multiplicar el resultado por 5.

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía

www.human.de/data/gb/vr/ku-bld.pdf o
www.human-de.com/data/gb/vr/ku-bld.pdf

Valores de referencia

Bilirrubina total	(mg/dl)	(µmol/l)
Recién nacido, hasta	5	85,5
5 días, hasta	12	206
1 mes, hasta	1,5	25,6
Adultos, hasta	1,1	18,8
Bilirrubina directa		
Adultos, hasta	0,25	4,3

Control de calidad

Pueden ser empleados todos los sueros control con valores de bilirrubina determinados por este método.

Nosotros recomendamos el uso de nuestro suero para control de calidad de origen animal **HUMATROL**, y el suero control de origen humano **SERODOS**.

Notas

- Es importante asegurarse que el reactivo de bilirrubina y el reactivo de nitró sean muy bien mezclados antes de adicionar la muestra.
- Los niveles de bilirrubina se reducen si la muestra se expone a la luz. La hemólisis también puede causar niveles bajos de bilirrubina por un efecto inhibitorio de la hemoglobina con la reacción diazo.

Literatura

- Jendrassik, L., Gróf, P., *Biochem. Z.* **81**, 297 (1935)
- Van der Berg, A. A., Müller, P., *Biochem. Z.* **77**, 90 (1916)

30-BL07
REF 10740116
01-2004-14



Human Gesellschaft für Biochemie und Diagnostik mbH



Fosfatasas Alcalina

optimizada

Para la determinación de la actividad de fosfatasa alcalina en suero

SIGNIFICACION CLINICA

La fosfatasa alcalina es una enzima ampliamente distribuida en el organismo. Hidroliza los monoésteres del ácido ortofosfórico en medio alcalino.

En el adulto proviene en parte del hígado (fracción termoestable) y en parte del hueso, sistema reticuloendotelial y vascular (fracción termolábil), dando lugar a distintas isoenzimas. La actividad sérica de fosfatasa alcalina ósea, en condiciones normales, alcanza su mayor actividad en los niños en edad de crecimiento (llegando a triplicar los niveles del adulto) debido a que esta isoenzima se localiza en los osteoblastos (relacionados con la calcificación y formación de estructuras óseas). También es fisiológico el aumento que se produce al final del primer trimestre del embarazo, a expensas de la isoenzima placentaria que en este período alcanza niveles máximos (aproximadamente el doble de los valores normales). Entre las patologías que afectan la actividad sérica de fosfatasa alcalina, se pueden citar: carcinomas metastásicos en hígado y en hueso (productores de enzima), colestasis biliar, fenómenos osteoblásticos, trastornos de malabsorción acompañados de lesiones ulcerosas (donde la deficiencia de vitamina D produce osteomalacia con el consecuente aumento de fosfatasa alcalina ósea) e incluso lesiones en vías de reparación tales como infarto agudo de miocardio, infarto pulmonar o renal.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La fosfatasa alcalina desdobla al fenilfosfato de sodio en medio alcalino tamponado con aminometil propanol (AMP). El fenol liberado se determina por reacción con 4-aminoantipirina y ferricianuro como agente oxidante. El color desarrollado es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 520 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

- A. Reactivo A:** 4-aminoantipirina 29 mmol/l en solución de aminometil propanol 3 mol/l.
- B. Reactivo B:** fenilfosfato de sodio, 1,4 mmoles.
- C. Reactivo C:** ferricianuro de potasio, 10 mmol/l.
- S. Standard:** solución de fenol equivalente a 200 UI/l.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A; preparación: transferir el contenido del frasco de Reactivo B volcándolo directamente en el frasco de Reactivo A y mezclándolo hasta disolución completa (concentración final 14 mM). Anotar en el rótulo la fecha de preparación.

Reactivo C; preparación: disolver el contenido del envase en 500 ml de agua destilada. Rotular y colocar fecha de preparación.
Standard: listo para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Reactivo C y Standard: H301 + H311 + H331: Tóxico en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P361 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los **Reactivos Provistos** son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivo A reconstituido: estable durante 5 meses en refrigerador (2-10°C).

Reactivo C: una vez preparado es estable durante 5 meses a temperatura ambiente y al abrigo de la luz.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Valores de Blanco de reactivos mayores a 0,120 D.O. indican contaminaciones, debiéndose descartar los reactivos.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: usar únicamente suero fresco, no hemolizado.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: los anticoagulantes producen inhibición de la reacción en un 50 a 90%. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: si la determinación no puede ser efectuada en un plazo de 6 horas, la muestra debe conservarse congelada (-4°C) ya que a temperatura ambiente o en refrigerador (2-10°C) hay aumento de actividad de 30 a 50% en 24 horas.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos.
- Probeta.
- Baño de agua a 37°C.
- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 520 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (500-550 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 50 ul
- Volumen final de reacción: 3,05 ml

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Reactivo A reconstituido	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Preincubar en baño de agua a 37°C unos minutos. Luego agregar:

Suero	-	-	50 ul
-------	---	---	-------

Standard	-	50 ul	-
----------	---	-------	---

Mezclar, incubar exactamente 10 minutos (cronómetro) y agregar:

Reactivo C	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
------------	--------	--------	--------

Mezclar de inmediato cada tubo. Retirar los tubos del baño y leer en espectrofotómetro a 520 nm o en fotocolorímetro con filtro verde, llevando el aparato a cero de absorbancia con agua destilada.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 30 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Fosfatasa alcalina (U/l) = factor x (D-B)

$$\text{donde: factor} = \frac{200 \text{ U/l}}{(S-B)}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de fosfatasa alcalina, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Adultos: 68 - 240 U/l

Niños: 100 - 400 U/l

Nota: Debido al proceso osteoblástico, la isoenzima ósea se encuentra aumentada en la niñez y adolescencia (hasta los

18 años aproximadamente), proporcionando valores de fosfatasa alcalina más elevados que en los adultos, habiéndose observado valores de hasta 700 U/l en niños sin patología que justificara un origen extraóseo de la enzima. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Fosfatasa alcalina (U/l) x 0,017 = Fosfatasa alcalina (ukat/l)

LIMITACIONES DE PROCEDIMIENTO

- Ver Sustancias Interferentes conocidas en MUESTRA.
- El tiempo y la temperatura de reacción son críticos. Un minuto o un grado en exceso o en defecto pueden producir un error de $\pm 10\%$.
- Contaminación con fenol: puede provenir del material de vidrio, de otros reactivos que lo contenga, o de las cañerías de PVC que suelen utilizarse para el trasvase del agua destilada. No deben usarse frascos que hayan contenido fenol (Reactivo 1 de Uremia de Wiener lab., Kunkel fenol, etc.) para preparar el Reactivo C.
- Debe leerse un Blanco de Reactivos con cada lote de determinaciones.

PERFORMANCE

a) **Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
35 U/l	$\pm 1,75$ U/l	5,0 %
235 U/l	$\pm 5,40$ U/l	2,4 %
500 U/l	$\pm 6,00$ U/l	1,2 %

b) **Linealidad:** la reacción es lineal hasta 800 U/l. A valores mayores, debe repetirse la determinación diluyendo la muestra 1:2 ó 1:5 con solución fisiológica de modo que los valores obtenidos se encuentren dentro del rango de linealidad. El resultado obtenido debe multiplicarse por la dilución efectuada.

c) **Límite de detección:** depende del fotómetro empleado. En espectrofotómetro (a 520 nm, con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, reproducibilidad ± 2 nm, luz espuria $\leq 0,5\%$, semi ancho de banda ≤ 8 nm), para 0,001 D.O. el mínimo cambio de actividad detectable será de 1 U/l.

PRESENTACION

Equipo para 200 determinaciones (Cód. 1381003).

BIBLIOGRAFIA

- Mc Comb, R.B.; Bowers, G.N. - Clin. Chem. 18/2:97 (1972).
- Bowers, G.N.; Mc Comb, R.B. - Clin. Chem. 21/13:1988 (1975).
- Pric, C.P.; Woodmn, D.D. - Clin. Chim. Acta 35/2:265 (1971).
- Conyers, R.A.; Birkett, D.J.; Neale, F.C.; Posen, S. and Brudenell-Woods, J - Biochim. Biophys. Acta 139:383 (1987).
- Skillen, A.W.; Harrison, J. - Clin. Chim. Acta 45:287 (1973).
- Kind, P.R.; King, E.J. - J. Clin. Path. 7:322 (1954).
- Demaria, L.; Setta, F.; Lorenzo, L.E. - VIII Congreso Argentino de Bioquímica, Rev. Asoc. Bioq. Arg. 54/3 (1990).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 4th ed., 2001.

Anexo 7. Resultados de los análisis realizados en las muestras de sangre de los agricultores.

	EDAD	Ocupación	Hcto	Hb	PLAQUETAS	ACETIL COLINESTERASA EN SUERO	TGO	TGP	F. ALCALINA	BTOTAL	BDIRECTA	BINDIRECTA	Ciudad
	años		%	g/100ml	X1000/mm3	UI/L	UI/l	UI/l	UI/l	mg/dl	mg/dl	mg/dl	
1	52	Agricultura	45	15	271,000	3554	16.6	58.8	183.2	0.8	0.2	0.6	Pillaro
2	50	Agricultura	47	16.2	270,000	4274	27	22.8	169.1	0.6	0.2	0.4	Pillaro
3	59	Agricultura	45	14.8	253,000	6014	24.4	17.1	129.4	0.5	0.2	0.3	Pillaro
4	54	Agricultura	45	15	258,000	5140	27.7	33.9	129.5	0.9	0.3	0.6	Pillaro
5	59	Agricultura	44	14.6	245,000	5230	26.3	17.5	115.5	0.5	0.2	0.3	Pillaro
6	54	Agricultura	56	18.5	173,000	4678	30.6	31.8	86.2	0.5	0.2	0.3	Pillaro
7	61	Agricultura	45	14.9	225,000	4789	26.5	17.1	125.5	0.7	0.2	0.5	Pillaro
8	49	Agricultura	47	15.7	214,000	4385	39.9	66.6	123.5	0.6	0.2	0.4	Pillaro
9	40	Agricultura	39	13.5	155,000	4826	29.9	11.7	43.2	0.8	0.5	0.3	Pillaro
10	57	Agricultura	45	14.8	394,000	2316	23.1	13.3	85.9	0.7	0.2	0.5	Pillaro
11	29	Agricultura	42	13.9	251,000	2654	18.3	13.8	42.6	0.5	0.2	0.3	Pillaro
12	51	Agricultura	33	9.4	324,000	2370	18.9	13.2	81.6	0.6	0.2	0.4	Pillaro
13	62	Agricultura	47	15.7	179,000	2808	30.7	31	158.2	0.7	0.1	0.6	Pillaro
14	48	Agricultura	41	14	250,000	2565	13.3	19.1	29.6	1.3	0.4	0.9	Pillaro
15	51	Agricultura	48	16.8	158,000	4092	26	7.7	146.6	1.2	0.4	0.8	Pillaro
16	59	Agricultura	42	13.7	294,000	9969	26.9	12.3	183.5	0.5	0.1	0.4	Pillaro
17	52	Agricultura	42	13.3	204,000	3001	44.2	58.3	273.9	0.6	0.2	0.4	Pillaro

	EDAD	Ocupación	Hcto	Hb	PLAQUETAS	ACETIL COLINESTERASA EN SUERO	TGO	TGP	F. ALCALINA	BTOTAL	BDIRECTA	BINDIRECTA	Ciudad
	años		%	g/100ml	X1000/mm3	UI/L	UI/l	UI/l	UI/l	mg/dl	mg/dl	mg/dl	
18	15	Agricultura	50	16.7	225,000	2956	23	20.5	137.3	0.5	0.2	0.3	Pillaro
19	18	Agricultura	43	14.5	279,000	3024	18	16.9	118.5	0.8	0.2	0.6	Pillaro
20	60	Agricultura	44	14.7	227,000	2726	20.7	18.1	199.6	0.9	0.4	0.5	Pillaro
21	32	Agricultura	43	14.6	224,000	4693	16.7	11.5	122.9	0.8	0.2	0.6	Pillaro
22	31	Agricultura	48	16.7	296,000	5074	23.4	18.3	171.8	0.8	0.4	0.4	Pillaro
23	48	Agricultura	50	16.9	206,000	5064	12.9	9.1	143.1	0.7	0.3	0.4	Pillaro
24	25	Agricultura	48	16.6	277,000	6597	39.9	25.9	195.0	0.4	0.2	0.2	Pillaro
25	38	Agricultura	52	18.2	197,000	4201	48.4	17.0	137.0	1.6	0.8	0.8	Pillaro
26	26	Agricultura	54	19.6	180,000	6133	85.5	72.4	281.0	1.6	0.8	0.8	Pillaro
27	36	Agricultura	51	17.6	180,000	6352	26.8	23.5	179.0	0.4	0.2	0.2	Pillaro
28	25	Agricultura	44	15.7	409,000	5433	27.7	14.6	180.4	0.7	0.3	0.4	Pillaro
29	32	Agricultura	48	17.5	351,000	6344	23.9	23.5	158.1	1.0	0.7	0.3	Pillaro
30	57	Agricultura	46	15.6	415,000	5508	23.5	15.0	156.1	0.8	0.5	0.3	Pillaro
31	52	Agricultura	38	12.3	305,000	2856	16.4	36.4	404.0	0.5	0.1	0.4	Pillaro
32	44	Agricultura	45	14.6	363,000	5353	16.7	38.5	295.0	1.4	0.2	1.2	Pillaro
33	40	Agricultura	42	13.7	241,000	4590	24.5	29.4	243.2	1.0	0.4	0.6	Pillaro
34	65	Agricultura	48	15.2	273,000	4126	17.3	28.5	357.3	1.2	0.2	1.0	Pillaro
35	32	Agricultura	41	12.6	346,000	2916	18.6	39.0	368.7	0.9	0.3	0.6	Pillaro
36	38	Agricultura	39	12.6	345,000	4379	18.6	20.4	283.2	0.4	0.2	0.2	Pillaro
37	37	Agricultura	48	15.8	213,000	6047	20.8	20.2	331.2	0.9	0.6	0.3	Pillaro
38	54	Agricultura	52	16.3	298,000	4000	20.9	33.3	235.0	0.8	0.6	0.2	Pillaro
39	24	Agricultura	42	13.4	301,000	5210	22.8	22.5	240.0	0.5	0.2	0.3	Pillaro
40	40	Agricultura	39	12.7	314,000	2597	20.4	21.7	237.0	0.6	0.2	0.4	Pillaro

	EDAD	Ocupación	Nivel de instrucción	Señale el plaguicidas que usa con frecuencia	Qué cantidad aproximada de plaguicida mezcla por Litro de Agua	Cuál es la cantidad de terreno que fumiga	Cuanñas horas	Utiliza un equipo de protección a la hora de fumigar	Señale si alguno de estos equipos Emplea durante la fumigación				
				1					Mascarilla	Gafas	Guantes	Camisa manga larga	Ninguna de los anteriores
1	52	Agricultura	Secundaria	Fenoles	250 cc	2 hectáreas	6	si	x		x		
2	50	Agricultura	Superior	Lauchafin	200 cc	2000 metros	4	si	x	x	x		
3	59	Agricultura	Secundaria	Cypermtrina	500 gr	1 hectárea	3	si	x				
4	54	Agricultura	Secundaria	Cimoxanil	4 kg	2 hectáreas	3	si	x			x	
5	59	Agricultura	Primaria	Carbamatos	250 cc		2	si	x		x	x	
6	54	Agricultura	Superior	Propanocarb	4 kg	200 metros	3	si	x				
7	61	Agricultura	Primaria	Corbat	400 cc	1 hectárea	3	si	x		x		
8	49	Agricultura	Primaria	Mancoceb	500 gr	0,5 hectárea	4	si	x		x		
9	40	Agricultura	Primaria	Carbamatos	250 cc	1 hectárea	4	si	x		x		
10	57	Agricultura	Ninguno	Propanocarb	4 kg	200 metros	8	no					x
11	29	Agricultura	Primaria	Magnesio	2 kg	500 metros	8	si	x			x	
12	51	Agricultura	Primaria	Cipermetrina	500 gr	1400 metros	7	si	x		x		
13	62	Agricultura	Ninguno	Mancoceb	500 gr	0,5 hectárea	6	no					x
14	48	Agricultura	Ninguno	Fenoles	3 kg	250 metros	7	no					x
15	51	Agricultura	Ninguno	Uratos	2,5 kg	1 hectárea	5	si				x	
16	59	Agricultura	Primaria	Mancoceb	500 gr	0,5 hectárea	2	si	x			x	
17	52	Agricultura	Primaria	Corbat	400 cc	1 hectárea	6	no					x
18	15	Agricultura	Ninguno	Ranger	250 cc	1 hectárea	7	no					x
19	18	Agricultura	Secundaria	Curacron	3 kg	1 hectárea	6	si	x		x	x	
20	60	Agricultura	Ninguno	Froray	2,5 kg	2 hectareas	8	no					x
21	32	Agricultura	Primaria	Fenoles	500 gr	0,5 hectárea	5	si	x		x		
22	31	Agricultura	Superior	Curacron	2 Kg	1 hectárea	4	si	x	x	x	x	
23	48	Agricultura	Superior	Urea	250 cc	2 hectareas	4	si	x	x	x	x	
24	25	Agricultura	Superior	Daconil	200 cc	2000 metros	3	si	x	x	x	x	
25	38	Agricultura	Superior	Mancoceb	500 gr	1 hectárea	4	si		x	x	x	
26	26	Agricultura	Superior	Clorotalonil	4 kg	2 hectareas	3	si			x	x	
27	36	Agricultura	Superior	Organofosforados	250 cc		2	no					x
28	25	Agricultura	Superior	Cimoxanil	4 kg	200 metros	3	si	x		x		
29	32	Agricultura	Superior	Decis	400 cc	1 hectárea	4	si			x	x	
30	57	Agricultura	Superior	Cimoxanil	500 gr	0,5 hectárea	3	si			x	x	
31	52	Agricultura	Primaria	Fenoles	250 cc	1 hectárea	7	si	x		x		
32	44	Agricultura	Primaria	Cimoxanil	4 kg	200 metros	4	si	x			x	

Anexo 8. Resultados de las encuestas realizadas a los participantes

33	40	Agricultura	Primaria	Sulfatode cobre	2 kg	500 metros	4	si	x		x	x	
34	65	Agricultura	Ninguno	Mancoceb	500 gr	1400 metros	4	si			x	x	
35	32	Agricultura	Primaria	Cimoxanil	500 gr	0,5 hectárea	8	si			x	x	
36	38	Agricultura	Primaria	Organofosforados	3 kg	250 metros	5	si	x		x	x	
37	37	Agricultura	Primaria	sulfatos	2,5 kg	1 hectárea	4	si	x		x	x	
38	54	Agricultura	Primaria	Cimoxanil	500 gr	0,5 hectárea	7	si	x		x	x	
39	24	Agricultura	Secundaria	Decis	400 cc	1 hectárea	4	si	x		x	x	
40	40	Agricultura	Ninguno	Carbamatos	250 cc	1 hectárea	10	si			x	x	

Anexo 9. Tabla de Distribución de Chi Cuadrado de Pearson

P = Probabilidad de encontrar un valor mayor o igual que el chi cuadrado tabulado, v = Grados de Libertad

v/p	0,001	0,0025	0,005	0,01	0,025	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5
1	10,8274	9,1404	7,8794	6,6349	5,0239	3,8415	2,7055	2,0722	1,6424	1,3233	1,0742	0,8735	0,7083	0,5707	0,4549
2	13,8150	11,9827	10,5965	9,2104	7,3778	5,9915	4,6052	3,7942	3,2189	2,7726	2,4079	2,0996	1,8326	1,5970	1,3863
3	16,2660	14,3202	12,8381	11,3449	9,3484	7,8147	6,2514	5,3170	4,6416	4,1083	3,6649	3,2831	2,9462	2,6430	2,3660
4	18,4662	16,4238	14,8602	13,2767	11,1433	9,4877	7,7794	6,7449	5,9886	5,3853	4,8784	4,4377	4,0446	3,6871	3,3567
5	20,5147	18,3854	16,7496	15,0863	12,8325	11,0705	9,2363	8,1152	7,2893	6,6257	6,0644	5,5731	5,1319	4,7278	4,3515
6	22,4575	20,2491	18,5475	16,8119	14,4494	12,5916	10,6446	9,4461	8,5581	7,8408	7,2311	6,6948	6,2108	5,7652	5,3481
7	24,3213	22,0402	20,2777	18,4753	16,0128	14,0671	12,0170	10,7479	9,8032	9,0371	8,3834	7,8061	7,2832	6,8000	6,3458
8	26,1239	23,7742	21,9549	20,0902	17,5345	15,5073	13,3616	12,0271	11,0301	10,2189	9,5245	8,9094	8,3505	7,8325	7,3441
9	27,8767	25,4625	23,5893	21,6660	19,0228	16,9190	14,6837	13,2880	12,2421	11,3887	10,6564	10,0060	9,4136	8,8632	8,3428
10	29,5879	27,1119	25,1881	23,2093	20,4832	18,3070	15,9872	14,5339	13,4420	12,5489	11,7907	11,0971	10,4732	9,8922	9,3418
11	31,2635	28,7291	26,7569	24,7250	21,9200	19,6752	17,2750	15,7671	14,6314	13,7007	12,8987	12,1836	11,5298	10,9199	10,3410
12	32,9092	30,3182	28,2997	26,2170	23,3367	21,0261	18,5493	16,9893	15,8120	14,8454	14,0111	13,2661	12,5838	11,9463	11,3403
13	34,5274	31,8830	29,8193	27,6882	24,7356	22,3620	19,8119	18,2020	16,9848	15,9839	15,1187	14,3451	13,6356	12,9717	12,3398
14	36,1239	33,4262	31,3194	29,1412	26,1189	23,6848	21,0641	19,4062	18,1508	17,1169	16,2221	15,4209	14,6853	13,9961	13,3393
15	37,6978	34,9494	32,8015	30,5780	27,4884	24,9958	22,3071	20,6030	19,3107	18,2451	17,3217	16,4940	15,7332	15,0197	14,3389
16	39,2518	36,4555	34,2671	31,9999	28,8453	26,2962	23,5418	21,7931	20,4651	19,3689	18,4179	17,5646	16,7795	16,0425	15,3385
17	40,7911	37,9462	35,7184	33,4087	30,1910	27,5871	24,7690	22,9770	21,6146	20,4887	19,5110	18,6330	17,8244	17,0646	16,3382
18	42,3119	39,4220	37,1564	34,8052	31,5264	28,8693	25,9894	24,1555	22,7595	21,6049	20,6014	19,6993	18,8679	18,0860	17,3379
19	43,8194	40,8847	38,5821	36,1908	32,8523	30,1435	27,2036	25,3289	23,9004	22,7178	21,6891	20,7638	19,9102	19,1069	18,3376
20	45,3142	42,3358	39,9969	37,5663	34,1696	31,4104	28,4120	26,4976	25,0375	23,8277	22,7745	21,8265	20,9514	20,1272	19,3374
21	46,7963	43,7749	41,4009	38,9322	35,4789	32,6706	29,6151	27,6620	26,1711	24,9348	23,8578	22,8876	21,9915	21,1470	20,3372
22	48,2676	45,2041	42,7957	40,2894	36,7807	33,9245	30,8133	28,8224	27,3015	26,0393	24,9390	23,9473	23,0307	22,1663	21,3370
23	49,7276	46,6231	44,1814	41,6383	38,0756	35,1725	32,0069	29,9792	28,4288	27,1413	26,0184	25,0055	24,0689	23,1852	22,3369
24	51,1790	48,0336	45,5584	42,9798	39,3641	36,4150	33,1962	31,1325	29,5533	28,2412	27,0960	26,0625	25,1064	24,2037	23,3367
25	52,6187	49,4351	46,9280	44,3140	40,6465	37,6525	34,3816	32,2825	30,6752	29,3388	28,1719	27,1183	26,1430	25,2218	24,3366
26	54,0511	50,8291	48,2898	45,6416	41,9231	38,8851	35,5632	33,4295	31,7946	30,4346	29,2463	28,1730	27,1789	26,2395	25,3365
27	55,4751	52,2152	49,6450	46,9628	43,1945	40,1133	36,7412	34,5736	32,9117	31,5284	30,3193	29,2266	28,2141	27,2569	26,3363
28	56,8918	53,5939	50,9936	48,2782	44,4608	41,3372	37,9159	35,7150	34,0266	32,6205	31,3909	30,2791	29,2486	28,2740	27,3362
29	58,3006	54,9662	52,3355	49,5878	45,7223	42,5569	39,0875	36,8538	35,1394	33,7109	32,4612	31,3308	30,2825	29,2908	28,3361

Anexo 10. Fotografías de la población en estudio y entrega de resultados.



Fotografía: Ubicación de la población en estudio, parroquia San Miguelito del cantón Pillaro



Fotografía: Agricultores de la muestra en estudio.



Fotografía: Agricultores de la muestra en estudio.





Fotografías: Agricultor en actividad de fumigación, observando ausencia de equipo de protección personal.





Fotografías: Agricultor e investigadora en la entrega de resultados de muestra sanguínea.