



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

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y HEMATOLÓGICAS EN LA VALORACIÓN DE
INTOXICACIÓN POR ORGANOFOSFORADOS EN AGRICULTORES DEL
CANTÓN PÍLLARO”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciado en Laboratorio Clínico

Autor: Anchatipán Escobar, Juan Carlos

Tutor: Dr. Vailati López, Juan Pablo

Ambato – Ecuador

Abril, 2019

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación sobre el tema: “PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y HEMATOLÓGICAS EN LA VALORACIÓN DE INTOXICACIÓN POR ORGANOFOSFORADOS EN AGRICULTORES DEL CANTÓN PÍLLARO” de Juan Carlos Anchatipán Escobar, 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, enero 2019

EL TUTOR

.....
Md.Esp. Vailati López, Juan Pablo

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Informe de Investigación “PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y HEMATOLÓGICAS EN LA VALORACIÓN DE INTOXICACIÓN POR ORGANOFOSFORADOS EN AGRICULTORES DEL CANTÓN PÍLLARO” como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autor de este trabajo de grado.

Ambato, enero 2019

EL AUTOR

.....
Anchatipán Escobar, Juan Carlos

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis o parte de ella un documento disponible para su 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 su ponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Ambato, enero del 2019

EL AUTOR

.....

Anchatipán Escobar, Juan Carlos

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación sobre el tema “PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y HEMATOLÓGICAS EN LA VALORACIÓN DE INTOXICACIÓN POR ORGANOFOSFORADOS EN AGRICULTORES DEL CANTÓN PÍLLARO” de Anchatipán Escobar Juan Carlos estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, abril 2019

Para constancia firman

.....

PRESIDENTE/A

.....

1^{ER} VOCAL

.....

2^{DO} VOCAL

DEDICATORIA

Es mi deseo como sencillo gesto de agradecimiento, dedicarle mi trabajo de grado plasmado en el presente informe, a mis padres Isabel y Fernando así mismo a mi hermano Marco, cuñada Irma y sobrinos Sebastián e Isabela, quienes permanentemente me apoyaron con espíritu alentador, contribuyendo incondicionalmente a lograr las metas y objetivos propuestos.

Anchatipán Escobar, Juan Carlos

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi gratitud al niño Jesús de Isinche, que con su bendición llena siempre mi vida y la de toda mi familia.

Gracias a mis padres Fernando e Isabel, por ser los principales promotores de este sueño, por creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

Agradecer a mi hermano Marco, cuñada Irma y sobrinos Sebastián e Isabela, por el apoyo incondicional.

Agradecer a mis amigos y familiares, que gracias a su apoyo moral me permitieron permanecer con empeño, dedicación y cariño, quienes contribuyeron con un granito de arena para culminar con éxito la meta propuesta.

Finalmente quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento al Dr. Juan Pablo Vailati y a la Ing. Carmen Viteri, principales colaboradores en este proceso quienes con su dirección, conocimiento y colaboración permitieron el desarrollo de este trabajo.

Anchatipán Escobar, Juan Carlos

ÍNDICE 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 DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	3
1. MARCO TEÓRICO.....	3
1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	3
1.2. OBJETIVOS:.....	7
CAPÍTULO II	9
2. METODOLOGÍA	9
2.1. Materiales equipos y casas comerciales de reactivos	9
2.2. MÉTODO	9
CAPÍTULO III.....	14
3.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	14
3.1.1. RESULTADOS.....	14
3.1.2. Discusión.....	23
3.2. HIPÓTESIS	24
3.2.1. Hipótesis nula.....	24
3.2.2. Hipótesis alternativa.....	24

3.2.3. Verificación de hipótesis.....	24
CAPÍTULO V	27
4.1. Conclusiones:.....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	28
ANEXOS	30

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Análisis de la concentración sérica de acetilcolinesterasa de los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación a la edad.	18
Gráfico 2. Análisis de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación al género.....	19
Gráfico 3. Análisis de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación al tiempo de exposición.	21
Gráfico 4. Análisis de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación el uso o no de equipo de protección para bioseguridad.....	22

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos demográficos según la edad.....	14
Tabla 2. Datos demográficos según el género	15
Tabla 3. Nivel de concentración de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a organofosforados.....	15
Tabla 4. Determinación de parámetros bioquímicos, TGO, TGP, bilirrubina directa, indirecta y fosfatasa alcalina de los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados.....	16
Tabla 5. Tabla cruzada de la concentración de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación a la edad.	17

Tabla 6. Tabla cruzada de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación al género.....	19
Tabla 7. Tabla cruzada de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación al tiempo de exposición.....	20
Tabla 8. Tabla cruzada de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación el uso o no de equipo de protección para bioseguridad.	22

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MABATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**“PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y HEMATOLÓGICAS EN LA VALORACIÓN
DE INTOXICACIÓN POR ORGANOFOSFORADOS EN AGRICULTORES
DEL CANTÓN PÍLLARO”.**

Autor: Anchatipán Escobar, Juan Carlos

Tutor: Dr. Vailati López, Juan Pablo

Fecha: Enero del 2019

RESUMEN

Los plaguicidas de tipo organofosforados son productos químicos que se utilizan de manera artesanal para el control de plagas, en cultivos agrícolas especialmente en cultivos de papa, implicando un alto riesgo en la salud de las personas quienes lo manipulan directamente, ocasionando disminución en la concentración sérica de acetilcolinesterasa y alteraciones a nivel de la función hepática. El objetivo de esta investigación es determinar la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados e identificar las posibles variables que pueden alterar la concentración de dicha enzima; se realizó un estudio experimental, predictivo y bibliográfico donde la población de estudio fueron 40 agricultores entre hombres y mujeres del cantón Píllaro, expuestas directamente a plaguicidas de tipo organofosforados. Para este estudio se realizó la determinación sérica de la enzima acetilcolinesterasa, así como de enzimas hepáticas mediante técnicas espectrofotométricas. Se determinó que 7 de 40 agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, presentaron disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa representando un 17,5% del total de la muestra de estudio, porcentaje que no es estadísticamente significativo según t-Student en relación a la población total, mientras que en la determinación de las enzimas de la función

hepática no se observó alteraciones significativas. También se pudo constatar que la población afectada presentó un tiempo de exposición entre 11 y 31 años, además carecían de conocimiento sobre las medidas de bioseguridad para la manipulación de este tipo de plaguicidas. Concluyendo que la disminución de los niveles de acetilcolinesterasa se ven influenciados directamente por el tiempo de exposición y el desconocimiento de medidas de bioseguridad para su manipulación.

PALABRAS CLAVE: ORGANOFOSFORADOS, ACETILCOLINESTERASA, HEPATOTOXICIDAD, BIOSEGURIDAD

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO

FACULTY OF HEALTH SCIENCES

CLINICAL LABORATORY CAREER

"BIOCHEMICAL AND HEMATOLOGICAL TESTS IN THE EVALUATION OF INTOXICATION BY ORGANOPHOSPHORATES IN FARMERS OF THE CANTON PÍLLARO".

Author: Anchatipán Escobar, Juan Carlos

Tutor: Dr. Vailati López, Juan Pablo

Date: January 2019

ABSTRACT

Organophosphorus pesticides are chemical products that are used in an artisan way for plague control, in agricultural crops specially in potato crops, implying a high risk in people's health who manipulate it directly, causing a decrease in the serum concentration of acetylcholinesterase and alterations in the liver function. The goal of this research is to determine the serum concentration of acetylcholinesterase in farmers exposed to Organophosphorus pesticides and to identify the possible variables that can alter the concentration of this enzyme; an experimental, predictive and bibliographic study was carried out, the study population were 40 farmers among men and women from canton of Píllaro, that were exposed directly with organophosphorus pesticides. For this study, the determination of serum the enzyme acetylcholinesterase, as well as liver enzymes, were performed by spectrophotometry techniques. It was determined that 7 out of 40 farmers exposed to organophosphorus pesticides showed a decrease in the concentration of the acetylcholinesterase enzyme representing 17.5% of the total study sample, a percentage that is not statistically significant according to the Student's t-test in relation to the total population, while in the determination of liver function enzymes no significant alterations were observed, it was also verified that the affected population had an exposure time between 11 and 31 years, as well as they were not aware of the biosecurity measures for the handling of this type of pesticides. Pesticides concluding that the decrease in

acetylcholinesterase levels are directly influenced by the exposure time and the lack of knowledge of biosecurity measures in the handling of these pesticides.

KEYWORDS: ORGANOPHOSPHATES, ACETYLCHOLINESTERASE, HEPATOTOXICITY, BIOSECURITY

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los casos de intoxicación aguda por plaguicidas (IAP) son una causa importante de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, cada año terminan envenenadas por plaguicidas 3 millones de personas la mayoría en países en desarrollo de las cuales mueren unas 20.000, pues en ellos coinciden una escasa regulación de productos químicos, falta de sistemas de vigilancia, un menor cumplimiento de las normas y un acceso insuficiente a los sistemas de información. Investigaciones anteriores han puesto de relieve una gran variabilidad de las tasas de incidencia de IAP. Ello se debe posiblemente a unos métodos de notificación incongruentes y a la exclusión de las intoxicaciones laborales y no intencionales.(1)

En Centroamérica, se estimó que 3% de los trabajadores agrícolas expuestos sufren cada año una intoxicación aguda por plaguicidas (IAP). Más del 50% de las intoxicaciones agudas por estas sustancias se presenta en los países menos desarrollados. La tasa de incidencia para las IAP en la subregión Centroamericana ha mostrado un progresivo aumento pasando de tasas de 6,3 por cien mil habitantes en 1992 a 19,5 en el año 2000.(1)

En nuestro país los plaguicidas datan de 1950, pero despuntó luego de la reforma agraria (entre 1964 y 1979), con lo cual los conocimientos de fertilización, manejo de suelo, de semillas de cultivo y producción ancestrales se fueron perdiendo. En un informe elaborado en el 2012 por el Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico en Ecuador, muestra que los plaguicidas siguen figurando entre los principales agentes causantes de intoxicaciones. En el 2011, el 49,2 % de los 2,527 casos registrados correspondió a intoxicaciones por plaguicidas (insecticidas, fungicidas, larvicidas, nematocidas). El almacenamiento inadecuado o la aplicación incorrecta detonan el problema. Las personas reciben asesoramiento en las tiendas donde los adquieren, de quienes los expenden (para fumigar) o de alguna persona que los ha usado(2).

En la provincia de Tungurahua por sus altos niveles de producción en cultivos como: frutas, legumbres, hortalizas se ha demostrado que las personas que las siembran, fumigan y cosechan, son gravemente afectados por los plaguicidas usados. Las

personas del cantón Píllaro al dedicarse por entero a la siembra, cosecha y venta de productos cultivados, en especial al ser una zona productora de papa en el Ecuador, agresivo uso de insecticidas y fungicidas sobre los cultivos afectan a las personas que realizan este trabajo a nivel de su salud, promoviendo a que las intoxicaciones por plaguicidas aumenten en esta región(3).

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Según Rosales(4) (2015)En un estudio sobre el uso de marcadores genotoxicológicos para la evaluación de agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, determinó la actividad enzimática de la colinesterasa sérica (BChE) y eritrocitaria (AChE), con ensayos de genotoxicidad dirigido a 59 trabajadores expuestos y 50 personas sin exposición a plaguicidas, en edades promedio de $39,6 \pm 10,8$ Y $34,0 \pm 11,5$ años en el grupo expuesto y control respectivamente; con respecto a la actividad BChE, se encontró diferencia significativa ($p < 0,001$) entre el grupo expuesto (4733.0 ± 1350.1 U/L) y control (7075.0 ± 1674.0 U/L), concluyendo que el uso de marcadores genotoxicológicos aportó información relevante como herramienta que permite predecir el riesgo asociado a cáncer, considerando que el evento inicial es el daño al ácido desoxirribonucleico (ADN).

Marrero et al.(5) (2017)Realizan una investigación sobre la exposición a organofosforados y carbamatos de trabajadores de una comunidad agraria, en una muestra formada por el grupo expuesto (GE) 17 personas ($37,06 \pm 15,66$ años) y un grupo control (GC) con 13 personas ($39,77 \pm 13,23$ años), en el GE el valor promedio de la colinesterasa fue de $6,7465 \pm 1,0314$ U/L y para el GC de $8,6546 \pm 1,6014$ U/L. Se evidencia la existencia de una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre las medias para el biomarcador de efecto en estudio en el GE, los trabajadores expuestos presentaron biomarcadores de exposición y de efecto fuera de los rangos normales, con presencia de síntomas que pudieran relacionarse con dicha exposición.

Silveiro et al.(6) (2015)Realizaron un estudio sobre donde midieron los niveles de acetilcolinesterasa en la población aledaña a una plantación donde se usa plaguicidas de tipo organofosforados ubicado en la parroquia cuca cantón arenilla, provincia del oro, la muestra conformada por; 45 pobladores, 41 hombres y 4 mujeres, de los cuales 20 de ellos presentaron niveles de colinesterasa por debajo de los niveles

normales, concluyendo; que la inhalación de compuestos organofosforados en un tiempo prolongado afecta gravemente a la salud.

Blanco et al.(7) (2015)Realizaron un estudio sobre la actividad de la colinesterasa total en pobladores que utilizan plaguicidas de tipo organofosforado. Mediante los resultados obtenidos en la determinación de la actividad enzimática en pobladores expuestos y no expuestos, se considera normal un valor mayor o igual a 154 unidades de pH/hora, de los 95 pobladores evaluados, solamente tres de ellos presentaron valores menores, dentro del rango de inhibición moderada. Por tal razón se presentó a la comunidad, una guía rápida para el uso, manejo y cuidados en la utilización de los plaguicidas.

Iza(8) (2016)Realiza un estudio sobre la determinación de alteración en la función hepática en personal expuesto a plaguicidas de tipo organofosforados, mediante la determinación de TGO, TGP y fosfatasa alcalina en una empresa florícola. La muestra está conformada por 44 trabajadores entre hombre y mujeres, determinando la presencia de alteración de la función hepática en 7 trabajadores, lo cual representa el 15,9 % de la población de estudio, presentando una elevada concentración en las enzimas TGO, TGP y FAL; en los cuales se evidencio una disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa, influenciados directamente por el tiempo de exposición y la actividad que desempeña en la florícola.

Guanochanga(9) (2018) Realiza un estudio sobre la determinación de la concentración sérica de la pseudocolinesterasa y consecuencias funcionales hepáticas en trabajadores de una empresa florícola expuestos directa e indirectamente a plaguicidas organofosforados. La muestra está conformada por 109 personas entre hombres y mujeres. Para la cuantificación de pseudocolinesterasa y de perfil hepático para lo cual se utilizó el método cinético espectrofotométrico. Se obtuvieron resultados disminuidos en la concentración de pseudocolinesterasa en 11 trabajadores que representa el 10.1% de la población, en los cuales se pudo observar valores relativamente altos de la concentración de las enzimas hepáticas: TGO en un porcentaje de 45.5% que representa a 5 trabajadores, TGP en un porcentaje de 36.4% que representa a 4 personas y fosfatasa alcalina en un porcentaje de 18.2% que representa a 2 trabajadores, estos resultados no pueden considerarse como un indicativo de hepatotoxicidad causada por plaguicidas organofosforados, debido a las

múltiples enfermedades y factores que pueden causar ligeras variaciones en la concentración de las enzimas estudiadas.

Según Fuentes et al.(7) (2011) Realizaron un estudio en ratas expuestas a paratión metílico, plaguicida organofosforado que se usa normalmente en la agricultura, midiendo la exposición subaguda (3 mg/kg/día, oral, 20 días), en donde se encuentra un incremento significativo ($p < 0,05$) en actividad sérica del TGO (500%) y TGP (937%), necrosis hepática, aumento en la concentración de malondialdehído (213%) y la 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) se encontró vacuolización citoplásmica de los hepatocitos (inclusión 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.

1.1.1. Contaminación por insecticidas organofosforados

Se denomina insecticida organofosforado (IOF) a las sustancias derivadas de la molécula de ácido fosfórico(10), también denominadas sustancias orgánicas de síntesis, es decir fabricadas por el hombre que no existen de forma natural.(11)

El uso de plaguicidas en todo el mundo ha incrementado, por los beneficios de calidad y cantidad sobre los cultivos, así también sus efectos sobre los agricultores expuestos a los mismos, por el mal uso y el desconocimiento de los problemas que estos causan sobre la salud humana.(12)

Actualmente, más de 40 plaguicidas organofosforados están registrados para su uso(10), todos con el riesgo de causar intoxicaciones agudas, compartiendo un mecanismo común de inhibidor de la colinesterasa, la exposición a múltiples organofosforados por rutas múltiples podría conllevar a una intoxicación seria.(13) En la última década se lo ha denominado como el arma química de los países pobres por su fácil adquisición y su poder mortífero.(8)

1.1.2. Mecanismo de acción

Las alteraciones producidas por plaguicidas organofosforados se desarrollan a través de la fosforilación de la enzima acetilcolinesterasa en las terminaciones nerviosas del humano, los organofosforados reaccionan con la zona esterásica de la enzima colinesterasa formando una unión estable que si no se la rompe con tratamiento

puede tener efectos irreversibles, quedando la enzima inhabilitada para su función normal, esta inhabilitación enzimática permite la acumulación de acetilcolina en las uniones colinérgicas neuroefectoras (efectos muscarínicos), en las uniones mioneurales del esqueleto y ganglios autónomos (efectos nicotínicos) y en el sistema nervioso central.(11)

La acetilcolina es un neurotransmisor que interactúa con los receptores postsinápticos (nicotínicos y muscarínicos), siendo también responsable de la transmisión fisiológica del impulso nervioso de(10): 1. las fibras colinérgicas postganglionares simpáticas y parasimpáticas de las células ganglionares (receptores muscarínicos), 2. las neuronas preganglionares a las postganglionares en los sistemas simpático y parasimpático (receptores muscarínicos), 3. Los nervios motores al músculo esquelético(10) (receptores nicotínicos), 4. Algunas terminaciones nerviosas en el sistema nervioso central. Una vez liberada, interactúa con su receptor, la acetilcolina es destruida por la acción de la colinesterasa, la cual reacciona con el neurotransmisor hidrolizando y produciendo colina y ácido acético, que entran al pool metabólico presináptico para ser utilizado nuevamente.(11)

La intoxicación por plaguicidas de tipo organofosforados puede generar tres cuadros clínicos como: intoxicación aguda, síndrome intermedio, neurotoxicidad tardía.(11)

- La intoxicación aguda a causa de la absorción de plaguicidas organofosforados, denominado también como síndrome colinérgico(10) va acompañado por signos y síntomas, provocados por la excesiva estimulación de los receptores de acetilcolina, y que se caracteriza principalmente por cambios en el estado de conciencia, debilidad muscular, y excesiva actividad secretora, la aparición de este cuadro será entre las primeras 12 horas después de la exposición al tóxico, dependiendo la edad, la cantidad ingerida, y la actividad intrínseca del producto organofosforado. (11)
- El síndrome intermedio a causa de la absorción de plaguicidas organofosforados, ocurre después de la resolución de la crisis colinérgica aguda generalmente después de 24 a 96 horas de la exposición, este síndrome está caracterizado por debilidad muscular, principalmente facial, cervical y de los músculos proximales de las extremidades.(13) en algunos estudios se ha demostrado que el síndrome intermedio solo aparece en

pacientes con inhibición prolongada de la acetilcolinesterasa y que la presencia del síndrome no depende del tipo de tóxico involucrado.(11)

- La neurotoxicidad tardía a causa de la absorción de plaguicidas organofosforados, afecta principalmente a las personas que están expuestas a organofosforados que contienen flúor, se presenta entre la primera o cuarta semana después de una intoxicación aguda.(11) La fisiopatología de este síndrome se da por la inhibición de una enzima axonal conocida como esterasa neurotóxica del sistema nervioso y el incremento de calcio iónico intracelular por la alteración de la enzima calcio-calmodulina-quinasa II, dañando los axones de los nervios periféricos y centrales, afectando principalmente las extremidades, en especial las piernas, produciendo debilidad, parálisis o parestesia, persistiendo desde semanas hasta años.(13)

1.2. OBJETIVOS:

1.2.1. Objetivo general:

- Investigar los niveles bioquímicos y hemáticos de agricultores expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados del cantón Píllaro

1.2.2. Objetivos específicos:

- Analizar el nivel de concentración de la acetilcolinesterasa en la población de agricultores expuesta a los plaguicidas de tipo organofosforados
- Analizar los parámetros bioquímicos que reflejan la función hepática en la población de agricultores expuesta a organofosforados
- Evaluar los niveles de acetilcolinesterasa en la población de agricultores expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados en relación a su grupo etario y sexo.
- Evaluar los niveles de acetilcolinesterasa en la población de agricultores expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados según el tiempo de exposición y el uso o no de equipos de bioseguridad.

1.2.3. Cumplimiento de objetivos

Se investigó los niveles bioquímicos y hematológicos en 40 agricultores expuestos a organofosforados del cantón Píllaro, mediante la medición de la concentración de acetilcolinesterasa y parámetros bioquímicos que reflejan la

función hepática, midiendo la concentración enzimática de TGO, TGP y fosfatasa alcalina, después de analizar estos parámetros se evaluó mediante tablas cruzadas la concentración de acetilcolinesterasa en relación al grupo etario, sexo, tiempo de exposición y el uso de bioseguridad.

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Materiales equipos y casas comerciales de reactivos

2.1.1. Material para la extracción

- Torundas de algodón
- Alcohol antiséptico
- Capsula para vacutainer
- Tubos al vacío tapa roja y lila
- Funda roja
- Funda negra
- Recipiente para desechos corto punzantes
- Guantes de látex
- Torniquete
- Mandil
- gradillas

2.1.2. Equipos

- Sysmex Kx 21 M de roche (química sanguínea).
- COBAS C111 de roche (hematología)
- Centrífuga

2.1.3. Casa comercial de reactivos

- Human
- Wiener Lab

2.2. MÉTODO

2.2.1. Nivel o tipo de investigación

La presente investigación tiene los siguientes niveles y tipos de investigación.

2.2.1.1. Estudio experimental: Porque permite determinar las alteraciones en la concentración sérica de la enzima acetilcolinesterasa y alteración en la función hepática producida como efecto secundario a la exposición de

plaguicidas organofosforados en la población de agricultores del cantón Píllaro.

2.2.1.2. Asociación entre variables: porque se relaciona la variable dependiente con la independiente. La variable dependiente, que es la alteración en la concentración sérica de la enzima acetilcolinesterasa y del perfil hepático en la población de agricultores del cantón Píllaro y la variable independiente que es el estudio de las alteraciones orgánicas producidas por el uso de plaguicidas de tipo organofosforado.

2.2.1.3. Estudio predictivo: porque se predice las posibles afecciones en el organismo, producto de la exposición a plaguicidas organofosforados.

2.2.1.4. Estudio bibliográfico: porque se realizó una revisión bibliográfica de los antecedentes escritos sobre alteraciones orgánicas por la exposición a plaguicidas organofosforados.

2.2.2. Población

La población objeto de estudio está compuesta por 40 agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, clasificándolos según la edad, sexo, tiempo de exposición y uso de bioseguridad seleccionado a los siguientes criterios:

2.2.3. Criterios de inclusión

- Pobladores del cantón Píllaro cuya actividad económica sea la agricultura.
- Agricultores expuestos a plaguicidas tipo organofosforados.
- Agricultores expuestos a plaguicidas tipo organofosforados en edades comprendidas entre 20 y 65 años.
- Agricultores expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados por 5 años o más.

2.2.4. Criterios de exclusión

- ❖ Agricultores expuestos a plaguicidas tipo organofosforados con antecedentes de hepatopatías previas.
- ❖ Agricultores expuestos a plaguicidas tipo organofosforados con antecedentes de anemia.

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

2.2.5.1. Pasos de la investigación

Para realizar la presente investigación el primer paso fue identificar el lugar en donde se va a trabajar, en este caso sería los alrededores del cantón Píllaro, donde mediante la colaboración de los jefes de comunidad se pudo identificar a las personas que tienen varios años trabajando en el ámbito de la agricultura especialmente en el cultivo de papas.

Una vez identificadas las personas se procedió a dar una explicación sobre el tema de investigación y cuál es el fin de nuestro trabajo, para que consiguientemente procedieran a firmar la carta de consentimiento y proceder a extraer la muestra sanguínea mediante punción venosa, respetando siempre los protocolos de bioseguridad para el paciente y el analista:

2.2.5.2. Procedimiento para venopunción

- Colocarse el mandil, lavarse las manos y ponerse los guantes.
- Colocar al paciente de la manera que se sienta cómodo para la extracción.
- Preguntar los datos del paciente para proceder a la extracción.
- Explicar el proceso que se va a realizar al paciente, previo a la aceptación del mismo para trabajar con la muestra y rotular los tubos.
- Palpar la vena en el antebrazo para proceder a la extracción.
- Colocar el torniquete de 7.5 a 10 cm del lugar donde se va a realizar la punción.
- Proceder a desinfectar la zona.
- Colocar la aguja en la capsula de vacutainer.
- Se procede a pinchar en la vena y se procede a llenar los tubos para el análisis.
- Quitar el torniquete, sacar la aguja y limpiar la zona nuevamente con alcohol.
- Desechar la aguja y torunda en los respectivos botes.
- Llevar las muestras al laboratorio en una caja térmica con gel refrigerante con una temperatura aproximada a 6°C para centrifugarlas y su respectivo análisis que deberá ser dentro de las siguientes 2 horas.

Se analizó cada una de las muestras mediante los diferentes métodos analíticos, para lo cual se siguió cada uno de los procesos, para el manejo del equipo y reactivos del

fabricante. Determinando los niveles de colinesterasa, TGO, TGP, fosfatasa alcalina, bilirrubinas directa, total y biometría hemática. Una vez que las muestras están ya en el laboratorio UTA, se las llevara a centrifugar a 5000 RPM exactamente por 10 min. Para luego proceder a pasar el suero hacia tubos limpios previamente rotulados. Los tubos de tapa lila para su procedente análisis se los colocara en un agitados, para su respectivo análisis en el equipo hematológico. Primero se realizó un análisis hematológico para la detección de anemia para descartar muestras que nos puedan dar falsos positivos y seguir con la investigación. Después de la investigación de anemia se procede a la determinación de la acetilcolinesterasa utilizando el método cinético espectrofotométrico de la casa comercial Wiener-lab en cada una de las 40 muestras obtenidas de los agricultores expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados, luego se realizó pruebas de medición de la función hepática como: Aspartato aminotransferasa TGO mediante la prueba liquiUV, alanina aminotransferasa TGP mediante la prueba liquiUV y Bilirrubinas mediante la prueba liquicolor, analizadas mediante insertos de la casa comercial human, también se realizó la determinación de fosfatasa alcalina mediante el inserto de la casa comercial Wiener-lab, se utilizó en la determinación de las concentraciones, métodos cinéticos espectrofotométricos. Se reportó cada uno de los resultados en la hoja de registro para que luego sean entregadas a sus respectivos pacientes.

Los resultados obtenidos serán analizados mediante tablas estadísticas y gráficas de frecuencia y serán analizados mediante t-Student y chi cuadrado para determinar la relevancia estadística.

2.2.6. Aspectos éticos

2.2.2.6.1. Autonomía del paciente

El presente proyecto de investigación, se usó el principio de autonomía de cada paciente, proporcionando los pormenores de los exámenes que se los va a realizar, tomando en cuenta que el paciente tiene la libertad y responsabilidad de decidir que es bueno para su integridad, sin influencias ni presiones externas, respetando así sus derechos humanos.

2.2.2.6.2. Consentimiento informado

Respetando los derechos humanos, para la realización de este proyecto investigativo, se aplicó una carta de consentimiento informado, solicitando la aprobación de cada uno de los pacientes para la extracción y ejecución de sus fluidos biológicos.

CAPÍTULO III

3.1. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente proyecto de investigación se enfocó en la determinación de la enzima colinesterasa, TGO, TGP, bilirrubinas (total, directa), fosfatasa alcalina, en agricultores procedentes del cantón Píllaro que utilicen plaguicidas organofosforados para el cuidado de cultivos.

Para esto se realizó una recolección de muestra sanguínea venosa, para proceder a realizar la determinación de la concentración sérica de la acetilcolinesterasa, así como alteraciones en las pruebas de funcionalidad hepática, con el fin de conocer si la exposición a organofosforados afecta o no a agricultores expuestos directamente.

Los resultados obtenidos se expresarán mediante tablas y gráficos de acuerdo a la edad sexo, tiempo de exposición y uso de bioseguridad.

3.1.1. RESULTADOS

Se estudió una población de 40 agricultores que están expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro quienes dieron su autorización mediante consentimiento informado para el estudio, donde se los clasifíco dependiendo su edad, sexo, tiempo de exposición y el uso de equipo de bioseguridad frente a plaguicidas de tipo organofosforados.

Caracterización de la población demográficamente:

Tabla 1. Datos demográficos según la edad

EDAD					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	25-35	12	30,0	30,0	30,0
	36-45	12	30,0	30,0	60,0
	46-55	11	27,5	27,5	87,5
	56-65	3	7,5	7,5	95,0
	66-75	1	2,5	2,5	97,5
	76-85	1	2,5	2,5	100,0
	Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: El investigador

La edad de los agricultores estudiados expuestos a organofosforados está conformada: de 25-35 años que representa el 30%, de 36-45 años que representa el 30%, de 46-55 años que representa el 27,5%, de 56-65 años que representa el 7,5 %, de 66-75 años que representa el 2,5%, de 76-85 años que representa el 2,5%.

Tabla 2. Datos demográficos según el género

GÉNERO					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	F	20	50,0	50,0	50,0
	M	20	50,0	50,0	100,0
	Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: El investigador

El género de los agricultores estudiados expuestos a organofosforados está conformado por: 20 hombre **50%** y 20 mujeres **50%**.

Tabla 3. Nivel de concentración de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados.

MEDICION DE ACETILCOLINESTERASA					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	3140-6100 U/l MENOR	33	82,5%	82,5	82,5
	A 3139.9 U/l	7	17,5%	17,5	100,0
	Total	40	100,0	100,0	

Elaborado por: El investigador

Análisis

En el total de la población estudiada se pudo observar una disminución de la concentración de acetilcolinesterasa en 7 agricultores los cuales representa un 17,5% de la población objeto de estudio, porcentaje que no es estadísticamente significativo según t-Student con grados de libertad de 39 según la tabla de valores, donde el valor

límite es 1,6849, obteniendo en nuestro análisis el valor de 3,636 es decir que nuestro resultado está fuera de la zona de aceptación; y 33 agricultores objeto de estudio presentan valores normales en la concentración sérica de acetilcolinesterasa, representando un 82,5%.

Tabla 4. Determinación de parámetros bioquímicos, TGO, TGP, bilirrubina directa, indirecta y fosfatasa alcalina de los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
TGO	Hombres			100
	< 37 U/l	20	50	
	> 37 U/l	0	0	
	Mujeres			
	< 31 U/l	20	50	
	>31 U/l	0	0	
TGP	Hombres			100
	< 42 U/l	20	50	
	>42 U/l	0	0	
	Mujeres			
	<32 U/l	20	50	
	>32 U/l	0	0	
BIL. D	<0,25 mg/dl	40	100	100
	>,25 mg/dl	0		
BIL. T	<1,1mg/dl	40	100	100
	>1,1mg/dl	0		
FOSF. ALC	80-306 u/l	40	100	100
	>306 u/l	0		

Elaborado por: El investigador

Análisis

De la muestra estudiada se puede evidenciar que no existe alteraciones significativas en la concentración de las enzimas hepáticas, lo que evidencia que no existió signos de hepatotoxicidad en el grupo de agricultores estudiados.

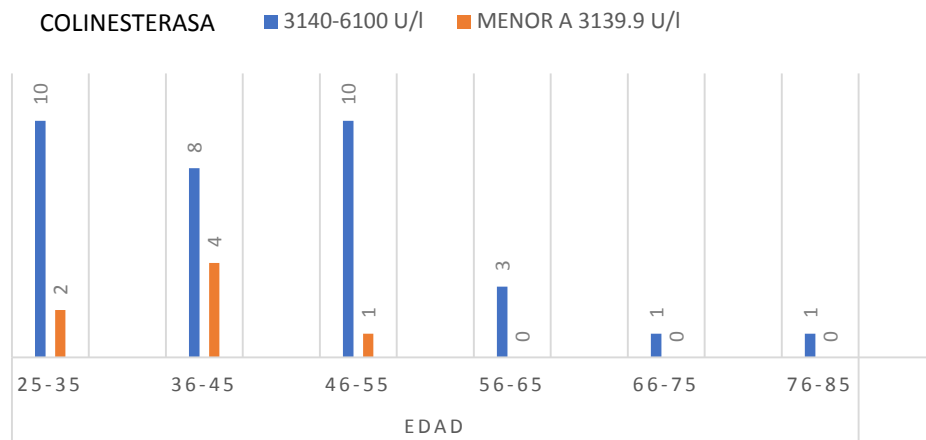
Tabla 5. Tabla cruzada de la concentración de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación a la edad.

Concentración de colinesterasa sérica en relación a la edad					
			COLIESTERASA		Total
			3140-6100 U/l	MENOR A 3139.9 U/l	
EDAD	25-35	Recuento % del total	10 25,0%	2 5,0%	12 30,0%
	36-45	Recuento % del total	8 20,0%	4 10,0%	12 30,0%
	46-55	Recuento % del total	10 25,0%	1 2,5%	11 27,5%
	56-65	Recuento % del total	3 7,5%	0 0,0%	3 7,5%
	66-75	Recuento % del total	1 2,5%	0 0,0%	1 2,5%
	76-85	Recuento % del total	1 2,5%	0 0,0%	1 2,5%
Total		Recuento % del total	33 82,5%	7 17,5%	40 100,0%

Fuente: Análisis bioquímico de la concentración sérica de colinesterasa aplicado a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro.

Elaborado por: El investigador

Gráfico 1. Análisis de la concentración sérica de acetilcolinesterasa de los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación a la edad.



Fuente: Análisis bioquímico de la concentración sérica de colinesterasa aplicado a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro.

Elaborado por: El investigador

Análisis

Según los exámenes de laboratorio realizados a los 40 agricultores se puede observar que la disminución de acetilcolinesterasa está presente en agricultores, en edades comprendidas: entre 25-35 años por 2 agricultores que representa el 5,0%, entre 36-45 por 4 agricultores que representa 10,0%, entre 46-55 años por 1 agricultor que representa el 2,5%. Porcentajes que no son estadísticamente significativos según t-Student con grados de libertad de 39 según la tabla de valores, donde el valor límite es 1,6849, obteniendo en nuestro análisis el valor de 4,125 es decir que nuestro resultado está fuera de la zona de aceptación.

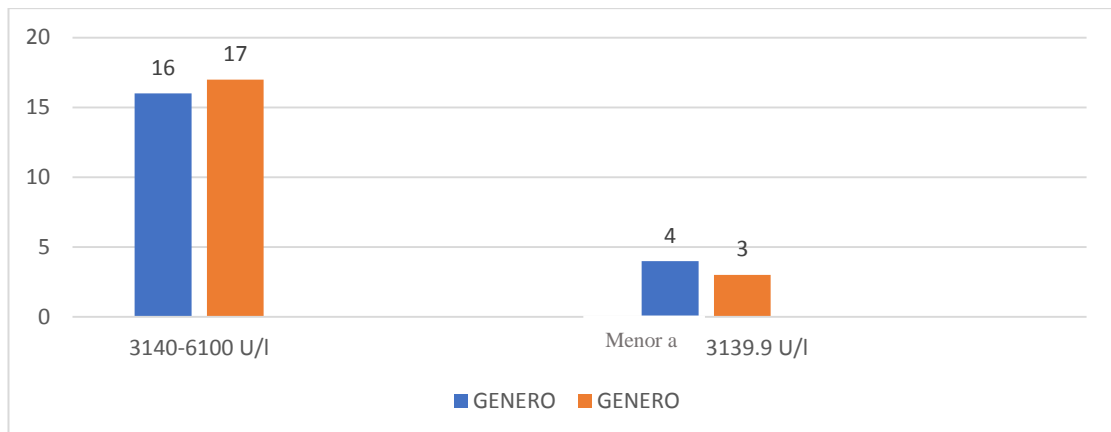
Tabla 6. Tabla cruzada de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación al género

			GENERO		Total
			F	M	
Colinesterasa 3140-6100 U/l	Recuento		16	17	33
	% del total		40,0%	42,5%	82,5%
MENOR A 3139.9 U/l	Recuento		4	3	7
	% del total		10,0%	7,5%	17,5%
Total	Recuento		20	20	40
	% del total		50,0%	50,0%	100,0%

Fuente Análisis bioquímico de la concentración sérica de colinesterasa aplicado a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro.

Elaborado por: El investigador

Gráfico 2. Análisis de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación al género.



Fuente: Análisis bioquímico de la concentración sérica de colinesterasa aplicado a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro.

Elaborado por: El investigador

Análisis

Según los exámenes de laboratorio realizados a los 40 agricultores se puede observar que la disminución de acetilcolinesterasa está presente en 7 pacientes: 4 mujeres que representa un 10,0% y en 3 hombres que representa un 7,5%. Porcentajes que no son estadísticamente significativos según chi cuadrado con grados de libertad de 39 según la tabla de valores, donde el valor límite es 37,3354, obteniendo en nuestro análisis el valor de 37,4734 es decir que nuestro resultado está fuera de la zona de aceptación.

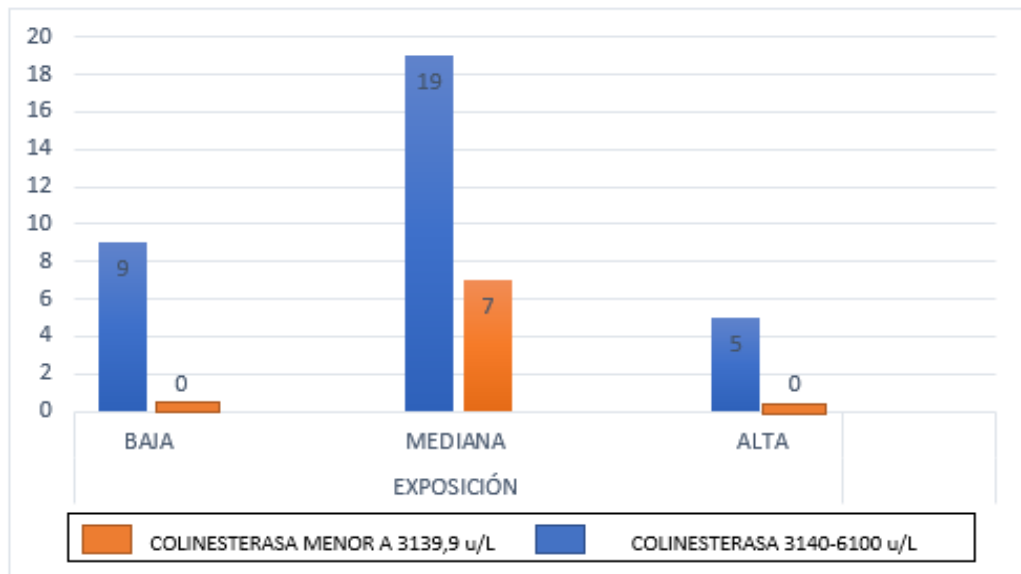
Tabla 7. Tabla cruzada de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación al tiempo de exposición.

			Colinesterasa	
			3140-6100 u/L	MENOR A 3139.9 u/L
EXPOSICIÓN	BAJA	Recuento %	9 22,5%	0 0,0%
	MEDIANA	Recuento %	19 47,5%	7 17,5%
	ALTA	Recuento %	5 12,5%	0 0,0%
Total		Recuento Total %	33 82,5%	7 17,5%

Fuente Análisis bioquímico de la concentración sérica de colinesterasa aplicado a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro.

Elaborado por: El investigador

Gráfico 3. Análisis de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación al tiempo de exposición.



Fuente: Análisis bioquímico de la concentración sérica de colinesterasa aplicado a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro.

Elaborado por: El investigador

Análisis

Según los exámenes de laboratorio realizados, donde se agrupó el tiempo de exposición, definiendo como de baja exposición agricultores expuestos de 5 a 10 años, de mediana exposición agricultores expuestos de 11 a 30 años, y de alta exposición > a 31 años en total de 40 agricultores; se puede observar que la disminución de acetilcolinesterasa está presente en 7 agricultores, los cuales se encuentran en el grupo de mediana exposición, lo que representa el 17.5%. Porcentajes que es estadísticamente significativos según chi cuadrado con grados de libertad de 39 según la tabla de valores, donde el valor límite es 37,3354, obteniendo en nuestro análisis el valor de 4,173 es decir que nuestro resultado está dentro de la zona de aceptación.

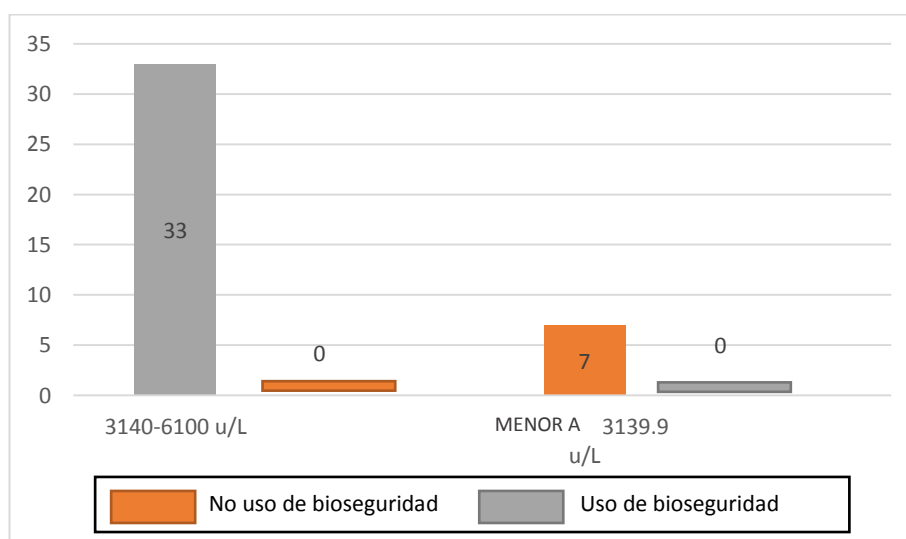
Tabla 8. Tabla cruzada de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación el uso o no de equipo de protección para bioseguridad.

Concentración de sérica acetilcolinesterasa en relación al uso de equipo de protección para bioseguridad					
			Colinesterasa		Total
			3140-6100 u/L	Menor a 3139.9 u/L	
Uso de bioseguridad	No usan material de bioseguridad	Recuento %	0 0%	7 17,5%	7
	Si usan material de bioseguridad	Recuento %	33 82,5%	0 0%	33
Total		Recuento %	33	7	40 100,0%

Fuente: Análisis bioquímico de la concentración sérica de colinesterasa aplicado a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro.

Elaborado por: El investigador

Gráfico 4. Análisis de la concentración sérica de acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados en relación el uso o no de equipo de protección para bioseguridad



Fuente: Análisis bioquímico de la concentración sérica de colinesterasa aplicado a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro.

Elaborado por: El investigador

Análisis

Según los exámenes de laboratorio realizados a 40 agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, se observa que 7 agricultores no utilizan ningún tipo de normas de bioseguridad para proteger su salud, representando un 17% de la población total, Porcentaje que es estadísticamente significativo según chi cuadrado con grados de libertad de 39 según la tabla de valores, donde el valor límite es 37,3354, obteniendo en nuestro análisis el valor de 2,669 es decir que nuestro resultado está dentro de la zona de aceptación.

3.1.2. Discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos en nuestra investigación se puede apreciar que la exposición a plaguicidas organofosforados puede afectar el estado de salud de las personas expuestas directamente, evidenciando mediante la disminución de la acetilcolinesterasa, la cual está representada por un 17,5% del total de nuestra población objeto de estudio, lo cual coincide con el estudio realizado en Quito por Martha Guanochanga (2018), en una empresa, en donde se evidenció que el 10,1% de trabajadores expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados presentaron niveles relativamente bajos de acetilcolinesterasa.(9) De igual manera un estudio realizado en la ciudad de Loja por Pizarro Silvana (2014) en usuarios de organofosforados en labores agrícolas, muestras que en una población conformada por 63 pacientes se encontró que 10 casos de agricultores presentaron niveles de acetilcolinesterasa disminuida.(14)

Con respecto a las alteraciones de la función hepática no se evidencia en nuestra población objeto de estudio, alteraciones enzimáticas a diferencia de estudios realizados por María Iza (2016), donde, si se evidencio un aumento significativo de las enzimas en 7 de 44 trabajadores expuestos a organofosforados.(8) De igual manera un estudio realizado por Martha Guanochanga, en la ciudad de Quito (2018), pudo evidenciar que en una población de 109 personas expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados, 11 presentaron alteraciones de las enzimas hepáticas: TGO en el 45.5% (5 trabajadores), TGP en el 336.4% (4 personas) y fosfatasa alcalina en el 27.3 (3 trabajadores), considerando que estos resultados no son indicativo de hepatotoxicidad.(9)

Con respecto al tiempo de exposición se evidencia que, de los 40 agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, 7 de ellos tienen baja concentración de acetilcolinesterasa, observando que se encuentra en un mediano rango de exposición, comprendido entre 11 a 30 años. Al igual que en estudios realizados por María Iza (2016), en 44 pacientes donde 7 de ellos tenían disminución en la concentración de la acetilcolinesterasa, concluyendo que la disminución en la concentración de la enzima se ve afectada por el tiempo de exposición y la actividad que desempeñan los floricultores.(8)

En nuestro estudio se evidencia que de los 40 agricultores objeto de estudio, 7 de ellos no utilizan ningún método de bioseguridad, en los cuales se reflejó la disminución de la concentración de acetilcolinesterasa, es decir las personas que no tienen conocimiento del uso de métodos de bioseguridad frente a este tipo de plaguicidas tienen más predisposición a presentar afectaciones en su estado de salud lo cual evidenciamos en la disminución de la concentración de la acetilcolinesterasa.

3.2. HIPÓTESIS

3.2.1. Hipótesis nula

La concentración sérica de la enzima acetilcolinesterasa, no varía en la población de agricultores del cantón Píllaro expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados, de acuerdo con el tiempo de exposición y uso de equipos de bioseguridad.

3.2.2. Hipótesis alternativa

La concentración sérica de la enzima acetilcolinesterasa, va a disminuir en la población de agricultores del cantón Píllaro expuestos a plaguicidas de tipo organofosforados, de acuerdo con el tiempo de exposición y uso de equipos de bioseguridad.

3.2.3. Verificación de hipótesis

Del total de las muestras de los agricultores objeto de estudio expuestos a plaguicidas organofosforados objeto de estudio, se detectó 7 muestras donde la acetilcolinesterasa está disminuida, a continuación, se mostrará la representación estadística de la verificación de la hipótesis:

La significancia estadística en nuestro estudio de acuerdo a la concentración de la acetilcolinesterasa con grados de libertad de 39 según la tabla de valores de t-Student tenemos un valor límite de 1,6849, según nuestro análisis realizado el valor de t-Student en nuestro estudio es 3,636. Concluyendo que nuestro resultado está fuera de la zona de aceptación y deduciendo que nuestra hipótesis nula es aceptada y se rechaza la hipótesis alterna.

La significancia estadística en nuestro estudio con relación a la edad y la alteración de la acetilcolinesterasa, con grados de libertad de 39 según la tabla de valores de t-Student tenemos un valor límite de 1,6849, según nuestro análisis realizado el valor de t-Student relacionando a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, población objeto de estudio es 4,125 es decir que nuestro resultado está fuera de la zona de aceptación, deduciendo que nuestra hipótesis nula es aceptada y se rechaza la hipótesis alterna.

La significancia estadística en nuestro estudio con relación al género y la alteración de la acetilcolinesterasa, con grados de libertad de 39 según la tabla de valores de chi cuadrado tenemos un valor límite de 37,3354, según nuestro análisis realizado el valor de chi cuadrado relacionando a agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, población objeto de estudio es 37,4734 es decir que nuestro resultado está fuera de la zona de aceptación, deduciendo que se acepta nuestra hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

La significancia estadística en el presente estudio en relación al tiempo de exposición y la alteración de la acetilcolinesterasa, con grados de libertad de 39 según la tabla de valores de chi cuadrado tenemos un valor límite de 37,3354, según nuestro análisis realizado el valor de chi cuadrado en relación de agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, población objeto de estudio es 4,569. Concluyendo que nuestro resultado 4,569 está dentro de la zona de aceptación, deduciendo que nuestra hipótesis alterna es aceptada y se rechaza la hipótesis nula.

La significancia estadística en el presente estudio en relación al uso o no de medidas de bioseguridad y la alteración de la acetilcolinesterasa, con grados de libertad de 39 según la tabla de valores de chi cuadrado tenemos un valor límite de 37,3354, según nuestro análisis realizado el valor de chi cuadrado relacionando a los agricultores

expuestos a plaguicidas organofosforados, población objeto de estudio es 2,669. Concluyendo que nuestro resultado 2,669 está dentro de la zona de aceptación, deduciendo que nuestra hipótesis alterna es aceptada y se rechaza la hipótesis nula.

CAPÍTULO V

4.1. Conclusiones:

- En nuestro estudio logramos evidenciar que la exposición a plaguicidas tipo organofosforados puede ocasionar alteraciones en el estado de salud, evidenciado con la disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa, a pesar de no resultar estadísticamente significativa para la población objeto de estudio.
- En nuestra investigación no se evidencia afección en la función hepática de los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, en vista que no se observa cambios relevantes en la concentración enzimática de; TGO, TGP, bilirrubinas y fosfatasa alcalina.
- Se evidencia que la disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa en agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados, no se ve influenciada por la edad y sexo de la población.
- En nuestro estudio se observó que el tiempo de exposición a plaguicidas de tipo organofosforados va a influir en la disminución de la concentración de la enzima acetilcolinesterasa, ya que la población afectada en nuestra investigación presentó un tiempo de exposición entre 11 y 31 años.
- Se logro determinar que el desconocimiento de las medidas de bioseguridad para la manipulación de plaguicidas organofosforados, aumenta la probabilidad de presentar afección en el estado de salud, evidenciada con la disminución en la concentración de la enzima acetilcolinesterasa, concluyendo que es un factor predisponente para la alteración del estado de salud.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Bibliografía:

6. Silverio C, Ramón G, Guzmán E. Agricultores expuestos a compuestos organofosforados en el sitio la Cuca, cantón Arenillas, provincia de El Oro. 2015;1:35–7.
8. Iza M. universidad central del ecuador carrera de laboratorio clínico e histotecnológico “ determinación de daño hepático mediante tgo – tgp y fosfatasa alcalina en personal expuesto a plaguicidas en una empresa florícola de mayo a junio 2016 ” Trabajo de Titula. 2016
15. Rozman C. Medicina Interna, Hepatología. 1vols. 18ª ed. España: Elsevier Editores: 2016.
16. Rodwell V, Bender D, Botham K, Kennelly P. Harper Bioquímica Iustrada. 30ª ed. Mc. Graw.Hill; 2015.
17. Kasper D, Fauci A, Hauser S. Harrison Principios de Medicina Interna. 19ª ed. Mc. Graw.Hill; 2017.

Linkografía:

1. ebe6daa2751575d33a95c25543e666a2511fb134 @ www.who.int. Available from: <http://www.who.int/bulletin/volumes/86/3/07-041814-ab/es/>
3. 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>
4. Scielo @ Www.Scielo.Org.Pe [Internet]. 2015. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-99932007000100014&script=sci_pdf
5. Miguel Laufer. Scielo @ Www.Scielo.Org.Ve [Internet]. Vol. 20, Investigación y Postgrado. 2005. Available from: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-18442007000100003&script=sci_arttext

9. 阿部貴晃, 北川貴士, 佐藤克文. 温度補償が関係する@仙台No Title. 2018;
Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16714/1/T-UCE-0014-CME-043.pdf>
10. toxicologia-clinica @ www.digitaliapublishing.com [Internet]. Available from: <http://www.digitaliapublishing.com/a/34787/toxicologia-clinica>
11. A DGF, Mancipe LC, Diana G. INTOXICACIÓN POR ORGANOFOSFORADOS Introducción Plaguicidas. 2010;18(49):84–92.
Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/med/v18n1/v18n1a09.pdf>
14. Scielo @ [Www.Scielo.Edu.Uy](http://www.scielo.edu.uy) [Internet]. Available from: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?pid=S1688-03902006000200001&script=sci_arttext

Citas bibliográficas bases de datos UTA

2. agricultores-riesgo-uso-agroquimicos @ www.scopus.com [Internet].
Available from: <https://scopus.com//2017/05/10//4853501/agricultores-riesgo-uso-agroquimicos>
7. +J<92<-6. 2004;1221101. Available from: <http://ebookcentral.proquest.com.ar/img/inserto53.pdf>
12. Mougayar W, Buterin V. Reader @ Ebookcentral.Proquest.Com [Internet].
Available from: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/agder/reader.action?docID=1463546>
13. otros. Insecticidas. :39–54. Available from: <https://ebookcentral.epa.gov/sites/production-es/files/2015-09/documents/spch4.pdf>
18. A DGF, Mancipe LC, Diana G. INTOXICACIÓN POR ORGANOFOSFORADOS Introducción Plaguicidas. 2010;18(49):84–92.
Available from: <http://www.e-libro.com/pdf/med/v18n1/v18n1a09.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1: Resultado de la encuesta realizada a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados del cantón Píllaro.

	EDAD	Ocupación	Años dedicados a la A.	Año dedicados a la agricultura	Nivel de instrucción	Señale tres plaguicidas que usa con frecuencia			Señale si alguno de estos equipos Emplea durante la fumigación				
						1	2	3	Mascarilla	Gafas	Guantes	Camisa manga larga	Ninguna de los anteriores
1	47	Agricultura	25	22	Secundaria		Butaclor	Clorprofam			Guantes		
2	47	Agricultura	18	29	Primaria	Triciclazol		Clorprofam	Mascarilla				
3	52	Agricultura	26	26	Ninguna		Butaclor				Guantes	Camisa	
4	35	Agricultura	6	29	Secundaria		Triciclazol		Mascarilla		Guantes		
5	33	Agricultura	15	18	Primario	Mancozeb	Butaclor						Ninguna protección
6	58	Agricultura	35	23	Primaria			Mancozeb	Mascarilla				
7	39	Agricultura	25	14	Ninguna		Butaclor	Clorprofam	Mascarilla				
8	70	Agricultura	65	5	Secundaria		Butaclor		Mascarilla		Guantes		
9	26	Agricultura	20	6	Secundaria		Ranger						Ninguna protección
10	47	Agricultura	29	18	Primaria		Triciclazol	Butaclor					Ninguna protección
11	40	Agricultura	30	10	Primaria		ranger						Ninguna protección
12	43	Agricultura	20	23	Secundaria			Clorprofam	Mascarilla				
13	54	Agricultura	16	38	Primaria		Ranger					Camisa	
14	76	Agricultura	8	68	Primaria		Ranger		Mascarilla		Guantes		
15	64	Agricultura	30	34	Ninguno			Clorprofam	Mascarilla			Camisa	
16	39	Agricultura	14	25	Ninguna		Ranger			Gafas			
17	33	Agricultura	24	9	Secundaria			Clorprofam		Gafas	Guantes		
18	26	Agricultura	18	8			ranger	Clorprofam	Mascarilla				
19	39	Agricultura	34	5	Secundaria		ranger				Guantes		
20	51	Agricultura	15	36	Primaria		Butaclor		Mascarilla				

	EDAD	Ocupación	Años dedicados a la A.	Año dedicados a la agricultura	Nivel de instrucción	Señale tres plaguicidas que usa con frecuencia			Señale si alguno de estos equipos Emplea durante la fumigación					
						1	2	3	Mascarilla	Gafas	Guantes	Camisa manga larga	Ninguna de los	
23	31	Agricultura	14	17	Superior		Triciclazol	Clorprofam		Mascarilla				
24	36	Agricultura	15	17	Superior		Ranger				Guantes	Camisa		
25	32	Agricultura	17	25	Secundaria		Ranger							Ninguna protección
26	37	Agricultura	15	22	Superior		Triciclazol	Clorprofam						Ninguna protección
27	48	Agricultura	16	12	Superior		Triciclazol			Gafas				
28	36	Agricultura	30	6	Superior		Ranger				Guantes			
29	44	Agricultura	9	32	Superior		Ranger		Mascarilla					
30	41	Agricultura	15	18	Superior		Triciclazol	Clorprofam		Gafas	Guantes			
31	49	Agricultura	15	13	Secundaria		Ranger			Gafas	Guantes			
32	47	Agricultura	22	9	Secundaria		Ranger		Mascarilla		Guantes			
33	28	Agricultura	20	12	Secundaria			Clorprofam	Mascarilla		Guantes			
34	52	Agricultura	25	26	Primaria		Triciclazol		Mascarilla					
35	28	Agricultura	19	19	Primaria		Triciclazol		Mascarilla					
36	50	Agricultura	23	21	Secundaria			Clorprofam	Mascarilla					
37	30	Agricultura	22	18	Primaria		Ranger	Clorprofam	Mascarilla					
38	29	Agricultura	23	15	Primaria		ranger		Mascarilla					
39	36	Agricultura	25	19	Primaria		Triciclazol		Mascarilla		Guantes	Camisa		
40	56	Agricultura	24	13	Secundaria		Ranger	Clorprofam	Mascarilla		Guantes			

ANEXO 2: Resultado de la medición de la concentración sérica de acetilcolinesterasa y perfil hepático.

	EDAD	G.ROJOS	Ht	Hb	COLINESTERASA	TGO	TGP	BILIRRUBINA D	BILIRRUBINA I	BILIRRUBINA T	F. ALCALINA
	Años	X1000/mm3	%	g/100ml	UI/L	UI/l	UI/l	mg/dl	mg/dl	mg/dl	UI/l
1	47	5'720.000	47.9	16.5	5110	17.7	38.9	0.2	0.4	0.6	67.8
2	47	5'810.000	50.2	18	5680	16.6	29.1	0.2	0.3	0.5	78.5
3	52	5'100.000	45.2	14.6	3929	18.3	24.2	0.4	0.2	0.6	170.4
4	35	5'300.000	44.6	14.9	4745	21	18.8	0.3	0.4	0.7	127.1
5	33	4'460.000	39.9	13.3	2859	15.5	14.4	0.4	0.7	1.1	36.6
6	58	5'270.000	47	15.9	5646	28.9	28.3	0.5	0.5	1.0	25.8
7	39	5'680.000	50.7	18.5	4026	19.9	21.9	0.4	0.3	0.7	202.4
8	70	7'560.000	63.8	23.5	3269	18	16	1.5	0.7	2.2	207.8
9	26	5'880.000	49.9	17.1	2749	21.6	21.7	0.5	0.3	0.8	60.8
10	47	4'590.000	31.5	8.9	2540	9.7	11.9	0.3	0.3	0.6	134.7
11	40	5'330.000	47.2	15.8	2860	16.9	22.8	0.2	0.1	0.3	42.8
12	43	5'340.000	47	15.7	2869	11.9	12	0.2	0.1	0.3	67.2
13	54	5'360.000	45.2	15.0	4144	14.9	18.9	0.6	0.2	0.8	88.5
14	76	4'780.000	41.6	13.9	5076	16.4	23.1	0.8	0.4	1.2	242.9
15	64	6'790.000	50.1	14.6	3515	25.1	27.9	0.2	0.2	0.3	67.4
16	39	4'240.000	34.3	11	3819	33.1	34.4	0.8	0.5	1.3	60.5
17	33	4'790.000	42.5	14.7	4500	18.8	25.9	0.3	0.1	0.4	187.3
18	26	4'670.000	40	13.7	3390	12.6	9.2	0.8	0.5	1.3	147.6
19	39	4'700.000	42.9	14.1	4852	20.7	17.6	0.3	0.2	0.5	50.6
20	51	4'840.000	42.7	14	4703	26	20.9	0.3	0.4	0.7	51.8

	EDAD	G. ROJOS	Ht	Hb	COLINESTERASA	TGO	TGP	BILIRRUBINA D	BILIRRUBINA I	BILIRRUBINA T	F. ALCALINA
	años	X1000/mm3	%	g/100ml	UI/L	UI/l	UI/l	mg/dl	mg/dl	mg/dl	UI/l
21	33	4'650.000	38	12.5	4392	12.2	11.6	0.4	0.2	0.6	58.4
22	38	6'070.000	50.8	17.3	2980	17.1	8.2	0.3	0.2	0.5	140.6
23	31	5'210.000	46.5	15.8	4085	21.7	15.9	0.3	0.3	0.6	144.5
24	36	5'550.000	47.8	17.1	3382	19.6	13.5	0.3	0.2	0.5	206
25	32	5'250.000	44.8	15.7	2989	20.5	8.9	0.4	0.2	0.6	222
26	37	5'840.000	50.4	16.1	3098	10.1	10	0.4	0.2	0.6	193.9
27	48	5'100.000	44.2	15.6	4449	7.2	10.8	0.4	0.2	0.6	110.5
28	36	5'860.00	51.7	17.7	4557	14.9	11.3	0.2	0.3	0.5	170.6
29	44	5'570.000	50.8	17.6	4372	26.4	27.7	0.4	0.2	0.6	250.6
30	41	5'540.000	49.3	17.4	4890	13.7	21.8	0.7	0.3	1.0	280
31	49	4'840.00	43.1	14.8	6091	16.1	28.8	0.8	0.2	1.0	270
32	47	4'890.000	45.2	13.3	4416	13.3	37.3	0.8	0.2	1.0	287.2
33	28	4'290.000	39.6	12.8	3667	12.8	25	1.2	0.4	1.6	279.8
34	52	4'690.000	41.7	13.3	4364	24.2	40.1	0.6	0.3	0.9	344
35	28	5'140.000	43.7	14.6	4915	22.9	11.2	0.6	0.2	0.8	418
36	50	4'890.000	45.8	14.8	4850	3.3	9.8	0.4	0.4	0.8	452
37	30	5'570.000	47.8	16.6	4733	25.8	17	0.9	0.2	1.1	480
38	29	4'230.000	36.7	11.9	4783	23.7	32.8	0.3	0.1	0.4	400
39	36	5'500.000	45	14.5	5761	20.3	30.3	0.2	0.2	0.4	452
40	56	5'100.000	50.4	17.3	3500	12.4	34.6	0.3	0.4	0.7	144.5

Anexo 3: formulario de encuestas dirigido a los agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados 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: Kg. Talla: cm.

2) Edad _____

3) Desde que edad se dedicó a la agricultura ? 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 :

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?		
2. Fuma?		
3. Hubo abortos en la familia?		
4. Algún miembro familiar presenta malformaciones (discapacidad)?		

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		
2.Presión elevada		
3.Problemas en la piel		
4.Neumonía, Asma o Bronquitis		
5.Enfermedades del corazón		
6.Cáncer		
7.Problemas del riñón		
8.Hepatitis		
9.Tiroides		
10.Tembolor involuntario(Parkinson)		

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

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

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

III. DATOS TOXICOLÓGICOS (Percepción de riesgo)

Señale tres plaguicidas que usa con mas frecuencia	1	2	3

Cuál es la dosis de plaguicida que emplea por hectárea de cultivo? _____

Cuál es la cantidad de terreno que fumiga? _____

Cuántas fumigaciones realiza al año? _____

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

La última vez que fumigó fue _____

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

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

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

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

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


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. Primero se alimenta y luego se da un baño

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

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

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 _____ Firma del Participante _____

Teléfono ó Email de Contacto para la entrega de resultados _____

GPT (ALAT) IFCC mod.

Prueba liquiUV

Alanina aminotransferasa (EC 2.6.1.2)

Presentación del estuche

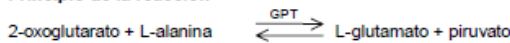
REF	12212	16 x 5 ml	Estuche M-test completo
	12012	10 x 10 ml	Estuche completo
	12022	8 x 50 ml	Estuche completo
	12032	4 x 250 ml	Estuche completo

IVD

Método¹

Método cinético 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 piridoxalfosfato.

Principio de la reacción



Contenidos

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

Preparación del reactivo y estabilidad

Procedimiento 1; partida con substrato

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 SUB en un frasco BUF, mezclar cuidadosamente.

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

REF 12012: Pipetear 2 ml del frasco SUB en un frasco BUF 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

Paso de luz: 1 cm

Temperatura: 25°C, 30°C o 37°C

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

Llevar los reactivos y cubetas a la temperatura deseada. La temperatura debe permanecer constante (± 0,5°C) durante la prueba.

Procedimiento 1 *

Pipetear en cubetas	25°C, 30°C	37°C
Muestra	200 µl	100 µl
BUF	1000 µl	1000 µl
Mezclar, incubar por 5 minutos a la temperatura deseada		
SUB	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 2 *

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.		

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

Cálculos

Para cambios de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min.}$) entre 0,06-0,08 (Hg 365 nm) ó de 0,12-0,16 (Hg 334 nm, 340 nm) emplear la medición de los 2 primeros minutos en el cálculo. (1 minuto de incubación, 2 minutos de medición).

U/l = $\Delta A/\text{min} \times$	partida con muestra		partida con substrato	
Longitud de onda	25°C, 30°C	37°C	25°C, 30°C	37°C
Hg 334 nm	971	1780	1173	2184
340 nm	952	1745	1151	2143
Hg 365 nm	1765	3235	2132	3971

Factor de conversión de unidades tradicionales U/l en unidades SI kat/l

$$1 \text{ U/l} = 16,67 \times 10^{-3} \text{ µkat/l}$$

$$1 \text{ µkat/l} = 60 \text{ U/l}$$

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 [U/l]	37°C [U/l]
Hg 365	0,080	170	320
Hg 334/340	0,160	190	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 vía www.human.de/data/gb/vr/en-gptli.pdf ó www.human-de.com/data/gb/vr/en-gptli.pdf

Valores de referencia^{6,8}

Temperatura	25°C	30°C	37°C	IFCC*
Hombres hasta	22 U/l	30 U/l	42 U/l	45 U/l
Mujeres hasta	17 U/l	23 U/l	32 U/l	34 U/l

* con activación por piridoxalfosfato

Control de calidad

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

Nosotros 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

BUF y SUB contienen azida de sodio (0,095%). No ingerirlo. Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.

Literatura

1. Clin. Chim. Acta 105, 147-172 (1980)
2. Synopsis der Leberkrankheiten: H. Wallnöfer, 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., Zawta, B., Klin. Lab. 38, 555-561 (1992)

EN-GPTLI
INF 1221201 E
09-2005-15



Human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de

Anexo 5: Técnica para el análisis de aspartato aminotransferasa.

GOT (ASAT) IFCC mod.

Prueba liquiUV

Aspartato aminotransferasa (EC 2.6.1.1)

Presentación del estuche

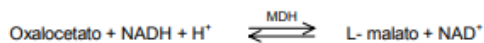
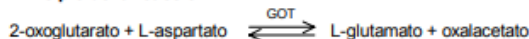
REF	12211	16 x 5 ml	Estuche M-Test completo
	12011	10 x 10 ml	Estuche completo
	12021	8 x 50 ml	Estuche completo
	12031	4 x 250 ml	Estuche completo

IVD

Método¹

Método cinético 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 piridoxalfosfato.

Principio de la reacción



Contenidos

REF	12211	12011	12021	12031
BUF	16 x 4 ml	10 x 8 ml	8 x 40 ml	4 x 200 ml
SUB	1 x 16 ml	2 x 10 ml	8 x 10 ml	4 x 50 ml

BUF Buffer / reactivo enzimático

Buffer TRIS (pH 7,8)	100 mmol/l
L-aspartato	300 mmol/l
LDH	≥ 0,9 kU/l
MDH	≥ 0,6 kU/l

SUB Substrato

2-oxoglutarato	60 mmol/l
NADH	0,9 mmol/l

Preparación de reactivos y estabilidad

Procedimiento 1, partida con substrato

Los reactivos están listos para usar.

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.

Procedimiento 2, partida con muestra

REF 12031 y 12021: Poner el contenido de un frasco **SUB** en un frasco **BUF**, mezclar cuidadosamente.

REF 12211: Pipetear 1 ml del frasco **SUB** en un frasco **BUF** respectiva, mezclar cuidadosamente.

REF 12011: Pipetear 2 ml del frasco **SUB** en un frasco **BUF** respectiva, mezclar cuidadosamente.

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

Muestras

Suero, plasma con heparina ó 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 334 nm
 Paso de luz: 1 cm
 Temperatura: 25°C, 30°C o 37°C
 Medición: Frente al aire (disminución de la absorbancia)
 Llevar los reactivos y las cubetas a la temperatura deseada. La temperatura debe permanecer constante (± 0,5°C) durante la prueba.

Procedimiento 1 *

Pipetear en cubetas	25°C, 30°C	37°C
Muestra	200 µl	100 µl
BUF	1000 µl	1000 µl
Mezclar, incubar por 5 minutos a la temperatura deseada		
SUB	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 2 *

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.		

* Método semi micro; para métodos macro multiplicar volúmenes por 2.

Cálculos

Para cambios de absorbancia por minuto (ΔA/min.) de 0,06 a 0,08 (Hg 365 nm) ó de 0,12 a 0,16 (Hg 334 nm, 340 nm) (procedimiento 1+2) sólo emplear la medición de los 2 primeros minutos en el cálculo (1 minuto de incubación, 2 minutos de medición).

U/l = ΔA/min x	partida con muestra		partida con substrato	
Longitud de onda	25°C, 30°C	37°C	25°C, 30°C	37°C
Hg 334 nm	971	1780	1173	2184
340 nm	952	1745	1151	2143
Hg 365 nm	1765	3235	2132	3971

Factor de conversión de unidades tradicionales U/l a unidades SI, kat/l:

1 U/l	= 16,67 x 10 ⁻² µkat/l
1 µkat/l	= 60 U/l

Características de la ejecución

Linealidad

Si la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA/min.) o la actividad excede

Longitud de onda [nm]	ΔA/min	25°C, 30°C [U/l]	37°C [U/l]
Hg 365	0,080	170	320
Hg 334/340	0,160	190	350

diluir 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 consumado 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/gb/vr/en-gotli.pdf ó www.human-de.com/data/gb/vr/en-gotli.pdf

Valores de referencia^{5,6}

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

* con activación por piridoxalfosfato

Control de calidad

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

Nosotros 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.

Notas

BUF y **SUB** contienen azida de sodio (0,095%). No ingerirlo. Evitar el contacto con la piel y membranas mucosas.

Literatura

1. Clin. Chim. Acta **70**, 19-42 (1976)
2. Synopsis der Leberkrankheiten: H. Wallnöfer, 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., Zawta, B., Klin. Lab. **38**, 555-561 (1992)

EN-GOTLI
 INF 1221101 E
 12-2004-16



human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
 Max-Planck-Ring 21 • D-65205 Wiesbaden • Germany
 Telefon: +49 6122 9988 0 • Telefax: +49 6122 9988 100 • e-Mail: human@human.de

Anexo 6: Técnica para el análisis de fosfatasa alcalina.



Fosfatasa 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 periodo 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 desdobra 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 + P351 + 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 ⁹⁵	S ⁹⁵	D ⁹⁵
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 ⁹⁵
Standard	-	50 ul	-
Mezclar, incubar exactamente 10 minutos (cronómetro) y agregar:			
Reactivo C	2,5 ml ¹²⁵⁰	2,5 ml ¹²⁵⁰	2,5 ml ¹²⁵⁰

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, siéndole 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 $\leq 0,5\%$, semiancho 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. 1361003).

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 139:363 (1967).
- 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: Técnica para el análisis de bilirrubinas directa y total.

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
IVD			

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

Acido sulfanílico +nitrito 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)	
	Acido sulfanílico	14 mmol/l
	Acido clorhídrico	300 mmol/l
	Cafeína (acelerador)	200 mmol/l
	Benzoato de sodio	420 mmol/l
TNR	1 x 9 ml Reactivo T-nitrito (tapa blanca)	
	Para la determinación de bilirrubina total	
	Nitrito de sodio	390 mmol/l
	(Xn, R 22)	
DBR	1 x 100 ml Reactivo de bilirrubina directa (tapa azul)	
	Acido sulfanílico	14 mmol/l
	Acido clorhídrico	300 mmol/l
DNR	1 x 9 ml Reactivo D-nitrito (tapa azul)	
	Para la determinación de bilirrubina directa	
	Nitrito de sodio	25 mmol/l

Preparación y estabilidad de los reactivos

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

Muestras

Suero ó 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
Paso 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 (ΔA_{546}).		

* 1 gota = 40 µl

Para bilirrubina directa

Pipetear en las cubetas	Blanco	Muestra
DBR	1000 µl	1000 µl
DNR	---	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 (ΔA_{546}).		

* 1 gota = 40 µl

Cálculos

Calcular la concentración de bilirrubina total y directa usando el factor 13,0.

$$C = \Delta A_{546} \times 13,0 = \text{mg/dl}$$

$$[\text{mg/dl}] \times 17,1 = [\mu\text{mol/l}]$$

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/su-bildt.pdf o www.human-de.com/data/gb/vr/su-bildt.pdf

Valores de referencia

Bilirrubina total	[mg/dl]	[µmol/l]
Recién nacido, hasta:	5	85,5
5 días, hasta:	12	205
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 nitrito 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 (1938)
- Van der Bergh, A. A., Muller, P., Biochem. Z. **77**, 90 (1916)

SU-BILD
INF 1074001 E
11-2004-14



human

Human Gesellschaft für Biochemia und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - e-Mail: human@human.de

ANEXO 8: Fotografías del proceso para el análisis de muestras en agricultores.

Fotografía 1. Agricultores objeto de estudio en el cantón Píllaro.



Fotografía 2. Día internacional de la papa en donde se tomaron las muestras biológicas a los agricultores objeto de estudio.



Fotografía 3. Material de extracción sanguínea.



Fotografía 4. Toma de muestras a los agricultores objeto de estudio.



Fotografia 5. Equipo para centrifugar las muestras.



Fotografia 6. Equipo hematológico.



Fotografía 7. Equipo de Química Clínica.

