

Colinesterasa y Neurotoxicidad de acuerdo a grupos de exposición a plaguicidas en el sector florícola

Autores:

Sylvia Liliana Guerrero Lana (silvia_guerreroec@yahoo.com)

Roger Xavier Gamarra Guerrero (rogerx-gg18@hotmail.com)

Verónica Soledad Guerrero Agila (vesol25@hotmail.com)

Fernando Patricio Guerrero Lana

Institución:

Universidad Central del Ecuador

Ministerio de Salud Pública

Hospital Pablo Arturo Suárez

Resumen

El objetivo de la investigación es evaluar el nivel de colinesterasa en sangre y describir los patrones de ocurrencia de sintomatología persistente de neurotoxicidad, en grupos de trabajadores industrialmente expuestos a plaguicidas. La metodología es un estudio descriptivo, no experimental, cuantitativo, transversal, correlacional, retrospectivo, para 200 trabajadores luego de la aplicación de los criterios de inclusión, eliminación, y consideraciones éticas se determinó el nivel de colinesterasa sanguínea mediante los métodos Magnotti y Lovibond junto con el cuestionario PNF.

Para la descripción de la información se elaboraron tasas, medidas de tendencia central y de dispersión. Para evaluar la diferencia entre grupos se utilizó la prueba χ^2 , y se calculó razón de momios.

Determinándose, que en alta exposición se cuenta solo con personal masculino, en moderada exposición el 62,85% correspondió a mujeres. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el riesgo de padecer sintomatología persistente de acuerdo con la edad, antigüedad, fue estadísticamente significativo el riesgo de acuerdo a las áreas de trabajo y puesto.

Los resultados muestran una relación entre la exposición a plaguicidas, colinesterasa eritrocitaria y la presencia de síntomas persistentes.

Palabra clave: plaguicidas, colinesterasa, síntomas neurotóxicos, exposición

Abstract

The objective of the investigation is to evaluate the level of cholinesterase in blood and to describe the patterns of occurrence of persistent neurotoxicity symptomatology in groups of workers industrially exposed to pesticides. The methodology was a descriptive, non-experimental, quantitative, transverse, correlational, retrospective study for 200 workers after the application of inclusion, elimination, and ethical considerations. The blood cholinesterase level was determined using the Magnotti and Lovibond methods with the PNF questionnaire. For the description of the information, rates, measures of central tendency and dispersion were elaborated. To evaluate the difference between groups, the χ^2 test was used, and the odds ratio was calculated.

It was determined that, in high exposure, only male personnel were involved. In the case of moderate exposure, 62.85% were women. There were no statistically significant differences in the risk of persistent symptomatology according to age, age, and the risk was statistically significant according to the areas of work and position.

The results show a relationship between exposure to pesticides, erythrocyte cholinesterase and the presence of persistent symptoms.

Keywords: pesticides, cholinesterase, neurotoxic symptoms, exposure

Introducción

La sociedad en la que vivimos ha estado expuesta a sustancias neurotóxicas desde la existencia de antiguas civilizaciones y la manipulación que estas ejercían sobre el medio ambiente. Estas sustancias neurotóxicas pueden ser nocivas y provocar alteraciones en el correcto funcionamiento del sistema nervioso central. (Guerrero, Gamarra, Gamarra, Guerrero, 2015)

Se cuenta para el apareamiento de sintomatología debido a neurotoxicidad factores como la frecuente exposición a los plaguicidas, ya que su fácil acceso, el uso de tecnologías inseguras para su aplicación y su manipulación por parte de personas sin entrenamiento, entre otras, determinan un mayor riesgo de ocurrencia de intoxicaciones agudas; así mismo, diversos efectos crónicos derivados de la exposición recurrente a bajas dosis de estas sustancias, lo que interfiere en la inhibición de la colinesterasa. (Kamanyire, Karalliedde, 2004); (Adams et al., 2000); (Guerrero, Gamarra, Gamarra, Guerrero, 2015).

Desarrollo

Estado del Arte

La contaminación ambiental producto del uso inadecuado de agrotóxicos representa un problema de gran complejidad, es un problema de Salud Pública porque afecta la salud de los trabajadores que manipulan los productos y de las familias que están expuestas pues al no cumplir un trabajador con las normas mínimas de higiene, contamina su núcleo familiar.

Aunque el uso de plaguicidas es necesario, resulta fundamental evaluar los riesgos para la salud en los seres humanos que están profesional y/o

ambientalmente expuestos a estos agroquímicos. Esta exposición puede ocurrir durante la preparación de la mezcla, en el procesamiento de carga y/o lavado de los equipos de fumigación y en el momento de su aplicación. (Simoniello, Scagnetti, Mastandrea et al., 2007); (Simoniello, Kleinsorge et al., 2008); (Simoniello 2011).

Al contaminarse la mujer, puede afectar al feto en su estado de gestación, debido a que por la sangre de las madres durante la gravidez transmitirán los tóxicos y al nacer los bebés reciben el tóxico a través de la lactancia materna. Por estos motivos, se debe tomar conciencia del trabajo que se está realizando, más aun es preocupante la recurrencia de malformaciones en los niños nacidos y embarazos que se interrumpen en los últimos años por problemas de deformaciones congénitas.

Existe un reporte muy alto de craneosinestosis, así como de leucemia, anemia aplásica, cáncer de mama, colon, hígado, pulmones, entre otros. Además, que los organofosforados si es una mujer en período de lactancia y continua en la actividad agrícola estarán presentes en la leche materna. (Richfield, Barlow & Brooks, 2005); (Davidson, Myers & Weiss, 2004); (Fernández, Sfaello, Bulacio, 2009); (Lukaszewicz, 2008); (Astroflores, 2012); (Porta et al., 2008); (Mejía, 2000); (Hurtado, Gutiérrez de Salazar, 2005) y (Guerrero, Gamarra, Gamarra, Guerrero, 2015).

Las manifestaciones que se presentan como consecuencia son diversas y la degeneración del sistema nervioso puede causar problemas irreversibles como el Parkinson. (Porta et al., 2008). Al hablar de Parkinson la mayoría de los casos son idiopáticos, es decir, no presenta antecedentes familiares obvios y pueden representar el resultado final de una serie compleja de interacciones entre la vulnerabilidad innata de las neuronas de la parte compacta de la sustancia negra (SNPC), la predisposición genética, exposición a plaguicidas y otras sustancias tóxicas, entre otros. (Yankilevich, 2002). Esto es, los mecanismos involucrados en la degeneración de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales incluyen mecanismos como estrés oxidativo, disfunción mitocondrial, excitotoxicidad,

factores neurotróficos, neuroinflamación, infección viral, disfunción proteosomal y apoptosis. (Ortiz et al., 2011); (Dunnett, Bjorklund, 1999).

Estudios demuestran que existen concentraciones detectables de compuestos tóxicos o contaminantes orgánicos persistentes en diversas poblaciones humanas, lo cual demuestra la exposición constante a estas sustancias. Sin embargo, el conocimiento que se tiene acerca de estos compuestos y el potencial neurotóxico que pueden ejercer es escaso, aun cuando su uso en la actualidad es cotidiano. (Porta et al., 2008).

Un estudio publicado en la Revista de Salud Pública de México menciona, citando datos de la Organización Mundial de la Salud, que *“entre 1973 y 1985 el número de casos de intoxicaciones agudas por plaguicidas en el mundo aumentó en 600% y el número de muertos debido a las mismas ascendió de 1 a 7.”* (Palacios, Paz, Hernández & Mendoza, 1999). Estas cifras, indican el problema que representa la exposición a este tipo de sustancias y la necesidad de establecer normas de seguridad para prevenir los efectos adversos por estas, los cuales pueden ser prevenibles, sobre todo cuando se ha vinculado la presencia de enfermedades neurodegenerativas a su exposición (Ruiz, Nieto, Aznar, Colomina, & Sánchez, 2011).

Existen varias clases de agroquímicos que pueden causar alteraciones del desarrollo cerebral al interferir con la función neuroendocrina, la cual está relacionada con las interacciones entre el sistema nervioso y el sistema endocrino. (Gore, 2008); (Weiss, 2011); (Morales et al., 2015). La exposición ocupacional a las mezclas de plaguicidas ha sido asociada con un aumento de estrés oxidativo y daño genotóxico (Simoniello y col., 2008, 2010). Asimismo, Simonsen y otros, establecen una escala de valoración de los efectos neurotóxicos que va desde 1 a 6, dependiendo del tipo de disfunción neurológica ocasionada según lo indicado en la Tabla 1. De acuerdo con su definición, una sustancia será considerada como neurotóxica si existen pruebas documentadas de efectos sobre el sistema nervioso en los niveles 4, 5 y 6 de la Tabla 1. Las sustancias causantes de alteraciones bioquímicas (nivel 3) sólo se consideran neurotóxicas en algún caso muy concreto y bien conocido, como lo es el de los plaguicidas organofosforados.

Los plaguicidas de la familia de los carbamatos, que, al igual que los organofosforados, también producen la inhibición del enzima acetilcolinesterasa, pero de manera reversible, se consideran igualmente sustancias neurotóxicas. Aunque 1 y 2 son consideradas neurotóxicas por estos autores, no se incluyen en la definición por producir tan sólo manifestaciones clínicas subjetivas.

Tabla 1. Efectos neurotóxicos según la clasificación de Simonsen y cols.

Nivel	Grupo	Efectos neurotóxicos
6	Alteraciones morfológicas	Muerte celular, axonopatía y alteraciones morfológicas subcelulares
5	Alteraciones neurológicas	Hallazgos anómalos en exploraciones neurológicas en seres humanos
4	Alteraciones fisiológicas o del comportamiento	Hallazgos experimentales en animales o seres humanos (por ejemplo, variaciones en los potenciales evocados o electroencefalograma o alteraciones en pruebas psicológicas y del comportamiento)
3	Alteraciones bioquímicas	Alteraciones de parámetros bioquímicos importantes (por ejemplo, en el nivel del transmisor, el contenido de proteína-AFG o en actividades enzimáticas)
2	Síntomas subjetivos irreversibles	Síntomas subjetivos. Ausencia de indicios de anomalías en las exploraciones neurológica, psicológica o cualquier otra exploración médica
1	Síntomas subjetivos reversibles	Síntomas subjetivos. Ausencia de indicios de anomalías en las exploraciones neurológica, psicológica o cualquier otra exploración médica

Fuente: tomado de Vela (2003)

El término neuroendocrino, se refiere a la interacción entre el sistema nervioso y el sistema endocrino, donde neuronas especializadas liberan hormonas en la sangre en respuesta a la estimulación del sistema nervioso (Morales et al., 2015). Los compuestos que mimetizan o antagonizan las acciones de las hormonas endógenas, tienen el potencial de causar efectos adversos durante el desarrollo

del sistema nervioso, en general a estas sustancias se les denomina como compuestos disruptores endocrinos (CDEs).

En el año 2000, la Comisión Europea recopiló una lista de posibles CDEs que incluye cerca de 550 compuestos químicos, de los cuales 189 son plaguicidas o sus metabolitos (Morales et al., 2015). Los CDEs actúan desde la etapa temprana del neurodesarrollo alterando funciones metabólicas, las cuales incrementan la susceptibilidad de padecer enfermedades en la edad adulta. (Ortega et al., 2005).

Según Tellerias y París (2008) y Ortega et al (2005) entre los efectos que producen las sustancias neurotóxicas en niños, se encuentran: Desórdenes de aprendizaje, retraso madurativo, autismo, problemas de conducta, déficit en la atención hiperactividad; náuseas, mareos, vértigos, irritabilidad, euforia, descoordinación de movimientos, alteraciones de la memoria y del comportamiento y alteraciones de los nervios periféricos.

Mientras que en la edad adulta, el compromiso neurológico que se presenta está asociado al nivel de exposición, por lo tanto una vez suspendida la fuente de intoxicación los efectos pueden ser reversibles. Ejemplo de organofosforados asociados con la neuropatía periférica son “*tri-o-cresil fosfatos, leptofos, mipafox, clorfos, triclofon, malatión, parathión, metrifonato y metamidofos*”. (Lauwerys, 1994); (Lukaszewicz-Hussain, 2008); (Guerrero, Gamarra, Gamarra, Guerrero, 2015).

En un estudio controlado y presentado por el grupo de Savage en 1988, donde se evaluó a 100 sujetos que habían sufrido intoxicación por Organos fosforados (OP), desde 1950 a 1976, se señalaba alteraciones neuropsicológicas tras la intoxicación a OP se comparó su ejecución con la de un grupo de controles de similares características, tanto los participantes como sus cónyuges completaron algunos cuestionarios subjetivos referente a las habilidades de los sujetos en memoria, habilidades de comunicación, académicas, sensoriales, motoras y cognitivas, y estado emocional, los resultados indicaron que no existían diferencias significativas entre el grupo control y el de intoxicados en los exámenes médicos, en los neurológicos, en el electroencefalograma (EEG) ni en la concentración de colinesterasa.

Sin embargo, el examen neuropsicológico demostró alteraciones crónicas en funcionamiento intelectual, habilidades académicas, abstracción y flexibilidad de pensamiento y velocidad y coordinación motora.

Asimismo, en el índice de deterioro de la batería Halstead-Reitan mostraron una puntuación que indicaba daño o disfunción cerebral. Se encontraron también diferencias en algunas de las escalas del inventario de personalidad MMPI, como la de ansiedad social, tendencia a la sensibilidad a las críticas y suspicacia. Los informes subjetivos de los sujetos y sus parejas mostraban diferencias significativas en aspectos del lenguaje y la comunicación, la memoria, el funcionamiento cognitivo y las funciones perceptivas, así como en depresión, irritabilidad y confusión (Roldan, 2004).

En los últimos años, un número suficiente de casos de intoxicación aguda por sustancias anticolinesterásicas ha revelado un patrón reconocible de anomalías neuropsicológicas que pueden detectarse y medirse mediante una evaluación apropiada y con un control exhaustivo de las variables que pueden afectar a dichos resultados: el nivel educativo, la exposición reciente a inhibidores de la colinesterasa, el tipo de intoxicación (leve, media, grave), el tipo de sustancia y otras cuestiones de la vida laboral del sujeto (años de exposición, por ejemplo). (Wesseling, et al. 2002); (Roldan, 2004).

Por otra parte, en algunos estudios se han realizado medidas de colinesterasa a la vez que la exploración neuropsicológica. Esta medida permite controlar si los sujetos se han expuesto recientemente a estos plaguicidas, así como valorar si las posibles diferencias en la actividad de estas enzimas pueden explicar los posibles resultados. Los datos obtenidos por Roldan en el 2004 mediante su investigación y en estudios anteriores como el de Wesseling et al. (2002), así como de Gomes, Lloyd, Revitt, Norman (1997); apuntan la idea de la baja capacidad de predicción de los valores de la colinesterasa plasmática respecto a las secuelas neuropsicológicas a largo plazo, lo que guía así la búsqueda hacia otros biomarcadores de neurotoxicidad y hacia otros mecanismos explicativos de estas disfunciones.

En trabajos anteriores, parecen indicar cierta relación entre el grado de intoxicación y los resultados en las tareas de funcionamiento cognitivo y emocional, como señalan Wesseling et al (2002), aun cuando se trata de intoxicaciones medias/leves, se encuentran ciertos dominios cognitivos afectados (visomotoros), síntomas neuropsiquiátricos y una ejecución generalmente más deteriorada en los intoxicados. Éste parece ser el factor común a todos los trabajos, pero, aun así, es difícil establecer una relación entre la dosis y la respuesta y obtener criterios objetivos para la clasificación de los sujetos según el grado de intoxicación. (Roldan, 2004).

Cabe mencionar, que los organofosforados y los carbamatos son compuestos usados en los cultivos de flores. Una vez absorbidos y ya dentro del organismo se unen a la colinesterasa e impiden que cumpla con su función. (Guerrero, Gamarra, Gamarra, Guerrero 2015). El mecanismo de acción ejercido por las sustancias neurotóxicas es la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) la cual se encarga de degradar la acetilcolina (ACh), que cataliza la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina, de esta manera la neurona retorna a un estado de reposo después de ser activada (Grantz & Huan 2010); (Porta 2008 et al).

Este efecto, produce un aumento de las concentraciones de ACh en el espacio sináptico y una sobre estimulación de los receptores colinérgicos, y debido a lo cual se genera la sintomatología característica de esta (López Granero, 2013). También generan complicaciones crónicas cuyo mecanismo de acción aun no es conocido (Ruiz, Muñoz et al., 2011). Estos compuestos tóxicos también son potentes inhibidores de la enzima butirilcolinesterasa que se encuentra en el plasma sanguíneo. El grado de inhibición de estas enzimas es bien aceptado como biomarcador de la intoxicación ocasionada en el hombre por la exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos. (Marsillach et al., 2011); (Morales et al., 2015).

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2015), reporta que se registran anualmente entre uno y cinco millones de casos de intoxicación por plaguicidas a nivel mundial, el 75% de casos corresponden a América Latina (Brito, Arguello 1998); a nivel del Ecuador, se reporta en el Hospital Enrique Garcés que las

principales causas de envenenamiento se encuentran la exposición ocupacional (órganos fosforados y carbamatos).(Catan, Iglesias, 2015); (Gamarra, Corella, 2017).

En Latacunga del 2005 al 2007 se presentaron 44.931 casos de intoxicaciones de ellos 14.145 casos se dieron por órganos fosforados. (Villafuerte, 2010); (Catan, Iglesias, 2015). En Ambato, el 94% de trabajadores del sector agrícola no conocen o tienen previa capacitación acerca del buen manejo de plaguicidas (Garcés, 2015);(Catan, Iglesias, 2015);(Gamarra, Corella, 2017).

En el Ecuador, el cantón Cayambe y Pedro Moncayo, básicamente la economía está basada en la producción de flores, según datos del 2012 se exportó aproximadamente 7666 millones de dólares (+13,4% PIB), en volumen de flores 127 millones de Kg (+8,7% PIB), empleos directos 48.000 (51% mujeres), empleos indirectos 55.000, en esta zona se considera que existen 571 fincas, el promedio de trabajadores por hectárea 11,8 trabajadores. Son importantes estos datos ya que la aplicación de plaguicidas es una práctica común para el control de plagas indeseables y evitar pérdidas significativas en la producción (Guerrero, Gamarra, Gamarra, Guerrero, 2015); (Gamarra, Corella, 2017).

La exposición significativa a plaguicidas en los trabajadores encargados de la manipulación y aplicación, ocasiona riesgos para su salud en la medida en que no se cuente con un control real en el proceso productivo, ni con los elementos de protección adecuados, o con la capacitación para el manejo de este tipo de productos que son utilizados sin el respectivo concepto técnico donde los cultivos de flores son el motor económico de esta zona, por lo que la gran mayoría de los productores manejan las flores como cultivos perennes (Gamarra, Corella, 2017).

Para el 2015 en el Ecuador existían cerca de 4.200 hectáreas de flores, de las cuales el 75% son hectáreas de rosas. En el tercer trimestre de 2015, las exportaciones de flores experimentaron una mejora con un crecimiento del 22%, al pasar de 143 millones exportados en el tercer trimestre de 2014 a 164 millones en el mismo período del 2015. Por su parte, el volumen exportado medio en toneladas métricas registró un crecimiento del 14% (Expoflores, 2016)

La Dirección General de Corporación Quiport, informó que 13.766 toneladas métricas de flores se exportaron en la temporada de San Valentín 2017 por el Aeropuerto Internacional Mariscal Sucre de Quito, entre el 23 de enero y el 10 de febrero. (Diario El Telégrafo, 2017), estos datos nos hacen pensar en el proceso productivo y por ende la aplicación de plaguicidas, y el posible efecto nocivo en el trabajador.

Cuando el trabajador se ha visto sometido a una prolongada exposición a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa, se recomienda medir la enzima eritrocitaria; en cambio, si la exposición ha sido aguda se prefiere medir la enzima plasmática (Magnotti, Eberly, Quarm, McConell, 1987); (Magnotti, Dowling, Eberly, McConell, 1988); (Carmona, 2003); (Guerrero, Gamarra, Gamarra, Guerrero, 2015); (Gamarra, Corella, 2017). (Chanco, Vega, 2016).

Es importante recordar algunas consideraciones respecto a los métodos de medición de colinesterasa, el método de Lovibond considera un nivel basal de 25% de inhibición; el valor de referencia menor de 75% indicará la necesidad de tomar acción y será la señal de alteración del sistema, es un método simple, barato, rápido y no invasivo, susceptible de ser analizado con espectrofotómetro. (OPS, 1999); (Guerrero, Gamarra, Gamarra, Guerrero, 2015); (Gamarra, Corella, 2017). Para el método de Magnotti se presenta niveles basales para plasma y eritrocitos establecidos en el estudio efectuado en Colombia, los cuales fueron:

Tabla 2. Valores de colinesterasa en plasma y eritocitariamente.

País	Plasma		Eritrocitaria	
	H	M	H	M
COLOMBIA	2.54 UI/ML.	2.23 UI/ML	34.69 UI/GHB	34.50 UI/GHB
Intervalo	(2,47 – 2.60)	(2.53 – 2.98)	(34,17 – 35.02)	(34.02 -34.97)

Fuente: Pineda J. 2007. Elaborado Guerrero S., 2015

Es importante hacer hincapié, que la población estudiada fue de 18 a 59 años ubicados entre 1.500 a 2.500 metros sobre el nivel del mar, estudio efectuado en 1987 con 47 personas, debido a este aspecto las condiciones de la población y altura sobre el nivel del mar de Quito y Cayambe pareció el método adecuado para la investigación.

Dentro de los objetivos planteados fueron el describir los patrones de ocurrencia de sintomatología persistente en trabajadores expuestos a plaguicidas y el determinar los niveles de la enzima colinesterasa eritrocitaria. Se consideró como hipótesis que a mayor exposición a plaguicidas neurotóxicos los valores de colinesterasa eritrocitaria disminuirán.

La variable independiente evaluada fue la neurotoxicidad, la variable dependiente la detección cuantitativa del nivel eritrocitaria de colinesterasa en la población estudiada. Entre las variables intervinientes estuvieron el género, años de servicio, puesto de trabajo, el antecedente de comorbilidades, de consumo de medicamentos o de exposición a metales o solventes que pueden asociarse con compromiso neurológico periférico.

Metodología

Se realizó un estudio no experimental, cuantitativo, correlacional, descriptivo, transversal y observacional, donde se aplicó el cuestionario de síntomas neurológicos y psicológicos (PNF) y la extracción de sangre para la determinación de colinesterasa eritrocitaria a 200 trabajadores de 208 que constituían el universo de una empresa florícola del Sector de Cayambe – Ecuador.

A los trabajadores se les informó los objetivos y los beneficios de la investigación y, una vez aceptaron voluntariamente su participación, firmaron un consentimiento escrito. Los criterios de inclusión estuvieron determinados por los trabajadores que estaban expuestos laboralmente a plaguicidas y fueron excluidos los trabajadores no expuestos a estos plaguicidas, las mujeres embarazadas o que estuvieran tomando anticonceptivos orales, los trabajadores con historia de enfermedad hepática o diabetes, personal administrativo, personal que regreso de período de vacaciones o por ausencia médica y todos aquéllos que no aceptaron participar. Se les aplicó una encuesta con la cual se obtuvo información de tipo demográfico, antecedentes ocupacionales, toxicológicos y clínicos. Se llevó a cabo un estudio piloto en 10% del total de los trabajadores, con el fin de realizar los ajustes a la encuesta ocupacional, y el cuestionario PNF. Estas personas no formaron parte de la población del estudio.

Se recolectó una muestra de sangre para la determinación de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, dentro de los tres días siguientes a la exposición a los plaguicidas teniendo en cuenta la toxicocinética de estos grupos de plaguicidas. (Varona, Henao, Lancheros et 2007); (Obiols 2006 1); (Obiols 2006).

La extracción de la muestra de sangre se realizó por punción venosa de miembro superior con aguja vacutainer (en campo), en tubo de 5 ml sin anticoagulante para medir la concentración de colinesterasa sérica, estas muestras se trasladaron al laboratorio de análisis clínico en la población de Cayambe, donde se conservaron en refrigeración hasta ir procesándolas.

Las muestras sanguíneas, fueron procesadas mediante cinética de color basado en la técnica de ELLMAN a 25°C, con el reactivo de trabajo de la casa comercial WIENER “determinación cuantitativa de colinesterasa (che) ivd; posteriormente se reconstituye el sustrato con 3 ml de búfer de la misma casa comercial, pre incubada unos minutos, se agregó 20 ul de suero, la lectura se realizó en espectrofotómetro HUMA LYSER 3000 a una longitud de onda de 405 nm. (Tecles, Martínez, Cerón, 2001); (Tecles, Martínez Subiela, Cerón, 2000);(Maia, Pérez, Soler, 2001),(Simoniello, Scagnetti, Mastandrea,Grigolato, Paonessa, Gigena, Kleinsorge,2007);(Simoniello, Kleinsorge, Scagnetti, Grigolato, Poletta, Carballo,2008);(Simoniello, 2011); (Guerrero, Gamarra, Gamarra, Guerrero, 2015).

El otro instrumento utilizado fue el PNF, creado en el Instituto de Medicina del Trabajo en Alemania por Schreider H., Baudach H., Kemep H., Seeber A. en el 1975 y elaborado para Cuba en su versión 3, por Almirall y colaboradores en 1987, específicamente para registrar los efectos neurotóxicos de sustancias nocivas que se manifiestan a través de síntomas y estados displacenteros. Este estudia además los sistemas funcionales de organización de la actividad psíquica del sistema nervioso central y el estado de salud, en las siguientes esferas:

- Inestabilidad psiconeurovegetativa (PN): Preguntas: 2, 4, 6, 12, 14, 16, 22, 24, 26, 30, 32, 34, 36. Incluye el estudio de síntomas como: cefaleas, vahídos, vértigos, trastornos del sueño, debilidad, cansancio, agotamiento, sensación de frío o calor, sequedad en la boca.

- Síntomas neurológicos (N): Preguntas: 1, 8, 11, 18, 21, 28, 31, 38. Comprende síntomas como mareos, vómitos, pérdida de fuerza muscular, perturbaciones del equilibrio, inseguridad al caminar, hormigueos en pies y manos, trastornos en las relaciones sexuales, pesadez en las articulaciones y temblores en los brazos y piernas.
- Astenia (A): Preguntas: 3, 9, 13, 19, 23, 29, 33. Este se refiere a manifestaciones tales como: no tener ánimos para trabajar, sentirse hastiado de todo, no tener interés para nada, lentitud de los movimientos, no tener energía y no querer saber nada de nadie.
- Irritabilidad (E): Preguntas: 5, 15, 25, 35. Comprende no poder controlarse cuando está bravo, perder la paciencia y ponerse furioso y disgustarse demasiado rápido con las personas.
- Déficit de la concentración y la memoria (K): Preguntas: 7, 10, 17, 20, 27, 37. Comprende distraerse fácilmente, dificultad para recordar cosas sencillas (nombres, personas), falla de memoria, estar distraído, dificultad para concentrarse.

La respuesta “nunca o raramente” recibe la puntuación de 0, “algunas veces” 1, frecuentemente 2 y muy frecuentemente 3. Para la calificación se procede mediante la suma de los puntos obtenidos en los ítems de cada escala tomado por separado.

El distributivo del Cuestionario de síntomas neurológicos y psicológicos se detalla en la Tabla 1.

Tabla 3. Distributivo de signos del Cuestionario de síntomas neurológicos y psicológicos

Esferas	Número preguntas	% Distribución
Inestabilidad psiconeurovegetativa (PN)	13	34,21
Síntomas Neurológicos (N)	8	21,05
Astenia (A)	7	18,42
Irritabilidad (E)	4	10,53
Déficit de la concentración y la memoria (K)	6	15,79

Fuente: Almirall (1997).

Resultados

Se dividió al personal de acuerdo a la exposición a plaguicidas en 3 grupos: alta, media y baja constituyendo de alta al personal de mantenimiento, bodega y fumigación, moderada cultivo y postcosecha y baja administrativos, para el presente se trabajó con el personal de alta y moderada exposición. Determinándose que en alta exposición se cuenta solo con personal masculino, en moderada exposición el 62,85% correspondió a mujeres.

Tabla 4. Distributivo de Puestos de trabajo de acuerdo a Riesgo de exposición a plaguicidas Florícola – Cayambe

Puesto de Trabajo	Alta exposición				Moderada Exposición			
	Hombre		Mujer		Hombre		Mujer	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Fumigación	18	72	0	0	0	0	0	0
Mantenimiento	5	20	0	0	0	0	0	0
Bodega	2	8	0	0	0	0	0	0
Cultivo	0	0	0	0	30	17,14	60	34,28
Postcosecha	0	0	0	0	35	20	50	28,57
TOTAL	25	0	0	0	65	37,14	110	62,85

Fuente Investigación. Elaborada: Guerrero S., 2017.

Las proporciones más altas de síntomas se encontraron en los trabajadores de 25 a 30 años de edad, con 3 a 6 años de antigüedad en la florícola, en el área de alto riesgo de exposición. 24 (11,3%) trabajadores tuvieron antecedentes de intoxicación previa, la prevalencia de sintomatología persistente fue de 8.3 contra 6.5 de los que nunca se habían intoxicado, así como el valor de la colinesterasa alterado en valores bajos. El riesgo de intoxicación aguda previa entre quienes tenían más de 10 años de antigüedad en la empresa fue 4.1 veces mayor que el de aquellos con menos de 10 años ($p < 0.05$).

Tabla 5. Concentrado del Cuestionario PNF en todos los puestos de trabajo de Florícola Cayambe – Ecuador

ESFE	Alto riesgo exposición					Moderado riesgo exposición			
	BODE GA	FUMIGA CION	MANTENI MIENTO	TOTA L	%	POSTCO SECHA	CULTI VO	TOTA L	%
N	36	258	48	342	19,68	440	102	542	21,00
PN	26	247	88	361	20,78	710	182	892	34,57
A	42	315	77	434	24,98	380	93	473	18,33
E	12	8	44	64	3,68	218	53	271	10,50
K	40	408	88	536	30,85	321	81	402	15,58
	156	1236	345	1737		2069	511	2580	

Fuente: Guerrero (2017).

De las personas evaluadas, presentaron efectos de déficit de atención entre moderadamente y sobresaliente, que incluyen síntomas tales como: distraerse fácilmente, dificultad para recordar cosas sencillas (nombres, personas), falta de memoria, estar distraído, dificultad para concentrarse, que pueden comprometer alteraciones en el desempeño de funciones neurológicas atribuibles a posible contaminación o intoxicación.

Los valores de la población expuesta para la variable (K) con las características de moderado o sobresaliente se observan en la tabla 5, la cual reflejó una diferencia significativa ante la presencia de alteraciones neuroconductuales en la población expuesta a plaguicidas, se evidenció una diferencia altamente significativa para alto riesgo de exposición y moderado riesgo de exposición. El ítem estudiado de concentración y memoria, resultó ser el más afectado, esto corresponde a las alteraciones de la esfera cognitiva, descrita por exposición crónica.

Tabla 6. Concentrado de colinesterasa en todos los puestos de trabajo de Florícola Cayambe – Ecuador

	Alto riesgo exposición					Moderado riesgo exposición			
	BOD EGA	FUMIGA CION	MANTENI MIENTO	TOTA L	%	POSTCO SECHA	CULTI VO	TOTA L	%
Normal	1	8	2	11	44	55	64	119	68
Alta	0	1	0	1	4	2	1	3	2,28
Baja	1	9	3	13	52	28	25	53	30,38

Fuente: Guerrero (2017).

Los niveles de colinesterasa en el 52% se encontraron bajos en el personal de alto riesgo de exposición, mientras que en el de moderada exposición correspondió al 30,38%. La prevalencia de sintomatología persistente fue de 8,3 por cada 10 trabajadores; 60% tuvo seis síntomas o más, lo que corrobora que existe una relación directa entre colinesterasa baja y síntomas neurotóxicos.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el riesgo de padecer sintomatología persistente de acuerdo con la edad, antigüedad, fue estadísticamente significativo el riesgo de acuerdo a las áreas de trabajo y puesto.

La media general para colinesterasa normal fue de 6500 considerando que los valores mínimos y máximos fueron de 5750 hasta 8000; con una desviación estándar de 935.41.

Tabla 7. Nivel de colinesterasa en todos los puestos de trabajo en Florícola Cayambe – Ecuador

Valores De colineste rasa eritrocitari a u/l	Moderado riesgo de exposición				Alto riesgo de exposición					
	Postco Secha	%	Culti Vo	%	Fumiga cion	%	Bode ga	%	Mant eni Mien to	%
5000	- 16	27,5	12	13,33	2	11,11	0	0	3	60
5250		8								
5250	- 4	4,70	13	14,44	3	16,66	0	0	0	0
5500										
5500	- 8	9,41	18	20	4	22,22	1	50	0	0
5750										
5750	- 20	23,5	7	7,77	3	16,66	0	0	1	20
6000		2								
6000	- 11	12,9	9	10	5	27,77	0	0	0	0
6250		4								
6250	- 7	8,23	2	2,22	0	0	1	50	0	0
6500										
6500	- 3	3,52	7	7,77	0	0	0	0	0	0

6750											
6750	-	6	7,05	7	7,77	0	0	0	0	1	20
7000											
7000	-	3	3,52	5	5,55	0	0	0	0	0	0
7250											
7250	-	5	5,88	2	2,22	0	0	0	0	0	0
7500											
7500	-	0	0	4	4,44	0	0	0	0	0	0
7750											
7750	-	0	0	3	3,33	0	0	0	0	0	0
8000											
≥ 8000		2	2,35	1	1,11	1	5,55	0	0	0	0
Total		85		90		18		2		5	

**Personal
expuesto**

Media general colinesterasa: (μ):

6500

Desviación estándar general de colinesterasa: (σ):

935.41

Colinester asa Normal	55	64,7 0	64	71,11	8	44,44	1	50	2	40
Colinester asa alta	2	2,35	1	1,11	1	5,55	0	0	0	0
Colinester asa baja	28	32,9 4	25	27,77	9	50	1	50	3	60

Fuente: Guerrero (2017).

Discusión

La determinación de los niveles sanguíneos de colinesterasa se utiliza como método de prevención y diagnóstico previo a la aparición de efectos precoces. Una disminución de la actividad de esta enzima en un 30% indica un nivel de exposición baja, es decir agudo, mientras que niveles menores al 50% ya se relacionan con intoxicación crónica (Vega, Maroto, & Zúñiga, 2010).

En el estudio Vega y col (2010), reportó que la variabilidad de los valores de colinesterasa dentro de un rango del 10%, no se consideran patológicos. En el

presente estudio los valores de esta enzima se encontraron alterados por lo que la exposición a sustancias químicas, utilizadas en la florícola, NO se encuentra regulada y controlada.

En el estudio de Lantieri y col (2009), reporta que la población estudiada estuvo compuesta por sujetos de sexo masculino, cuya edad promedio fue de 35,3 años (desvío estándar DE: 11,1); 4,7% menores de 21 años y 6% mayores de 55 años, en el presente estudio se dividió por área de trabajo cuya edad promedio es de 32,2 años (desvío estándar DE: 7,3).

Gómez y col. (2013), describieron en su revisión bibliográfica que se identifican diversas neurotoxinas como: pesticidas, solventes, metales, compuestos organometálicos y sustancias industriales que afectan el neurodesarrollo, además del uso voluntario de drogas. Goldey, *et al*, 1995; identificaron un grupo de sustancia como “neurotoxinas específicas del desarrollo”, en el presente estudio los trabajadores se encuentran sometidos a sustancias tóxicas determinando la colinesterasa en valores bajos como un marcador para la intoxicación de plaguicidas y la presencia de síntomas neurotóxicos.

Otero y col (2000), reportaron que en general, los efectos de la exposición crónica a plaguicidas suelen ser vagos, especialmente en etapas tempranas de la intoxicación. En esta investigación se encontraron síntomas neurotóxicos importantes, asociados a una colinesterasa baja.

Zambrano (2011), reportó en una población agrícola dedicada al cultivo del banano en el Carmen que de las 120 personas a quienes se les realizó determinación sérica de colinesterasa en el 32,5% (39) de hombres presentó una inhibición de la colinesterasa y en el 9,16% (11) mujeres, a diferencia del presente trabajo que no hubo alteración aparente de la colinesterasa. Se debe contar con valores basales de cada sujeto sometido a la investigación, para de esta manera determinar un seguimiento, aunque es en diferente tipo de empresa la presente investigación se encontró una asociación significativa entre colinesterasa baja y síntomas neurotóxicos.

En la investigación de Catan, Iglesias (2015), se reportó que de los trabajadores entrevistados las personas que anteriormente habían trabajado en florícolas

fueron 37 (52.8%) manteniendo riesgo de exposición a organofosforados, mientras que las personas que trabajaban por primera vez con organofosforados eran 33 (47.1%), se les realizó el examen en sangre venosa de colinesterasa plasmática previo a la exposición a organofosforados observándose en un 97.1% de personas con resultado normal, 1.4% con el valor bajo y 1.4% con el valor elevado, y posteriormente a la exposición laboral se presentó resultados diferentes ya que colinesterasa baja se reportó en 25%; resultados comparables con el presente trabajo en el cual se encontraron alteración de colinesterasa de acuerdo al puesto de trabajo.

Muchos estudios reportan una mayor incidencia de alteraciones neurotóxicas en el género masculino, en este estudio la población está dominada por sexo femenino, para la población de moderado riesgo de exposición, sin embargo en alta exposición la población es exclusivamente del género masculino.

Conclusiones

El objetivo general que fue el de determinar la relación entre los niveles de colinesterasa eritrocitaria y síntomas neurotóxicos debido al nivel de exposición en el uso de plaguicidas en personal de la florícola de Cayambe se cumplió, ya que; los niveles de colinesterasa estaban en relación directa con la presencia de síntomas neurotóxicos.

Los niveles de colinesterasa eritrocitaria y síntomas neurotóxicos en los trabajadores de moderada exposición la colinesterasa en la mayor parte de los trabajadores (ras) se encontró normal, pero los síntomas neurotóxicos ya se encuentran alterados en un valor muy ligero por encima de los valores normales en la esfera Déficit de la concentración y la memoria (K).

Basados en los resultados se puede decir que al parecer las medidas de seguridad asociadas a la prevención de síntomas neurotóxicos dentro de la florícola es deficiente, por lo que se sugiere un mejoramiento en el actual programa.

Referencias Bibliográficas

Adams J, Barone S Jr, LaMantia A, Philen R, Rice DC, Spear L, & Susser E (2000) Workshop to identify critical windows of exposure for children's health:

Neurobehavioral work group summary. Environ Health Perspect, 108 (Suppl 3): 535-544 Cory-Slechta DA, Thiruchelvam

Almirall, P., Del Castillo N., Mayor J. (2002). Revista Cubana de Salud y Trabajo 2002; 3(1-2):40-4

Almirall, P. (2000). Neurotoxicología Apuntes Teóricos y Aplicaciones Prácticas. La Habana. Cuba.

Arnold, D. J. (1993). Basic Guide To Pesticides, Their Characteristics And Hazards, By S. A. Briggs And The Staff Of Rachel Carson Council, Xvii + 283 Pp.

Washington: Taylor & Francis (1992). £28.00 (Hardback). Isbn 1 56032 253 5. The Journal Of Agricultural Science, 121(1), 135.

[Http://Doi.Org/10.1017/S0021859600076899](http://doi.org/10.1017/S0021859600076899).

Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2007). Cholinesterase Inhibitors: Including Pesticides and Chemical Warfare Nerve Agents. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Bernard, J. S. (2000). Mechanisms of toxic injury in the peripheral nervous system: neuropathologic considerations. PubMed, 54 - 69.

Cárdenas, O., Silva, E., Morales, L., & Ortiz, J. (2005). Estudio Epidemiológico De Exposición A Plaguicidas Organofosforados Y Carbamatos En Siete Departamentos Colombianos, 1998-2001. Biomédica, 25, 170–80.

Carmona-Fonseca. (2003). Valores de referencia de la actividad de la colinesterasa eritrocitaria según las técnicas de Michel y EQM® en población laboral de Antioquia, Colombia. Rev Panam. Salud Publica/Pan Am J Public Health 14(5), 2003. Centro Nacional de Salud Ocupacional y Protección del Medio Ambiente para la Salud. Implementación de un método de bajo costo para evaluar exposición a Plaguicidas en trabajadores. Reconocimiento a la gestión de proyectos de mejora: Octubre 2012. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/0/jer/prem_gest_home1/Proyecto%20de%20Mejora%20CENSOPAS.pdf

Claudio L, Kwa WC, Russell AL, Wallinga D. (2011). Testing methods for developmental Neurotoxicity of environmental chemicals. Toxicol Appl Pharmacol. 2000; 164:1-14.

Chanco, P. Corillocla, C., Vega Rivera, E. (2016). Nivel de colinesterasa eritrocitaria y la exposición de los expendedores de plaguicidas organofosforados de la provincia de Huancayo – Junín Agosto – Diciembre 2016 <http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/594/Nivel%20de%20colinesterasa%20eritrocitaria>

Cattan, M., Iglesias C. (2015). Variabilidad de colinesterasa plasmática en personal de alto y bajo riesgo a la exposición de órgano fosforados en florícola Florcita Linda S.A. ubicada en el Cantón Cayambe provincia de Pichincha en el período comprendido entre marzo 2015 – julio 2015. *Repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/9862*

Davidson P., Myers G., & Weiss B (2004). Mercury exposure and child development outcomes. *Paediatrics*, 113 (Suppl 4): 1023-1029.

Dunnett SB, Bjorklund A. Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nature* 1999; 399:A32-9

European Comisión. Directorate-General Environment. Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption – preparation of a candidate list of substances as a basis for priority setting, final report. BKH Consulting Engineers/TNO Nutrition and Food Research, Delft, The Netherlands 2000

Fernández, R. Sfaello I. Bulacio J. (2009). Afecciones particulares de las enfermedades ambientales: Neurotoxicidad. www.bib.ufro.cl/libros/610/Contenido/48221.pdf

Gomes J., LLOYD O, Revitt DM, Norman JN. Erythrocyte cholinesterase activity levels in desert farm workers. *Occup Med* 1997; 47: 90-4

Gore A. Developmental programming and endocrine disruptor effects on reproductive neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol* 2008;29(3):358-374.

Guerrero S., Gamarra R., Gamarra G. R(2014). Neurotoxicidad y Colinesterasa en trabajadores de una florícola en Cayambe – Ecuador. <https://www.prevencionintegral.com/canal-orp/papers/orp-2015/neurotoxicidad-colinesterasa-en-trabajadores-floricola-en-cayambe-ecuador>

Guerrero R., Corella A., (2016) Síntomas Neurotóxicos y relación de los niveles de colinesterasa eritrocitaria debido al nivel de exposición en el uso de plaguicidas en personal de la florícola Fiorentina Flowers Cantón Cayambe Octubre a Noviembre del 2016. <https://prezi.com/n3a6old0c1qi/sintomas-neurotoxicos-y-relacion-de-los-niveles-de-colinest/>

Guerrero R., Corella A., (2016) Síntomas Neurotóxicos y relación de los niveles de colinesterasa eritrocitaria debido al nivel de exposición en el uso de plaguicidas en personal de la florícola Fiorentina Flowers Cantón Cayambe Octubre a Noviembre del 2016. <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/9862>

Henao S., Corey G. Plaguicidas inhibidor de las colinesterasas. Serie Vigilancia 11. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. México D.F: OPS-OMS; 1991.

Hurtado C., Gutiérrez de Salazar M. (2005). Enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. *RevFacMedUnivNacColomb* 2005 Vol. 53 No. Informe ASTROFLORES 2012.

Kamanyire R, Karalliedde L. Organophosphate toxicity and occupational exposure. *Occup Med* 004; 54(2): 69-75.

Lukaszewicz-Hussain, A. (2008). Subchronic intoxication with chlorfenvinphos an organophosphate insecticide, affects rat brain antioxidative enzymes and glutathione level. Department of toxicology, medical university of Bialystok, 46, 82-86.

Magnotti RA Jr, Eberly JP, Quarm DEA, McConell RS. Measurement of acetylcholinesterase in erythrocytes in the field. *Clin Chem* 1987;33:1731–1735. 12.

Magnotti RA Jr, Dowling K, Eberly JP, McConell RS. Field measurement of plasma and Erythrocyte cholinesterases. *Clin Chem Acta* 1988;176(3):315–332.

Maia A., Pérez M., Soler F. Comparación de tres métodos de determinación de la actividad colinesterasa plasmática en perro. *Rev. Toxicol.* (2012) 29: 135-140.

Marsillach J., Richter R., Kim J., Steven R., MacCoss M., Tomazela D., Suzuki S., Schopfer L., Lockridge O, Furlong C. (2011). Biomarkers of organophosphate (OP) exposures in Humans. *Neurotoxicol* 2011; 32:656-660

Mejía, G. (2000). Diccionario aplicado a la Clínica. Santafé de Bogotá, Panamericana, 2 a edición, p. 130. ISBN: 958- 9181 – 51 -1 – 84-7903-611-7

Ministerio de Salud. Situación epidemiológica de las intoxicaciones agudas por plaguicidas en el Perú. Bol. Epidemiológico Vol. 24: Pag.791 – 795. [Internet] 2015. Disponible en:

<http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2015/39.pdf> 4.

Morales Y., Miranda de Contreras L., Di Bernardo M. (2014). Neurotoxicidad de los plaguicidas comoagentes disruptores endocrinos. Neurotoxicity of Pesticides.

www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772014000200007

Obiols J. Plaguicidas organofosforados (II): toxicodinamia y control biológico. [Consultado: febrero de 2006]. Disponible en: http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_513.htm

Obiols J. Plaguicidas organofosforados (I): aspectos generales y toxicocinética. [Consultado: febrero de 2006]. Disponible en: http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_512.htm

Organización Panamericana de la Salud. Situación Epidemiológica de las Intoxicaciones Agudas por Plaguicidas en el Istmo Centroamericano. Bol. Epidemiol. 2002 [Mayo 2016]; Vol. 23 (No. 3): Pág. 5-9. Citado por Montoro Y., Moreno R., Gomero L., Reyes M. en su estudio “Características de uso de plaguicidas químicos y riesgos para la salud en agricultores de la Sierra Central del Perú. 2009. Disponible en: http://cidbimena.desastres.hn/docum/ops/publicaciones/Epidemiologico/EB_v23n3.pdf 3.

Ortega J, Ferris J, Canovas A, Apolinar E, Crehúa E, García J, Carmona M. Neurotóxicos medioambientales (I). Pesticidas: Efectos adversos en el sistema nervioso fetal y postnatal. Acta PediatrEsp 2005; 63:140-149

Ortega J., Ferrís I, Tortajada J, CánovasA., et al (2005).Neurotóxicos medioambientales (I). Pesticidas: efectos adversos en el sistema nervioso fetal y posnatal. Acta Pediatría. Esp 2005; 63: 140-9.<http://www.scielo.org.ve/pdf/inhrr/v45n2/art07.pdf>

- Ortiz G., Et. Al., 2011. Toxicidad de plaguicidas y su asociación con la enfermedad de Parkinson Arch Neurocién (Mex) Vol. 16, No. 1: 33-39; 2011 ©INNN, 2011
- Paris E., Tellerías L., (2008). Impacto de los tóxicos en el neurodesarrollo. Revista Chilena de Pediatría 2008; 79 Supl (1): 55-63
- Pineda J. 2007. Plaguicidas: Monitoreo efectivo de la exposición a carbamatos y organofosforados Cienc Trab. Oct-dic; 9(26):178:181).
- Porta, M., Puigdoménech, E., Ballester, F., Selva, J., Ribas-Fitó, N., Dominguez-Boada, L., Martín-
- Olmedo, P., Olea, N., Llop, S., & Fernández, M. (2008). Estudios realizados en España sobre concentraciones en humanos de compuestos tóxicos persistentes. Gaceta sanitaria, 22, 248-266.
- Richfield E., Barlow B., & Brooks AI (2005). Developmental pesticide exposures and the Parkinson's disease phenotype. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 73: 136-139.
- Savage E., Keefe T., Mounce L., Heaton R., Lewis JA, Burcar P. Chronic neurological sequelae of acute organophosphate pesticide poisoning. Arch Environ Health 1988; 43: 38-45.
- Simoniello, M. F.; Scagnetti J. A.; Mastandrea, C.; Grigolato R.; Paonessa A.; Gigena F.; Kleinsorge, E. C. (2007). "Biomonitoreo de Población Rural expuesta a Plaguicidas". Revista FABICIB, ISSN: 0329-5559. Ed. Centro de Publicaciones, Secretaría de Extensión, Universidad Nacional del Litoral (Santa Fe, Argentina). Vol 11, 73-85.
- Simoniello M., Kleinsorge E., Scagnetti J., Grigolato R., Poletta G., Carballo M. (2008). "DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides mixtures". Journal Applied Toxicology, ISSN: 0260-437X. Ed. Wiley (Chichester, Inglaterra).Vol 28(8) 957-965.
- SimonielloM. (2011). Exposición ocupacional a los Agroquímicos. Evaluación del Daño Genético y su relación con procesos de Estrés Oxidativo. <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/bitstream/handle/11185/433/tesis.pdf?sequence=1>

Slotkin T, Levin E, Seidler F. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate insecticides: Effects on brain development are separable from systemic toxicity. *Environ Health Perspect* 2006; 114(5):746–751

Tecles F., Martínez S., Cerón J. (2001). Influencia de diversas condiciones analíticas en la determinación de colinesterasa en sangre entera mediante el método de Ellman. *Revistas.um.es › Inicio › Vol. 17 (2001) › Tecles*

Tecles F., Martínez S., Bernal L., Cerón J. (2000). Use of whole blood for spectrophotometric determination of cholinesterase activity in dogs. *The Veterinary Journal* 160: 242-249.

Tecles F., Cerón J. (2001). Determination of whole blood cholinesterase on different animal species using specific substrates. *Research in Veterinary Science* (accepted in press). *Revistas.um.es/analesvet/article/viewFile/16431/15851*

Tor E., Holstege D.M., Galey F.C. (1994). Determination of cholinesterase activity in brain and blood samples using a plate reader. *Journal of Association Official of Analytical Chemistry International* 77: 1308-1313.

Wesseling C, Keifer M, Ahlbom A, McConeel R, Moon J, Rosenstock L, et al. Long-term neurobehavioral effects of mild poisoning with organophosphate and n-methyl carbamate pesticides among banana workers. *Int J Occup Health* 2002; 8: 27-34.

Weiss B. The intersection of neurotoxicology and endocrine disruption. *Neurotoxicology* 2011;33(6):1410-9.

Zamora F. Torres D., Rodríguez N. (Impacto del uso de plaguicidas sobre los niveles de colinesterasa total en sangre en productores agrícolas del asentamiento campesino Santa Teresa, Municipio Miranda del estado Falcón, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (UCV)* 35(2): 56-61. 2009.

