

Inhibición de la colinesterasa como biomarcador para la vigilancia de población ocupacionalmente expuesta a plaguicidas organofosforados

 Leidy Johanna Caro-Gamboa¹,  Maribel Forero-Castro^{1*},  Alix Eugenia Dallos-Báez¹

¹ Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Colombia

* Autor de correspondencia: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Grupo de Investigación en Ciencias Biomédicas (GICBUPTC). Avenida Central del Norte 39-115, Edificio Central, Escuela de Ciencias Biológicas, 150003, Tunja, Colombia. maribel.forero@uptc.edu.co

Recibido: 15 de agosto de 2019

Aceptado: 04 de febrero de 2020

Publicado: 02 de julio de 2020

Editor temático: Guillermo Adolfo León Rodríguez (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria [AGROSAVIA])

Para citar este artículo: Caro-Gamboa, L. J., Forero-Castro, M., & Dallos-Báez, A. E. (2020). Inhibición de la colinesterasa como biomarcador para la vigilancia de población ocupacionalmente expuesta a plaguicidas organofosforados. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21(3), e1562. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1562

Resumen

Las colinesterasas son un grupo de enzimas catalíticas, cuya actividad puede verse disminuida por diferentes factores, entre ellos la exposición a plaguicidas organofosforados. Mundialmente se reportan estos plaguicidas como los más utilizados en la producción de cultivos y, por lo tanto, quienes se exponen a través de sus labores a estas sustancias están en alto riesgo de sufrir efectos negativos sobre su salud. El objetivo de esta revisión es describir el uso de la actividad de las enzimas colinesterasas como biomarcadores para vigilar el estado de salud de los trabajadores expuestos a plaguicidas organofosforados. Se consultaron artículos científicos en siete bases de datos en línea, publicados entre el 2003 y el 2019, utilizando los siguientes descriptores: intoxicación por organofosforados, actividad de colinesterasas como biomarcador y determinación de colinesterasa en agricultores. En esta revisión fueron referidos diferentes estudios que dan cuenta de la validez y utilidad del uso de la actividad de colinesterasas como biomarcadores para monitorear poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas organofosforados. La vigilancia ocupacional por medio de las recomendaciones de las guías que previenen las intoxicaciones por plaguicidas se realiza con mayor facilidad en trabajadores agrícolas de empresas que en agricultores informales e independientes. Los estudios demuestran que existen poblaciones que han empezado a darle mayor importancia al seguimiento de los efectos negativos de los organofosforados en la salud de trabajadores expuestos que emplean las colinesterasas como biomarcadores biológicos. Su utilidad mejora cuando se realizan comparaciones con valores preexistentes y en personas sin exposición.

Palabras clave: agricultores, colinesterasa, exposición, plaguicidas, toxicidad de los pesticidas

Cholinesterase inhibition as a biomarker for the surveillance of the occupationally exposed population to organophosphate pesticides

Abstract

Cholinesterases are a group of catalytic enzymes whose activity can be diminished by different factors, including organophosphate pesticide exposure. These pesticides are reported as the most used in crop production worldwide, and therefore, those persons who are exposed through their work to these substances are at high risk of suffering adverse health effects. The aim of this review is to describe the use of the cholinesterase enzyme activity as biomarkers to monitor the health status of workers exposed to organophosphate pesticides. Scientific articles were consulted in seven online databases published between 2003 and 2019 using as descriptors: organophosphate poisoning, cholinesterase activity as a biomarker, and determination of cholinesterase in farmers. In this review, different studies that show the validity and usefulness of the use of cholinesterase activity as biomarkers to monitor populations occupationally exposed to organophosphate pesticides were referred. Occupational surveillance following the recommendations of the guidelines that prevent pesticide poisonings is more easily carried out by agricultural workers of companies compared to informal and independent farmers. Studies show that

there are populations that have begun to give greater importance to monitoring the negative effects of organophosphates on the health of exposed workers using cholinesterase as biological biomarkers. Its utility improves when comparisons are made with pre-existing values and in unexposed persons.

Keywords: cholinesterase, exposition, farmers, pesticides, pesticide toxicity

Introducción

Con el propósito de mejorar la rentabilidad de las cosechas, los trabajadores agrícolas frecuentemente utilizan plaguicidas para combatir las plagas que amenazan con la pérdida de los cultivos (Cotton et al., 2018; Lutovac et al., 2017). Entre los plaguicidas se encuentra el grupo de los compuestos organofosforados, cuyo uso puede ocasionar una intoxicación con efectos negativos sobre la salud de las personas que se exponen ocupacionalmente a estas sustancias (Díaz et al., 2017). La intoxicación por plaguicidas organofosforados (PO) se manifiesta con la inhibición de la actividad de las enzimas colinesterasas (Carmona, 2007) y su grado de severidad se asocia con la condición biológica del individuo expuesto, la toxicidad del plaguicida manipulado y las características de la exposición, en cuanto a duración y frecuencia (Butinof et al., 2017).

En el contexto de salud ocupacional, con el fin de reducir los riesgos en la salud de individuos expuestos laboralmente a plaguicidas, una de las medidas propuestas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) es la implementación de un programa de vigilancia. En países como Estados Unidos y Colombia, este control se realiza utilizando la actividad de las enzimas colinesterasas como indicadores biológicos por los cuales se monitorean y detectan exposiciones que representan peligro para estos trabajadores. Los parámetros de cómo y cuándo llevar a cabo la medición de la actividad de las colinesterasas son enunciados en guías, como la elaborada para médicos que supervisan a trabajadores expuestos a plaguicidas inhibidores de colinesterasa (Office of Environmental Health Hazard Assessment [OEHHA], 2015) publicada por la Oficina de Evaluación de Riesgo Ambiental y de Salud de la Agencia de Protección Ambiental de California (Estados Unidos). En esta guía, se recomienda medir la actividad de la colinesterasa eritrocitaria (CE) y la colinesterasa plasmática (CP) en personas que emplean PO durante más de seis días en un mes, cuya etiqueta contenga las palabras “peligro” o “advertencia”. La determinación de las enzimas colinesterasas debe hacerse 30 días antes de la exposición del trabajador y una vez expuesto, periódicamente, empleando para ello la técnica de Ellman (OEHHA, 2015).

Otra de las guías es la publicada por el Ministerio de Protección Social (MPS) de Colombia, que describe el mecanismo de atención integral de salud ocupacional para trabajadores expuestos a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa (MPS, 2008a). La guía indica que la vigilancia de los trabajadores debe hacerse mediante la determinación de los niveles de CE antes de su exposición, de forma periódica y tras su retiro, utilizando el método de Michel. La muestra preexposición debe ser tomada cuando el trabajador no ha tenido exposición en un periodo previo de 30 días; además, se deben realizar controles periódicos cada tres meses,

en caso de que un trabajador tenga exposición permanente, o determinar los niveles de la CE antes e inmediatamente después de la exposición, si se trata de un contacto ocasional. Un trabajador se considera intoxicado por PO cuando, al comparar los valores de la actividad de la CE antes de la exposición con los obtenidos por los controles periódicos, presenta una disminución por encima del 25 %, y debe ser retirado temporalmente de la exposición si la actividad de la enzima cae más del 30 % (MPS, 2008a).

En Colombia se notifican al Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila) los casos de individuos que evidencien valores de la actividad de la CE iguales o menores al 50 % y que muestren signos y síntomas (Instituto Nacional de Salud [INS], 2018). De los eventos reportados por el Sivigila por intoxicaciones con sustancias químicas, por cada 100.000 habitantes para el 2016 se registraron 1.764 casos (25,2 %) de intoxicaciones por plaguicidas, de los cuales 294 (16,7 %) se presentaron por vía de exposición respiratoria asociada en gran medida a intoxicaciones ocupacionales, y 308 (17,5 %) fueron intoxicaciones con PO (INS, 2016b).

El objetivo de la presente revisión es describir el uso de la actividad de las enzimas CE y CP como biomarcadores para vigilar el estado de salud de los trabajadores expuestos a PO, con el fin de dar a conocer cómo ha sido su efectividad en la práctica, en términos de prevención, protección y disminución del riesgo de afectación en la salud.

Materiales y métodos

Se realizó una búsqueda sistemática de la literatura en siete bases de datos en línea: BioMed, DialNet, DOAJ, Medline, PubMed, Redalyc y SciELO, siguiendo los ítems propuestos por *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)*, que incluyen la identificación, selección e inclusión de la literatura revisada. Los años de publicación fueron desde 2003 hasta 2019. Se utilizaron los descriptores *intoxicación por organofosforados, actividad de colinesterasas como biomarcador y determinación de colinesterasa en agricultores*. Los artículos se seleccionaron teniendo en cuenta los siguientes criterios de inclusión: estudios con población expuesta ocupacionalmente a plaguicidas que emplearon como biomarcador la colinesterasa para evaluar la exposición; artículos en español e inglés. Se excluyeron estudios de intoxicaciones con fines suicidas mayormente reportados en los registros clínicos de centros de salud, hospitales o laboratorios de toxicología.

Para esta revisión se identificó un total de 200 artículos que fueron evaluados mediante la revisión de títulos y resumen; posterior a la remoción de artículos duplicados y revisión de estudios, 100 artículos fueron sometidos a revisión de texto completo. Acorde con los criterios de inclusión y exclusión, se introdujeron en la síntesis los datos de un total de 49 artículos científicos. Los resultados son expuestos en diferentes secciones que incluyen colinesterasas como biomarcadores de exposición y efecto a plaguicidas organofosforados; papel biológico de las enzimas colinesterasas; plaguicidas organofosforados (PO) como sustancias anticolinesterásicas; métodos de laboratorio para determinar la actividad de las enzimas colinesterasas; influencia de factores biológicos, químicos y ambientales en los valores de colinesterasas; evaluaciones de colinesterasas en poblaciones expuestas a PO; evaluaciones de colinesterasas preexposición y postexposición a PO, y medición de niveles de colinesterasa entre individuos expuestos y no expuestos a PO.

Desarrollo del tema

Colinesterasas como biomarcadores de exposición y efecto a plaguicidas organofosforados

Un biomarcador es una característica objetivamente medible y evaluable como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas a intervenciones farmacológicas terapéuticas (Ptolemy & Rifai, 2010). Un biomarcador puede representar una variedad de agentes que sirven como pronóstico y diagnóstico de enfermedad o como herramienta específica sensible para evaluación de riesgo. Los marcadores pueden ser biológicos, físicos o de naturaleza molecular. Un biomarcador debe tener alta exactitud, precisión, sensibilidad y especificidad; además, debe contemplar las variables analíticas y sus efectos sobre los resultados como la toma de muestra, el manejo, almacenamiento, procesamiento y niveles de concentración del biomarcador (Ptolemy & Rifai, 2010).

Por una parte, se considera que el biomarcador es de exposición cuando da cuenta de la presencia de la sustancia química en el organismo, mientras que, por otra, un biomarcador es de efecto cuando informa sobre las alteraciones fisiológicas producidas por la sustancia en el cuerpo (Ríos & Solari, 2010). En este sentido, para evaluar la exposición de trabajadores que ocupacionalmente manipulan PO, se emplea como biomarcador la disminución de la actividad de las enzimas colinesterasas.

Existen dos tipos de colinesterasas: la plasmática y eritrocitaria. Para mencionar la CP también se utilizan los términos *colinesterasa inespecífica*, *colinesterasa sérica* o *de tipo s*, *pseudocolinesterasa*, *butirilcolinesterasa*, *BChE* o *EC 3.1.1.8*; este último término proviene de la nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (UIB); de igual forma, la CE también es llamada *colinesterasa específica* o *de tipo e*, *colinesterasa verdadera*, *acetilcolinesterasa*, *AChE* o *EC 3.1.1.7* (Carmona, 2006, 2007; Fernández et al., 2011; Jaga & Dharmani, 2007; Medina et al., 2015; Restrepo et al., 2017).

Específicamente, la CP medida en suero o plasma hemático se usa como biomarcador de exposición de una intoxicación aguda, mientras que la CE medida en glóbulos rojos se usa como biomarcador de exposición crónica y biomarcador de efecto (Lu, 2007; Jaga & Dharmani, 2007; Jors et al., 2006; Restrepo et al., 2017; Sapbamrer & Nata, 2014).

Papel biológico de las enzimas colinesterasas

La CP se forma en el hígado y se encuentra en el plasma. No se conoce con claridad su función, pero se presume que participa en el metabolismo de lípidos; además, controla la concentración de colina en el plasma e impide la acumulación de butirilcolina. La CE se encuentra en los eritrocitos y en las sinapsis colinérgicas situadas en uniones neuromusculares y conexiones del sistema nervioso central (SNC), conexiones interneuronales del sistema nervioso periférico y uniones neuroglandulares y neuromusculares del sistema nervioso parasimpático. Su función es inactivar el neurotransmisor acetilcolina mediante su biotransformación en colina y ácido acético, lo cual regula la trasmisión del impulso nervioso (Bohórquez et al., 2012; Carmona, 2006; Fernández et al., 2011; Medina et al., 2015).

En la figura 1a se ilustra la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE) cuando realiza la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina (ACh) en el espacio sináptico. Esta reacción permite que la colina

sea reabsorbida por la neurona colinérgica presináptica para producir nuevamente el neurotransmisor acetilcolina, mediante la colinaacetiltransferasa (ChAT), que se encarga de unir la colina con el acetato obtenido de la acetil coenzima A (AcCoA). Una vez se forma el neurotransmisor acetilcolina, se deposita en las vesículas sinápticas de donde es expulsado por exocitosis, con el fin de unirse a receptores postsinápticos de tipo muscarínico o nicotínico, haciendo posible la propagación del impulso nervioso (Ferrer, 2003; Hurtado & Gutiérrez, 2005).

La actividad de la enzima acetilcolinesterasa en el organismo es importante porque descompone el neurotransmisor acetilcolina; esta reacción hace que la neurotransmisión sea momentánea, ya que se interrumpe la interacción neurotransmisor-receptor. Sin embargo, el funcionamiento de la acetilcolinesterasa puede verse alterado por la presencia de sustancias anticolinesterásicas que bloquean la enzima e impiden la hidrólisis del neurotransmisor, lo que origina una acumulación de acetilcolina en el espacio sináptico y aumenta la duración del impulso nervioso, lo que ocasiona una sobreestimulación de las neuronas postsinápticas, debido a que no pueden regresar a su estado de reposo (Fernández et al., 2010; Ferrer, 2003; Restrepo et al., 2017) (figura 1b).

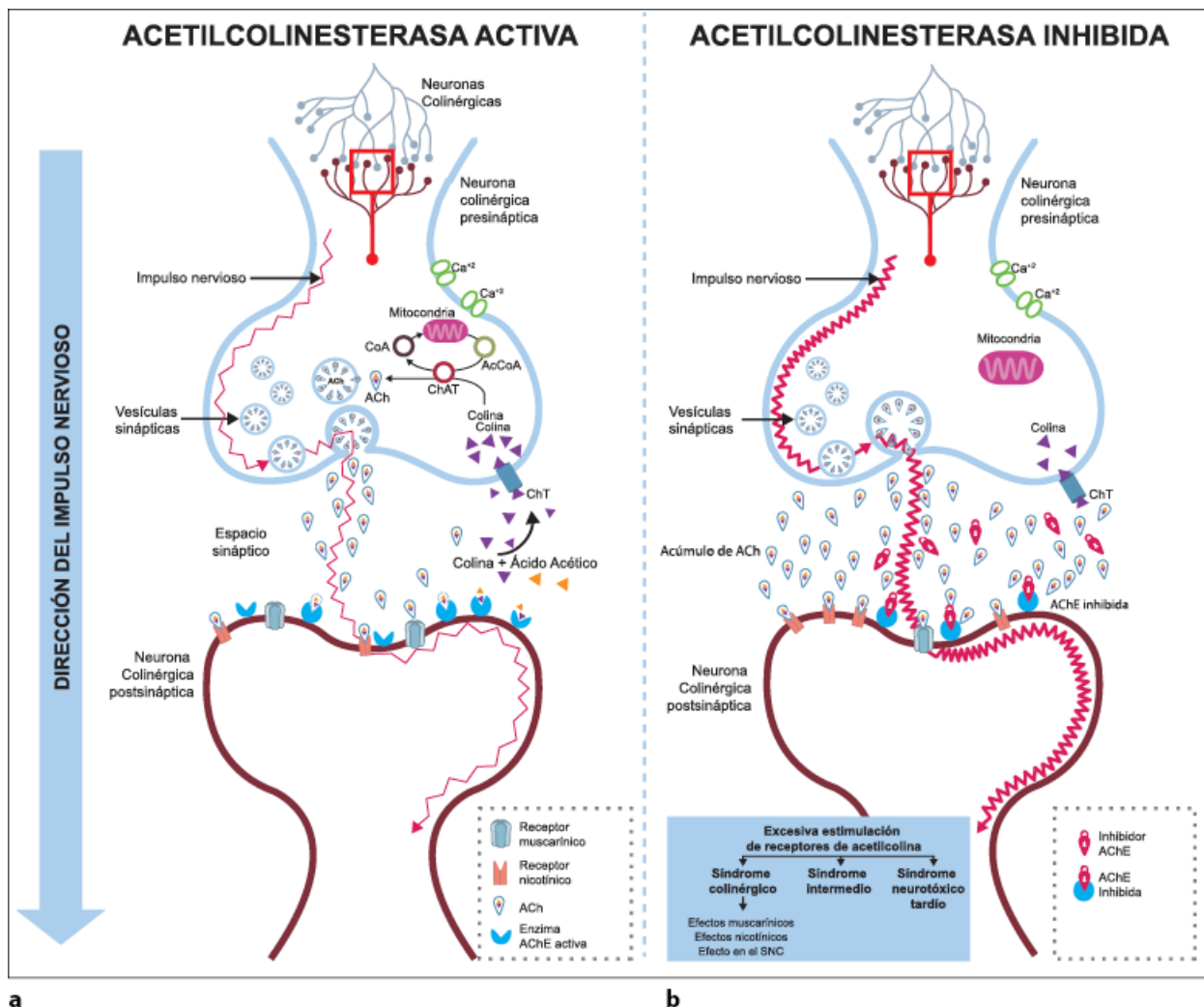


Figura 1. Actividad de la acetilcolinesterasa. La parte a) muestra el mecanismo de acción biológica de la enzima acetilcolinesterasa en estado activo y la parte b), la afectación de este mecanismo cuando la enzima está inhibida. Abreviaciones: AChE: acetilcolinesterasa, ACh: neurotransmisor acetilcolina, Ca⁺²: Ion calcio, CoA: enzima acetiltransferasa, AcCoA: acetil coenzima A, ChAT: enzima colinaacetiltransferasa, ChT: transportador de colina. Fuente: Elaboración propia

Plaguicidas organofosforados (PO) como sustancias anticolinesterásicas

Los PO son sustancias tóxicas que se catalogan químicamente como ésteres del ácido fosfórico (Lutovac et al., 2017); además, se caracterizan por ser compuestos volátiles y liposolubles, cualidades que les permiten sobrepasar las barreras biológicas de un ser humano, incluyendo la hematoencefálica. Los PO pueden ser absorbidos en el cuerpo por vía conjuntival, oral, cutánea e inhalatoria, tras ser utilizados como insecticidas principalmente, pero también como acaricidas, nematocidas y fungicidas (Bohórquez et al., 2012; Fernández et al., 2010; Hurtado & Gutiérrez, 2005; MPS, 2008b).

Una persona puede entrar en contacto directo con estas sustancias en un contexto ocupacional (labores agrícolas o pecuarias), doméstico (labores como la jardinería y el aseo), voluntario (intento de suicidio) o accidental (consumo de alimentos con residuos de plaguicidas). De forma indirecta, el contacto se presenta en un contexto ambiental cuando la persona vive o frecuenta lugares próximos en donde se aplican estos plaguicidas (Bohórquez et al., 2012; INS, 2010).

El efecto tóxico que produce la exposición a los PO en el cuerpo humano es la inhibición del funcionamiento de las enzimas colinesterasas, razón por la cual este tipo de plaguicidas se consideran como sustancias anticolinesterásicas (Hanna & Orozco, 2014; Toro et al., 2017). En la figura 1b se observa el caso de la CE, cuya inactividad se produce cuando el plaguicida organofosforado se le une, lo que causa que la enzima quede fosforilada, bloqueando su función catalítica (Cuaspud & Vargas, 2010). En el transcurso de los días, disminuye la posibilidad de que la CE sea defosforilada (reactivada), proceso conocido como envejecimiento; en consecuencia, los PO son inhibidores irreversibles (Cotton et al., 2018; Lutovac et al., 2017). La recuperación de la actividad de la CE se da con el reemplazo por nueva enzima relacionada con la formación de eritrocitos en un periodo de 120 días (Cotton et al., 2018).

La intoxicación con PO puede afectar el funcionamiento de ojos, glándulas exocrinas y músculos esqueléticos, así como los sistemas digestivo, respiratorio, cardiovascular, urinario y nervioso. Específicamente, dentro de los efectos muscarínicos se encuentran miosis, sudoración, visión borrosa, hiperemia conjuntival, lagrimeo, secreciones bronquiales, broncoconstricción, vómito, cólico abdominal, diarrea, rinorrea, sialorrea, bradicardia e incontinencia urinaria; dentro de los efectos nicotínicos están la taquicardia, hipertensión, vasoconstricción periférica, hiperexcitabilidad miocárdica, midriasis, astenia, debilidad muscular, fasciculaciones musculares, entre otros; en los efectos del sistema nervioso central se encuentran cefalea, agitación, psicosis, confusión mental, convulsiones, coma y depresión respiratoria (Lu, 2007; Fernández et al., 2011; Hurtado & Gutiérrez, 2005; Lutovac et al., 2017; Sapbamrer & Nata, 2014).

Los síntomas presentes en trabajadores agrícolas expuestos a PO son documentados en varios estudios nacionales (Amaya et al., 2008; Díaz et al., 2017; Hanna & Orozco, 2014; Rodríguez et al., 2010; Toro et al., 2017; Varona et al., 2007) e internacionales (Lu, 2007; Marrero et al., 2017; Neupane et al., 2014; Nganchamung et al., 2017; Palacios & Paz, 2011; Sapbamrer & Nata, 2014), que han medido la actividad de las enzimas colinesterasas, los cuales se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Síntomas reportados en trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas organofosforados

TIPO DE EFECTO	Estudios nacionales						Estudios internacionales					
	Amaya et al. (2008) n=50*	Díaz et al. (2017) n=125*	Hanna et al. (2014) n=187*	Rodríguez et al. (2010) n=90*	Toro et al. (2017) n=1098*	Varona et al. (2007) n=204*	Del Prado (2007) n=102*	Marrero et al. (2017) n=17**	Neupane et al. (2014) n=90**	Nganchamung et al. (2017) n=90*	Palacios et al. (2011) n=106*	Sapbamrer et al. (2014) n=182**
SÍNTOMAS												
Visión borrosa	29%	8%		37%	50%	8%	10%	36%		11%		
Náuseas	18%		16%		25%	4%	4%			10%		
Ardor ocular	72%		10%						41%			
Dolor abdominal					23%		3%		29%	23%		
Irritación ocular							7%					43%
Tos		47%		14%			6%		40%			28%
Vómitos				16%		66%		1%				
Problemas respiratorios (disnea)		18%				21%		2%		6%	18%	
Salivación (Sialorrea)		18%			35%	3%		2%		3%		
Sudoración abundante (diaforesis)		35%				43%		4%		4%		
Cólicos		41%										
Conjuntivitis					43%							
Contracción anormal permanente de la pupila del ojo (miosis)		12%										
MUSCARÍNICOS												
Diarrea								2%		4%	8%	
Garganta seca						35%		4%				24%
Incontinencia urinaria		29%										
Lagrimeo		29%						4%		13%		
Rinorrea o secreción nasal					58%							
Sabor amargo		35%										
Picazón o ardor en la piel				13%								
Afectación, ampollas o alergias en la piel		35%				25%		21%			2%	
Pérdida de apetito						24%				9%		
Secreción bronquial (broncorrea)		18%						3%		8%		
Debilidad muscular, cansancio o fatiga muscular		65%		22%	47%	9%	64%	30%	15%	24%		
Mareos	56%	12%	28%	34%	4%	46%	43%	15%	35%			
NICOTÍNICOS												
Dolor muscular (mialgias)		8%		53%			9%			17%		
Dolor de pecho										13%	36%	
Calambres					40%	9%				16%	40%	
Dificultad para caminar		53%										
Espasmos musculares							7%					
Taquicardia o palpitaciones								33%				
Temblores musculares		23%			24%	2%			8%			
Dolor de cabeza (cefalea)	68%	47%	15%	31%	60%	40%	37%	10%	48%	51%	24%	31%
Sensaciones punzantes, de hormigueo, de picor, de entumecimiento o de quemazón en extremidades (parestesia)		35%						10%		4%	41%	
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL												
Alteraciones de sueño (Insomnio)		35%					12%					
Dificultad para hablar					8%							
Confusión mental		23%					3%					
Convulsiones		6%										
Epilepsia												1%
Somnolencia y letargo								64%				
Vértigo, problema de equilibrio												12%
Agitación, irritabilidad		41%										
Ansiedad o nerviosismo		23%								9%	43%	
Falta de coordinación						22%						
Marcha alterada y pérdida del conocimiento								2%				
Depresión y cambios de carácter							7%					
Fotofobia		29%										

* n = número del total de individuos del estudio

** n = número de individuos del grupo expuesto

Fuente: Elaboración propia

Cabe resaltar que los signos y síntomas manifestados en una intoxicación dependen del tipo de PO al que se expone el trabajador (Lu, 2007); de igual manera, se ha observado que algunos de los signos o síntomas se asocian a la inhibición de las colinesterasas, como es el caso de la visión borrosa, que se ha relacionado con valores anormales de CE ($p = 0,008$) en cultivadores de tomate en invernadero expuestos

a PO del departamento de Boyacá (Rodríguez et al., 2010). No obstante, también se han presentado síntomas en agricultores expuestos sin que haya una disminución en los niveles de colinesterasa, tal como fue observado en el estudio de Palacios y Paz (2011), realizado en el estado de Sinaloa (México). Por lo tanto, es importante observar cuáles son los intervalos de la actividad normal de la enzima de acuerdo con la técnica implementada: si el rango es amplio, se puede llegar a enmascarar bajo normalidad una intoxicación que no presenta niveles de actividad disminuida pero sí síntomas en los individuos (Cuaspud & Vargas, 2010).

Métodos de laboratorio para determinar la actividad de las enzimas colinesterasas

Existen diversos métodos de laboratorio para determinar la actividad de la CP y la CE en trabajadores expuestos a PO, que fueron usados en estudios nacionales realizados en los departamentos de Boyacá (Rodríguez et al., 2010), Caldas (Toro et al., 2017; Varona et al., 2012), Cauca (Díaz et al., 2017), Córdoba (Hanna, & Orozco, 2014), Cundinamarca (Amaya et al., 2008), Magdalena (Lozano, 2015) y Putumayo (Varona et al., 2007), así como en estudios internacionales realizados en Argentina (Butinof et al., 2017; Simoniello et al., 2010), Australia (Cotton et al., 2018), Bolivia (Jors et al., 2006), Brasil (Nerilo et al., 2014), Ecuador (Cuaspud & Vargas, 2010; Silverio et al., 2015), Filipinas (Lu, 2007, 2009), Honduras (Blanco et al., 2016), Indonesia (Rahman et al., 2015), Irán (Jalilian et al., 2016), México (Alvarado et al., 2019; Palacios et al., 2009; Palacios & Paz, 2011; Ortega et al., 2016), Nepal (Neupane et al., 2014, 2017), Perú (Rosales, 2015), Rusia (Lutovac et al., 2017), Tailandia (Nganchamung et al., 2017; Sapbamrer & Nata, 2014) y Venezuela (Marrero et al., 2017, 2018).

Método de Ellman

El método de Ellman es cuantitativo y colorimétrico; además, es rápido y se emplea para medir separadamente la CE y la CP expresadas en unidades por litro (U/L). Se fundamenta en la medición de la tasa de producción de tiocolina resultante de la hidrólisis de la enzima colinesterasa (Ellman et al., 1961): a mayor actividad de las enzimas presentes en la muestra de sangre, aumenta la cantidad de producto de reacción (Palacios et al., 2009; Tecles & Cerón, 2003; Toro et al., 2017).

Para el análisis de CP, el método de Ellman emplea como sustrato la butiriltiocolina: si la colinesterasa es activada, la butiriltiocolina se degrada a tiocolina y butirato. La tiocolina resultante reacciona con el reactivo de Ellman, ácido 2-nitrobenzoico (DTNB), generando como producto el ácido carboxílico de color amarillo, que se mide espectrofotométricamente a una longitud de onda de 412 nm; el aumento del color amarillo es proporcional a la cantidad de colinesterasa (Ellman et al., 1961; Neupane et al., 2014). En el caso de la CE, luego de separar los glóbulos rojos de la muestra de sangre, se toma una alícuota del sobrenadante eritrocitario y se coloca a reaccionar con el sustrato acetiltiocolina, que por acción de la enzima será hidrolizado en acetato y tiocolina. La tiocolina proveniente de esta reacción sigue el mismo procedimiento descrito anteriormente con la CP.

El uso del método de Ellman es reportado en investigaciones con poblaciones ocupacionalmente expuestas a PO (Alvarado et al., 2019; Lozano, 2015; Nerilo et al., 2014; Neupane et al., 2017; Nganchamung et al., 2017; Rodríguez et al., 2010; Sapbamrer & Nata, 2014; Silverio et al., 2015; Toro et al., 2017).

Método de Michel

El método de Michel es una técnica cuantitativa y electrométrica empleada para determinar la actividad de la CE y la CP (Fernández et al., 2010). Para cuantificar los niveles de la colinesterasa se pone a reaccionar la enzima con un sustrato de acetilcolina, produciendo cierta cantidad de ácido en una solución tampón estándar. El valor de la actividad de las enzimas colinesterasas se mide por espectrofotometría en referencia al cambio de pH por hora (Δ pH/hora o UpH/hora) (Palacios et al., 2009). Este método es reportado en diferentes estudios de trabajadores expuestos a PO (Amaya et al., 2008; Blanco et al., 2016; Lu, 2007, 2009; Varona et al., 2007; Varona et al., 2012).

El método de Lovibond

El método de Lovibond es una técnica semicuantitativa y colorimétrica que se utiliza para establecer la actividad de la CE y CP, que tiene un mínimo costo y demanda una muestra mínima de sangre (Jalilian et al., 2016). Se basa en un cambio de color que se produce en un tiempo determinado por una variación del pH. La actividad de las enzimas colinesterasas se expresa en porcentaje en intervalos de 12,5 %, asumiendo como valores anormales los menores al 75 % (Hanna & Orozco, 2014; Neupane et al., 2017). Para la CE se requiere una muestra de sangre que se hemoliza; posteriormente, la enzima se pone a reaccionar empleando como sustrato perclorato de acetilcolina y, como solución indicadora, azul de bromotimol; por acción de la enzima, el sustrato es hidrolizado en colina y ácido acético. El ácido acético reacciona con el indicador induciendo un cambio de color y de pH en un intervalo de tiempo (INS, 2016a; Neupane et al., 2014). Este método fue reportado en el estudio de Rahman et al. (2015) con trabajadores expuestos a PO.

Influencia de factores biológicos, químicos y ambientales en los valores de colinesterasas

La actividad de las colinesterasas puede fluctuar en el ser humano de acuerdo con la variabilidad interindividual, como rasgos étnicos y genéticos y, aspectos de variabilidad intraindividual, como la edad, el sexo, el estado reproductivo, el estado de salud en cuanto al uso de medicamentos y la presencia de algunas enfermedades. Es así como los valores de la actividad de CP pueden aumentar con la hipertensión arterial, trastornos tiroideos, artritis, asma, obesidad, alcoholismo, hepatitis y diabetes; o disminuir con la cirrosis, tuberculosis, cáncer, epilepsia, desnutrición, anemia, insuficiencia hepática y parasitismo intestinal. Los niveles de la CE se deprimen por la anemia hemolítica (Bohórquez et al., 2012; Fernández et al., 2011; Medina et al., 2015). Particularmente en las mujeres, las variaciones en los niveles de la colinesterasa están relacionadas con el estado de embarazo, la menstruación, la menopausia, el aborto y el consumo de anticonceptivos hormonales (Carmona, 2006; Fernández et al., 2011).

Debido a que estos factores, al igual que los PO, pueden provocar el descenso de la actividad de las enzimas colinesterasas, se han tenido en cuenta como criterios de exclusión en varios estudios con poblaciones ocupacionalmente expuestas a PO, con el fin de que los valores obtenidos no se encuentren sesgados. En este sentido, los estudios de Butinof et al. (2017) y Nganchamung et al. (2017) usaron como criterios de exclusión la insuficiencia hepática, el uso de medicamentos y hábitos como el alcoholismo y la drogadicción. Por su parte, Rosales (2015) y Ortega et al. (2016) no tuvieron en cuenta a mujeres en estado de gestación (Butinof et al., 2017; Nganchamung et al., 2017; Ortega et al., 2016; Rosales, 2015).

Por otro lado, el tipo de colinesterasa y el nivel al que puede llegar a disminuir su actividad dependen de la composición química del plaguicida y de los solventes que se utilicen en su preparación (INS, 2016b, 2016c); de igual forma, se conoce que la actividad de las enzimas CP o CE puede llegar a disminuir de forma preferente por algunos pesticidas; tal es el caso, por ejemplo, de dimetoato y fosmet que reducen preferentemente la actividad de CE, mientras mevinfós y clorpirifós hacen lo propio con la de CP (OEHHA, 2015). Sin embargo, no hay claridad acerca de los mecanismos biológicos responsables que ocasionen este efecto sobre la actividad de una u otra colinesterasa. Cuantos más bajos sean los valores de la actividad de las colinesterasas, existe un mayor riesgo a que haya una intoxicación por PO (Marrero et al., 2017) y se manifiesten los síntomas que deterioran la salud (Sapbamrer & Nata, 2014).

Evaluaciones de colinesterasas en poblaciones expuestas a PO

De acuerdo con el tiempo, el contexto y la cantidad de plaguicida, la exposición a PO se clasifica como aguda y crónica; una exposición es aguda cuando el contacto se da en un intervalo corto de tiempo (días), en un contexto ocupacional, doméstico, voluntario o accidental, e involucra altas cantidades del plaguicida; una exposición es crónica en caso de que el contacto se presente en un intervalo largo de tiempo (meses y años), en un contexto ocupacional y ambiental, con bajas cantidades del plaguicida (INS, 2010).

Es posible identificar una intoxicación aguda cuando se reportan valores deprimidos de la actividad de CP y aparecen síntomas negativos para la salud (Neupane et al., 2017). Se emplea la CP porque tarda menos tiempo en disminuir sus niveles, así como en recuperarlos entre días y semanas. Debido a que la CE requiere más tiempo en deprimirse y volver a sus niveles de normalidad, entre uno y tres meses esta es la utilizada para determinar una intoxicación crónica (Carmona, 2006; Cotton et al., 2018; Restrepo et al., 2017). Además, la actividad de esta enzima es más susceptible de inhibirse por múltiples organofosforados y su actividad está altamente relacionada con la colinesterasa del sistema nervioso (Cotton et al., 2018; Cuaspuud & Vargas, 2010; Lu, 2007; Neupane et al., 2017).

Una persona después de una exposición aguda o crónica a PO puede tener niveles bajos de la CP o CE, respectivamente (Jaga & Dharmani, 2007; Lutovac et al., 2017), asociado a diferentes factores, como el uso inadecuado de estos compuestos debido al desconocimiento de los efectos adversos sobre la salud humana, la labor agrícola que se desempeña, el tiempo de exposición, inadecuada implementación de medidas de protección personal y el almacenamiento inapropiado de los plaguicidas en el hogar. Estos factores son reportados en estudios que han analizado las concentraciones de colinesterasas en personas laboralmente expuestas a PO (Cuaspuud & Vargas, 2010; Díaz et al., 2017; Hanna & Orozco, 2014).

El estudio nacional de Varona et al. (2007) determinó los niveles de CE dentro de los tres días después de la exposición a plaguicidas por el método de Michel en 204 trabajadores del departamento de Putumayo. Para ello, emplearon como rangos de normalidad para hombres 0,804 a 0,992 Δ pH/hora y para mujeres 0,822 a 0,99 Δ pH/hora. De este modo, observaron inhibición de la enzima CE en el 18 % (36/204) de la población. Observaron diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de CE del 47 % (95/204) de los agricultores que indicaron haber presentado una previa intoxicación con plaguicidas, con respecto al 53 % (109/204) que manifestaron no haberla tenido, aunque esta variable no estuvo relacionada con los valores disminuidos de CE (Varona et al., 2007).

Amaya et al. (2008) evaluaron la actividad de la CE en 50 agricultores del departamento de Cundinamarca, empleando el método de Michel, con valores de referencia para hombres de 0,855 a 0,881 Δ pH/hora y en mujeres de 0,836 a 0,859 Δ pH/hora. Como resultado encontraron bajos niveles de actividad de la CE en el 100 % (50/50) de los agricultores. Entre los factores de riesgo identificados en esta población por medio de la medición del Odds Ratio (OR), como el valor considerado para presentar exposición o intoxicación por plaguicidas, los autores reportaron que el uso inadecuado de los elementos de protección personal (OR = 5,71) y la falta de evacuación previa a la fumigación (OR = 5,72) fueron los factores de riesgo más relacionados con la exposición e intoxicación por plaguicidas (Amaya et al., 2008).

Varona et al. (2012) analizaron la CE y la CP mediante la técnica de Michel en 132 agricultores del departamento de Caldas. Para ello, emplearon como rangos de normalidad los establecidos por el Grupo Salud Ambiental del INS: CE = 0,91-1,64 Δ pH/hora y CP = 0,71-1,17 Δ pH/hora. Así, encontraron inhibición de la enzima CE en el 34,1 % (45/132) de los trabajadores. En relación con los factores de riesgos para esta población, los autores reportan que el tiempo promedio de exposición a plaguicidas fue de nueve años; el 78 % (104/132) fumigó por lo menos una vez a la semana con un promedio de 5 horas al día; el 49 % (65/132) informó tomar alimentos en el cultivo, y el 74,2 % (98/132) nunca fue capacitado sobre el uso de los plaguicidas (Varona et al., 2012).

Hanna y Orozco (2014) evaluaron la CE mediante el método Lovibond en 187 agricultores del departamento de Córdoba, en donde observaron que el 9,6 % (18/187) de los agricultores tuvieron niveles por debajo de lo normal. Los agricultores que presentaron niveles inhibidos realizaron labores que implicaban manipulación directa de los plaguicidas y aumento a la exposición; el 4,8 % fueron fumigadores, y el 3,8 % recolectores (Hanna & Orozco, 2014).

Por su parte, Lozano (2015) analizó 80 registros del nivel de CP de trabajadores bananeros del departamento del Magdalena, determinados por el método de Ellman, empleando como rango de normalidad 3.200 a 9.000 U/L a 25 °C, 405 nm; y como valores anormales, los niveles < 3.200 U/L. Como resultados obtuvo valores anormales en la CP en el 11 % (10/80) de los trabajadores, asociados a la edad del individuo y el tiempo de exposición a plaguicidas ($p = 0,005$). De los diez individuos con actividad de CP inhibida, seis tuvieron un valor promedio de CP de 2.898 U/L, con edades entre 19 y 34 años, y un tiempo promedio de exposición de cuatro años; tres trabajadores registraron como nivel promedio de CP de 2.958 U/L, con edades entre 35 y 44 años, y con un año de exposición; y un trabajador con una actividad promedio de CP de 2.952 U/L, con 47 años de edad y siete años de exposición (Lozano, 2015).

Díaz et al. (2017) evaluaron la actividad de la CE y CP por la técnica de Michel en 125 agricultores de cultivo de papa del departamento de Cauca, donde observaron que los agricultores presentaron un valor promedio de CE de 1,2455 Δ pH/hora (0,530-1,831) y para la CP de 1,65217 Δ pH/hora (0,960-1,962). El 8 % (10/125) de los agricultores presentaron inhibición de la CE y ninguno tuvo inhibición en la CP. Del 8 % reportado con inhibición de CE, el 5 % correspondió a individuos entre los 40 y los 44 años, el 60 % (6/10) a hombres, el 50 % (5/10) utilizó elementos de protección personal, y el 6 % (7/10) no recibió capacitación sobre el manejo de plaguicidas (Díaz et al., 2017).

Toro et al. (2017) establecieron los niveles de CP en 1.098 agricultores del departamento de Caldas por el método Ellman a 37 °C y 405 nm; para ello, emplearon un rango de referencia de CP de 4.659 a 14.443 U/L. Hallaron que el 3,8 % (42/1.098) de los valores de CP estuvieron disminuidos. La inhibición de la

CP pudo estar relacionada con que el 76 % de los caficultores realizaron la mezcla de los insecticidas, el 22 % aplicó los plaguicidas en el cultivo más de dos veces por semana y el 38 % nunca utilizó protección para el cuerpo durante la fumigación (Toro et al., 2017).

Por su parte, a nivel internacional Lu (2009) observó en el 40,6 % (94/232) de agricultores de la provincia de Benguet (Filipinas) niveles disminuidos de CE, al igual que Silverio et al. (2015) en 70 agricultores de la provincia del Oro (Ecuador), quienes detectaron un bajo nivel en el 44,4 % (20/45). De igual manera, Nganchamung et al. (2017) analizaron la actividad de las dos enzimas colinesterasas CE y CP de 90 agricultores de la provincia de Ratchathani (Tailandia), en donde encontraron que el 50,0 % (45/90) de los agricultores presentó valores anormales en la actividad de la CE y el 51,1 % (46/90) tuvo valores anormales en la actividad de CP (Lu, 2009; Nganchamung et al., 2017; Silverio et al., 2015).

Evaluaciones de colinesterasas preexposición y postexposición a PO

Según las guías de vigilancia, se requiere una línea base de la población expuesta para tener valores de comparación de la actividad de la enzima colinesterasa que favorezcan la comprensión de los resultados de la prueba. Sin embargo, no siempre es posible obtener el valor de la actividad de la enzima previa a la exposición, por el hecho de que, cuando se estudian las poblaciones, en la mayoría de los casos los individuos ya han estado expuestos (Marrero et al., 2017; Palacios et al., 2009; Ramírez et al., 2015). Por lo tanto, algunas investigaciones han planteado comparar valores de preexposición y postexposición. Tal es el caso de Jalilian et al. (2016), quienes determinaron la actividad de la CE antes y después de la fumigación en 21 agricultores de la provincia de Ilam (Irán). Los autores encontraron que, antes de iniciar el trabajo con PO (Diazinón), los 21 trabajadores tuvieron los valores de la actividad de la colinesterasa normales, tres con 100 % y 18 con 87,5 % . Luego de la exposición, la actividad de la CE descendió a un 75 % en 13 trabajadores y hasta un 67,5 % en cinco trabajadores (Jalilian et al., 2016).

Neupane et al. (2017), quienes midieron la actividad de la CP de 25 agricultores del distrito de Chitwan (Nepal) antes e inmediatamente después de la exposición a PO mediante la prueba de campo portátil Test-mate ChE (modelo 470) a 30 °C, realizaron las lecturas a una longitud de onda de 450 nm. La prueba usa como parámetros de normalidad para la CP el valor de 2,03 U/mL en un rango entre 1,35 a 3,23 U/mL. Los autores obtuvieron un valor medio de CP antes de la exposición de 1,41 U/L y después de la exposición de 1,29 U/L, evidenciando una disminución de 8,51 % (Neupane et al., 2017). Cabe resaltar que esta muestra analizada utilizó durante un promedio de 9,48 años los PO para sus labores agrícolas.

Medición de niveles de colinesterasa entre individuos expuestos y no expuestos a PO

Otros estudios han analizado muestras tomadas entre trabajadores expuestos e individuos no expuestos directamente, algunos vinculados al entorno donde se aplican los plaguicidas y otros no vinculados, con el propósito de mejorar la interpretación de los resultados de la prueba de las enzimas colinesterasas y favorecer su utilidad como biomarcador (Butinof et al., 2017; Cotton et al., 2018; Lutovac et al., 2017; Marrero et al., 2017; Marrero et al., 2018; Neupane et al., 2014; Ortega et al., 2016; Rosales, 2015; Simoniello et al., 2010).

Cabe resaltar que en el estudio de Nerilo et al. (2014), realizado en el municipio de Maringa (Brasil), los investigadores observaron una inhibición alta ($> 30\%$) en el $4,6\%$ de los trabajadores expuestos (8/173) en la actividad de CE, en relación con el grupo control ($p = 0,003$), mientras que ningún grupo evidenció cambios en la actividad de la CP (Nerilo et al., 2014). En contraste, Rosales (2015) determinó la actividad de la CP y la CE en una población de 109 individuos, 59 agricultores expuestos y 50 personas sin exposición del distrito de Virú (Perú), en donde encontró que la inhibición en la CP fue significativa ($p < 0,001$) entre el grupo expuesto ($4.733 \pm 1.350,1$ U/L) y el grupo control (7.075 ± 1.674 U/L), pero no hubo diferencias para la CE entre grupo expuesto ($4.867 \pm 632,2$ U/L) y control ($5.051 \pm 505,5$ U/L) ($p > 0,05$). Tomando en cuenta los valores de referencia (3.269 U/L para CP y 4.395 U/L para CE), del total de personas del grupo expuesto el $15,3\%$ ($n = 9$) tuvo valores por debajo de esos parámetros, es decir, evidenció inhibición de ambas enzimas (Rosales, 2015).

Por su parte, el estudio de Marrero et al. (2017), realizado en Estado Aragua (Venezuela), determinaron que el $11,7\%$ de los niveles de actividad de la CP reportados por los trabajadores del grupo expuesto fue significativamente más bajo en comparación con el grupo control ($p < 0,05$) (Marrero et al., 2017). Estos mismos autores confirmaron estos hallazgos en el 2018, en 30 trabajadores agrícolas del Estado Aragua (Venezuela), en donde 20 individuos hicieron parte del grupo expuesto y 10 del grupo control, estableciendo una reducción significativa en la media de la actividad de la CP en el grupo expuesto ($6,4350 \pm 1,2465$ U/L) con respecto al grupo control ($8,2000 \pm 1,8749$ U/L) ($p < 0,05$). La media de la actividad de la CP para ambos grupos estuvo dentro del rango de normalidad ($4,970$ a $13,977$ U/L); sin embargo, el 15% ($n = 3$) de los trabajadores expuestos presentaron valores de la enzima por debajo de los parámetros de normalidad (Marrero et al., 2018).

Contrario a los estudios anteriores, Butinof et al. (2017) no reportaron inhibición en la actividad de la CP en ninguno de los grupos; los valores para el grupo expuesto estuvieron entre $3.349,58$ y $8.886,56$ U/L y para el grupo control entre $3.292,10$ y $7.289,48$ U/L (VR: 3.200 a 9.000 U/L) ($p = 0,11$). Asimismo, Ortega et al. (2016) no encontraron diferencias estadísticamente significativas para la actividad de la CE entre el grupo de agricultores expuestos y el de no expuestos ($p = 0,339$).

Simoniello et al. (2010) llevaron a cabo un estudio en dos etapas que se diferenciaron por la cantidad de biomarcadores utilizados con 145 personas de la ciudad de Santa Fe (Argentina), a quienes se les midió la actividad de ambas colinesterasas, comparando exposición directa versus exposición indirecta junto a un grupo control. La actividad de las enzimas fue analizada con el reactivo de Ellman (DTNB) a pH 7,6; ambas determinaciones fueron realizadas a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y a una longitud de onda de 405 nm . La CE se midió como U/L eritrocitos y la CP como KU/L. El estudio se realizó en dos etapas: en la primera (grupo A) participaron 84 agricultores divididos en tres subgrupos, 27 aplicadores de plaguicidas (expuestos directos), 27 agricultores que no fumigaban (expuestos indirectos) y 30 individuos sin antecedentes de exposición laboral a plaguicidas (grupo control); en la segunda etapa (grupo B), se incluyeron 61 trabajadores también divididos en tres subgrupos: 18 aplicadores (expuestos directos), 23 trabajadores rurales (expuestos indirectos) y 20 personas (grupo control). Los resultados del grupo A mostraron una disminución significativa de la CE con respecto al grupo control, tanto en las personas con exposición directa (33% , $p < 0,001$) como indirecta (23% , $p < 0,001$). De igual manera, los autores evidenciaron una disminución en la CP del $9,8\%$ en los expuestos directos ($p = 0,003$) y del 14% en los indirectos ($p = 0,08$). En el grupo B, cuando se compararon ambos subgrupos de exposición con el grupo control, se reportó una inhibición de la CE del 34% en los expuestos directos y del 22% en los expuestos indirectos ($p < 0,001$).

y una disminución significativa de la CP del 8,5 % ($p = 0,03$) solo en el grupo de expuestos indirectos. No hubo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) al comparar los subgrupos de individuos expuestos (directos e indirectos) en los grupos A y B para los datos reportados de las colinesterasas.

Cuaspuud y Vargas (2010) analizaron la CE en 145 trabajadores de la ciudad de Tulcán (Ecuador), 95 agricultores (grupo expuesto) y 55 individuos no expuestos a plaguicidas que realizaron oficios diferentes a los agrícolas y habitaron la zona de estudio (grupo control). Emplearon el método de Ellman, usando como reactivo el ácido 6-6-ditiodinicotínico (DTNA) en vez del reactivo de Ellman (DTNB). Los valores de referencia fueron 3.081 a 4.745 U/L, establecidos a partir del valor promedio de la CE del grupo control (3.625,41 U/L), en un rango de 3.081 a 4.745 U/L. Como resultados los autores observaron que del total de los agricultores expuestos el 44,21 % ($n = 42$) presentó valores de la actividad de la CE deprimidos. Al comparar el grupo expuesto con el grupo control presentaron una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en el valor medio de la CE, siendo este de 3.154,99 U/L en los agricultores y 3.625,41 U/L en los no agricultores. Reportaron un valor promedio de la actividad de CE menor (2.994,3 U/L) en los agricultores (grupo expuesto) que tenían un tiempo de trabajo superior a nueve años ($n = 80$) en comparación del valor promedio (3.257,2 U/L) de quienes tuvieron un tiempo inferior a nueve años ($n = 15$). Asimismo, obtuvieron valores más bajos en la actividad de la CE (3.066,9 U/L) en los agricultores que almacenaron los plaguicidas en el hogar, en comparación con los agricultores que los guardaban fuera de la casa (3.180,4 U/L) y aquellos que los depositaban en un área exclusiva (3.212,75 U/L) (Cuaspuud & Vargas, 2010).

Sapbamrer y Nata (2014) determinaron la actividad de la CE mediante un procedimiento modificado del método de Ellman, en 304 trabajadores del subdistrito de Ban Tom (Tailandia), 182 productores de arroz (grupo expuesto) y 122 no agricultores (grupo control). La velocidad de absorbancia se midió a 405 nm a los 30, 60, 90 y 120 s a 30 °C. Los resultados indicaron que la actividad media de CE fue menor en los agricultores que en los controles 9.594 U/L vs. 10.530 U/L (valores de referencia 6.400 a 8.200 U/L). En el grupo expuesto, el 3,3 % ($n = 6$) de los agricultores presentó niveles de CE menores a 6.400 U/L, que fue el límite inferior del rango de normalidad (Sapbamrer & Nata, 2014).

Cotton et al. (2018) compararon los valores de CE entre 41 agricultores y 14 no agricultores australianos antes y después de la exposición, tomando muestras en cuatro puntos temporales: la primera medición se realizó de tres a cuatro semanas; la segunda, entre seis a siete semanas; la tercera, de nueve a 12 semanas, y la cuarta, de 10 a 12 semanas. Los autores utilizaron el sistema de prueba de colinesterasa Test-mate ChE (Modelo 400), que se basa en el método Ellman y el kit de ensayo de campo EAcHE, para establecer como valor de referencia $3,66 \pm 0,54$ U/ml. Además, informaron que no hubo diferencia significativa en la actividad promedio de la CE entre los trabajadores agrícolas y el grupo control; sin embargo, hubo una reducción significativa de CE entre el periodo de seguimiento de tres a seis semanas ($p = 0,015$) (Cotton et al., 2018).

Lutovac et al. (2017) estudiaron 175 trabajadores de la industria química y de la producción agrícola en el distrito de Rasina (Serbia), 78 trabajadores participaron en el proceso de producción de los plaguicidas, 50 trabajadores agrícolas y 47 personas que no estaban expuestos a plaguicidas; en el estudio realizaron el análisis de CE mediante el método de Ellman, empleando como sustrato propionaldehído. Los resultados del estudio mostraron que de los 128 trabajadores expuestos a plaguicidas la actividad de la CE estuvo

dentro del rango de referencia; sin embargo, al revisar los registros médicos se evidenció que en el 72 % de los individuos hubo una leve disminución por año de la actividad de la CE (Lutovac et al., 2017).

Neupane et al. (2014) determinaron la CE en una muestra de 180 individuos, 90 agricultores (grupo expuesto) y 90 donadores de sangre (grupo control) del distrito de Chitwan (Nepal). Para ello, los autores utilizaron el sistema de prueba de colinesterasa Test-mate ChE (modelo 400) desarrollado por EQM Research Inc, tomando en cuenta la lectura del nivel de CE y CE ajustada de acuerdo con el nivel de hemoglobina (Q); la prueba de laboratorio se realizó en el campo por debajo de 30 °C. Encontraron niveles de CE y Q, significativamente más bajos ($p = 0,01$) entre los agricultores en comparación con los controles. El valor medio de Q en agricultores fue de 28,92 U/g y, en el grupo control, de 30,05 U/g (Neupane et al., 2014).

Finalmente, hay estudios que han comprobado el impacto que las capacitaciones han brindado para mejorar el uso y manejo de PO. Tal es caso del estudio de Rodríguez et al. (2010), en el que midieron la actividad de la CE en 90 agricultores por el método Ellman (rangos de normalidad 3.000 a 9.300 U/L a 25 °C, longitud de onda de 405 nm, Spinreact), donde tomaron una muestra inicial y, dos meses después, una segunda muestra, luego de llevar a cabo capacitaciones sobre el manejo de plaguicidas por ingenieros agrónomos. Obtuvieron en la primera determinación 22 agricultores (24,4 %) con niveles de CE disminuidos y, en la segunda muestra, los 90 agricultores (100 %) presentaron valores normales de CE (Rodríguez et al., 2010).

Discusión

Los estudios revisados dan cuenta de la validez y utilidad del uso de la actividad de colinesterasas como biomarcadores para monitorear poblaciones ocupacionalmente expuestas a PO, lo que es importante a la hora de tomar decisiones sobre controles administrativos en el medio y en la fuente, tales como disminución del tiempo de exposición, permanencia o cambio del tipo de plaguicida, valoración del uso apropiado del equipo de protección personal, buenas prácticas de fumigación, correcto almacenamiento, envase y transporte de los productos, y control de ventilación en el sitio de almacenamiento.

A la hora de comparar los diferentes estudios realizados en relación a la medición de los niveles de CP o CE, es importante tener en cuenta que los rangos de los valores de referencia normales pueden presentar variación analítica debido al método empleado entre los laboratorios, por lo que es importante conocer el tipo de técnica y su alcance de medición, kit comercial usado, los criterios bajo los cuales se asignan los valores de referencia y rangos de normalidad según tipo de población, edad y sexo. Atendiendo a estos parámetros, se pueden establecer de manera confiable los estudios que pueden ser comparables con los resultados que se obtengan en una medición de la actividad de las colinesterasas en poblaciones de trabajadores agrícolas ocupacionalmente expuestos a PO.

Es evidente que, al detectar de forma temprana niveles deprimidos de las enzimas CP y CE, es posible implementar medidas correctivas para el cuidado de la salud antes de que aparezcan efectos negativos característicos de este tipo de exposición. No obstante, el control se realiza con mayor facilidad en trabajadores de empresas quienes, al estar empleados bajo un contrato de manera formal, cuentan con una protección legal que los cobija en programas de vigilancia ocupacional, en los que se implementan las

recomendaciones de las guías que promueven y previenen las intoxicaciones por plaguicidas. La situación es distinta en agricultores informales e independientes para quienes es una limitante realizar el seguimiento de las enzimas colinesterasas, debido a la falta de conocimiento de los riesgos que representan para su salud la manipulación de los PO y el poco acceso a las pruebas de laboratorio de este biomarcador, ya sea porque no se encuentran vinculados a entidades prestadoras de salud y administradoras de riesgos laborales, o porque no cuentan con la disponibilidad de laboratorios para hacerlas.

Entre las recomendaciones de los estudios cabe resaltar que las poblaciones de agricultores en áreas urbanas y rurales deberían tener acceso dentro de su servicio de salud a los controles periódicos de los niveles de colinesterasa, para que puedan tener un registro médico de los valores de la actividad de la enzima y, con esta recopilación de valores preexistentes, llevar a cabo el cotejo en la búsqueda de inhibición de la actividad de las enzimas. La comparación entre los valores intraindividuales de la actividad de las colinesterasas es fundamental para implementar una vigilancia efectiva.

Las publicaciones además indican que, para mejorar la utilidad de estos biomarcadores como herramienta para identificar personas en riesgo por exposición a PO, es relevante la medición de los niveles de la enzima en poblaciones no expuestas, con el fin de contrastarlos con las poblaciones expuestas. Por ello, en países como Colombia es importante promover estudios que permitan establecer niveles de referencia de la actividad de las colinesterasas nacionales por departamento, según las características sociodemográficas de la población. En esta revisión fueron descritos estudios nacionales realizados en siete de los 32 departamentos, Boyacá, Caldas, Cauca, Córdoba, Cundinamarca, Magdalena y Putumayo. Es preciso aunar esfuerzos para completar un panorama nacional sobre las características de exposición a PO en otras poblaciones agrícolas.

Teniendo en cuenta que los agricultores requieren atención y educación por ser una población vulnerable por exposición ocupacional a PO, es importante que los agricultores puedan practicarse la prueba de enzimas colinesterasas como un examen de control, y es necesario continuar implementando intervenciones como las capacitaciones, con las que se visibilice la información que permita que los trabajadores agrícolas comprendan el riesgo de intoxicación, conozcan las cifras que se reportan en el país por intoxicaciones con plaguicidas y relacionen una disminución de la actividad de las enzimas colinesterasas con impactos en la salud por el manejo inadecuado de este tipo de plaguicidas.

Finalmente, es preciso fomentar en los agricultores la cultura del autocuidado, dirigida a evitar y mitigar los riesgos y daños a la salud, por medio de la adopción de conductas como la lectura de las hojas de seguridad y fichas técnicas; el uso de los implementos adecuados de protección personal para las vías oral, inhalatoria, ocular y dérmica; las visitas regulares al médico, especialmente cuando se evidencien signos o síntomas asociados con una exposición a PO.

Conclusiones

Las colinesterasas son empleadas como biomarcadores biológicos para detectar la inactividad de la función de las enzimas, reflejando efectos negativos en la salud de los trabajadores; además, son efectivas y mejoran su utilidad en la medida en que se realicen comparaciones con valores preexistentes y en personas sin exposición. Los estudios demuestran que existen poblaciones que han empezado a darle mayor importancia

al seguimiento de los efectos de los organofosforados sobre la salud; sin embargo, debe fortalecerse en poblaciones de agricultores rurales, informales e independientes.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dirección de Investigaciones de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, por la financiación obtenida para la realización de esta revisión sistemática, en el marco de la convocatoria DIN 2018 N.º 9 (SGI 2503) - Apoyo a maestrías en investigación y doctorados.

Descargos de responsabilidad

Los autores del presente artículo declaran que, para el desarrollo de la investigación y su publicación, no existe ningún conflicto de interés. Todos los autores realizaron aportes significativos al documento y están de acuerdo con su publicación.

Referencias

- Alvarado, J., Valencia, C. A., Castillo, M. R., Luna, P. D., Borboa, J. A., Mexia, M. E. & Ruiz, N. C. (2019). Agroquímicos organofosforados y su potencial daño en la salud de trabajadores agrícolas del campo sonoreño. *Ciencia ergo-sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 26(1), 1-11. <https://doi.org/10.30878/ces.v26n1a8>
- Amaya, E. F., Roa, A. M., Camacho, J. E., & Meneses, S. (2008). Valoración de factores de riesgo asociados a los hábitos de manejo y exposición a organofosforados y carbamatos en habitantes y trabajadores de la vereda de Bateas del municipio de Tibacuy, Cundinamarca, Colombia. *Nova*, 6(10), 147-155. <https://doi.org/10.22490/24629448.405>
- Blanco, A. R., Ponce, H. D., Lanza, N. A., Velásquez, H. J., & Calderón, G. L. (2016). Actividad de la colinesterasa total en pobladores que utilizan plaguicidas en La Brea, Lepaterique durante el año 2015. *Revista Ciencia y Tecnología*, 2(19), 94-110. <https://doi.org/10.5377/rct.v0i19.4276>
- Bohórquez, D., Ciro, L., Echavarría, L., Mendoza, J., Ochoa, L., & Vásquez, E. (2012). Oximas en el paciente intoxicado con inhibidores de la colinesterasa. *Revista CES Salud Pública*, 3(2), 242-250. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4164001>
- Butinof, M., Fernández, R. A., Lerda, D., Lantieri, M. J., Filippi, I., & Díaz, M. del P. (2017). Biomonitoring en exposición a plaguicidas y su aporte en vigilancia epidemiológica en agroaplicadores en Córdoba, Argentina. *Gaceta Sanitaria*, 33(3), 216-221. <https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2017.12.002>
- Carmona, J. (2006). Colinesterasas eritrocitaria y plasmática en trabajadores con enfermedades crónicas controladas y en usuarios de medicamentos. *Iatreia*, 19(1), 14-28. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932006000100002
- Carmona, J. (2007). Correlación y conversión entre los valores de actividad de la colinesterasa plasmática medida por tres técnicas diferentes. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 22(1), 35-40. <https://doi.org/10.1590/s1020-49892007000600005>
- Cotton, J., Edwards, J., Rahman, M. A., & Brumby, S. (2018). Cholinesterase research outreach project (CROP): point of care cholinesterase measurement in an Australian agricultural community. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 17(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12940-018-0374-1>

- Cuaspué, J., & Vargas, B. (2010). Determinación de colinesterasa eritrocitaria en trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas organofosforados y carbamatos. *Química Central*, 1(1), 71-82. <https://doi.org/10.29166/quimica.v1i1.1194>
- Díaz, S. M., Sánchez, F., Varona, M., Eljach, V., & Muñoz, M. N. (2017). Niveles de colinesterasa en cultivadores de papa expuestos ocupacionalmente a plaguicidas, Totoró, Cauca. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 49(1), 85-92. <https://doi.org/10.18273/revsal.v49n1-2017008>
- Ellman, G. L., Courtney, D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Fernández, D., Mancipe, L., & Fernández, D. (2010). Intoxicación por Organofosforados. *Revista Med (UMNG)*, 18(1), 84-92. <https://doi.org/10.18359/rmed.1295>
- Fernández, R., Ramallo, A., Carmona, G., & Carrasco, M. (2011). Papel de las colinesterasas plasmáticas. Actualización. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación*, 58(8), 508-516. [https://doi.org/10.1016/S0034-9356\(11\)70126-8](https://doi.org/10.1016/S0034-9356(11)70126-8)
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *ANALES Sistema Sanitario de Navarra*, 26(Suppl. 1), 155-171. <https://doi.org/10.4321/S1137-66272003000200009>
- Hanna, M., & Orozco, M. (2014). Exposición laboral por plaguicidas en cultivadores de algodón: Valle del Sinú Medio. *Económicas CUC*, 35(2), 65-74. <https://revistascientificas.cuc.edu.co/economicascuc/article/view/521>
- Hurtado, C. M., & Gutiérrez, M. (2005). Enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. *Revista de la Facultad de Medicina*, 53(4), 244-258. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v53n4/v53n4a06.pdf>
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2010). *Vigilancia y control en salud pública. Protocolo de vigilancia y control de intoxicaciones por plaguicidas*. https://www.minsalud.gov.co/comunicadosPrensa/Documents/INTOXICACION_POR_PLAGUICIDAS.pdf
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2016a). *Determinación del porcentaje de actividad de acetilcolinesterasa en sangre Método de Limperos y Ranta*. <https://www.ins.gov.co/conocenos/sig/SIG/MEN-R01.5390-018.pdf>
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2016b). *Informe del evento intoxicaciones por sustancias químicas*. <https://www.manizalesalud.net/apl/repositorioagregar/archivos/INTOXICACIONESPeriodoIII2016.pdf>
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2016c). *Protocolo de Vigilancia en Salud Pública: Intoxicaciones por sustancias químicas*. <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/ProtocolosSIVIGILA/PROIntoxicaciones.pdf>
- Instituto Nacional de Salud (INS). (2018). *Manual de referencia para la vigilancia de las intoxicaciones por sustancias Químicas*. <http://idsn.gov.co/site/web2/images/documentos/epidemiologia/aplicativo/ManualVSPIntoxicacionesporSustanciasQuimicas2018.pdf>
- Jaga, K., & Dharmani, C. (2007). Sources of exposure to and public health implications of organophosphate pesticides. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 14(3), 171-185. <https://doi.org/10.1590/s1020-49892003000800004>
- Jalilian, A., Bakhshi, H., Bazrafkan, S., Shayeghi, F., Pirmohammadi, M., Gidiglo, N. G., & Shayeghi, M. (2016). Activities of cholinesterase enzyme among diazinon and sevin insecticides sprayers in the western part of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(10), 819-821. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(16\)61138-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61138-6)
- Jors, E., Cervantes, R., Condarco, G., Huici, O., Lander, F., Baelum, J., & Konradsen, F. (2006). Occupational pesticide intoxications among farmers in Bolivia: a cross-sectional study. *American Journal of Public Health*, 5(10), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-5-10>

- Lozano, S. L. (2015). Determinación del nivel de colinesterasa sérica en una población ocupacionalmente expuesta a plaguicidas en el municipio Zona Bananera, Magdalena (Colombia), 2012. *Curare*, 2(1), 23-28. <http://dx.doi.org/10.16925/cu.v2i1.1309>
- Lu, J. L. (2007). Pesticide exposure, risk factors and health problems among cutflower farmers: A cross sectional study. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 2(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-2-9>
- Lu, J. L. (2009). Comparison of pesticide exposure and physical examination, neurological assessment, and laboratory findings between full-time and part-time vegetable farmers in the Philippines. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 14(6), 345-352. <https://doi.org/10.1007/s12199-009-0105-x>
- Lutovac, M., Popova, O. V., Jovanovic, Z., Berisa, H., Kristina, R., Ketin, S., & Bojic, M. (2017). Management, Diagnostic and Prognostic Significance of Acetylcholinesterase as a Biomarker of the Toxic Effects of Pesticides in People Occupationally Exposed. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 5(7), 1021-1027. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2017.200>
- Marrero, S., González, S., Guevara, H., & Eblen, A. (2017). Evaluación de la exposición a organofosforados y carbamatos en trabajadores de una comunidad agraria. *Comunidad y salud*, 17(1), 30-41. <http://www.redalyc.org/pdf/3757/375752386005.pdf>
- Marrero, S., Guevara, H., Eblen, A., & Sequera, M. (2018). Evaluación de la actividad de la colinesterasa, medio ambiente y geolocalización de trabajadores expuestos en una comunidad agraria de la Colonia Tovar, Venezuela. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 65(1), 45-54. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=79694>
- Medina, O., Sánchez, L., & Flórez, O. (2015). Actividad enzimática colinesterasa en muestras de sangre humana: efecto de las condiciones de almacenamiento. *Revista de la Universidad Industrial de Santander*, 47(2), 151-158. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072015000200006
- Ministerio de la Protección Social (MPS). (2008a). *Guía de atención integral de salud ocupacional basada en la evidencia para trabajadores expuestos a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa (Organofosforados y Carbamatos) (GATISO-PIC)*. https://www.epssura.com/guias/guia_gatiso_exposicion_organofosforado.pdf
- Ministerio de la Protección Social (MPS). (2008b). *Guías para el manejo de urgencias toxicológicas*. <https://www.minsalud.gov.co/DocumentosyPublicaciones/GuíaDeManejoDeUrgenciasToxicológicas.pdf>
- Nerilo, S., Martins, F., Nerilo, L., Cocco, V., Endo, R. Y., Oliveira, G. H., Galerani, S. A., Janeiro, P., & Machinski, M. (2014). Pesticide use and cholinesterase inhibition in small-scale agricultural workers in southern Brazil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(4), 783-792. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502014000400014>
- Neupane, D., Jørs, E., & Brandt, L. (2014). Pesticide use, erythrocyte acetylcholinesterase level and self-reported acute intoxication symptoms among vegetable farmers in Nepal: a cross-sectional study. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 13(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-13-98>
- Neupane, D., Jørs, E., & Brandt, L. P. A. (2017). Plasma Cholinesterase Levels of Nepalese Farmers Following Exposure to Organophosphate Pesticides. *Environmental Health Insights*, 11, 1-4. <https://doi.org/10.1177/1178630217719269>
- Nganchamung, T., Robson, M. G., & Siritwong, W. (2017). Association Between Blood Cholinesterase Activity, Organophosphate Pesticide Residues on Hands, and Health Effects. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 68(2), 175-183. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28646835>
- Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA). (2015). *Medical Supervision of Pesticide Workers. Guide lines for Physicians who supervise workers exposed to cholinesterase-inhibiting pesticides*. <http://oehha.ca.gov/media/docguide2015-1.pdf>
- Ortega, E. G., Carrera, M. A., Delgadillo, D., Intriago, M. P., Lares, E. F., & Quintanar, M. A. (2016). Asociación de la exposición ocupacional a plaguicidas organofosforados con el daño oxidativo y actividad de acetilcolinesterasa. *Revista de Toxicología*, 33(1), 39-43. <http://www.redalyc.org/pdf/919/91946517006.pdf>

- Palacios, M. E., García, G. S., & Paz, M. (2009). Determinación de niveles basales de colinesterasa en jornaleros agrícolas. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 52(2), 63-68. <http://www.revistas.unam.mx/index.php/rfm/article/view/14768/14068>
- Palacios, M. E., & Paz, M. P. (2011). Sintomatología persistente en trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas órgano-fosforados. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 29(2), 153-162. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-386X2011000200005&lng=en&nrm=iso
- Ptolemy, A. S., & Rifai, N. (2010). What is a biomarker? Research investments and lack of clinical integration necessitate a review of biomarker terminology and validation schema. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 70(Suppl. 242), 6-14. <https://doi.org/10.3109/00365513.2010.493354>
- Rahman, D. A., Zakianis, Z., & Fitria, L. (2015). Pesticide Exposure, Behavior of Farmer, and Activity of Cholinesterase Enzyme in Blood of Fertile Women Farmers. *Kesmas: National Public Health Journal*, 10(2), 51. <https://doi.org/10.21109/kesmas.v10i2.879>
- Ramírez, M., Zúñiga, L., Corral, S., Sandoval, R., Scheepers, P. T., Van Der Velden, K., Roeleveld, N., & Pancetti, F. (2015). Assessing biomarkers and neuropsychological outcomes in rural populations exposed to organophosphate pesticides in Chile - Study design and protocol Environmental and occupational health. *BMC Public Health*, 15(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12889-015-1463-5>
- Restrepo, B., Londoño, A., & Sánchez, J. (2017). Valores de colinesterasa plasmática y eritrocitaria con ácido 6-6'-ditiiodinicotínico (DTNA) como indicador Plasma. *Revista Colombiana de Química*, 46(1), 13-19. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v46n1.62849>
- Ríos, J., & Solari, S. (2010). Biomonitorización de plaguicidas: ¿Una necesidad del país? *Revista Médica de Chile*, 138(4), 515-518. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872010000400019>
- Rodríguez, C., Garzón, M., Parra, R. A., & Mojica, G. A. (2010). Concentración de colinesterasa eritrocitaria en cultivadores de tomate en invernadero expuestos a plaguicidas organofosforados en Villa de Leyva de julio de 2007 a julio de 2008. *Revista Salud, Historia y Sanidad*, 5(1), 1-13. <https://doi.org/10.1909/shs.v5i1.121>
- Rosales, J. (2015). Uso de marcadores genotoxicológicos para la evaluación de agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados. *Anales de la Facultad de Medicina*, 76(3), 247-252. <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v76i3.11233247>
- Sapbamrer, R., & Nata, S. (2014). Health symptoms related to pesticide exposure and agricultural tasks among rice farmers from northern Thailand. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 19(1), 12-20. <https://doi.org/10.1007/s12199-013-0349-3>
- Silverio, C., Ramón, G., & Guzmán, E. (2015). Agricultores expuestos a compuestos organofosforados en el sitio la Cuca, cantón Arenillas, provincia de El Oro. *Revista Cumbres*, 1(2), 35-37. <http://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres/article/view/16>
- Simoniello, M. F., Kleinsorge, E. C., & Carballo, M. A. (2010). Evaluación bioquímica de trabajadores rurales expuestos a pesticidas. *Medicina (Buenos Aires)*, 70(6), 489-498. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802010000600001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Tecles, F., & Cerón, J. J. (2003). Determinación espectrofotométrica de colinesterasa en sangre entera de animales domésticos: factores pre y analíticos. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 19(0), 61-76. <https://revistas.um.es/analesvet/article/view/17091>
- Toro, B. M., Rojas, A. E., & Díaz, J. A. (2017). Niveles de colinesterasa sérica en caficultores del Departamento de Caldas, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 19(3), 318-324. <https://doi.org/10.15446/rsap.v19n3.52742>
- Varona, M., Henao, G., Lancheros, A., Murcia, Á., Díaz, S., Morato, R., Morales, L., Revelo, D., & De Segurado, P. (2007). Factores de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos en el departamento del Putumayo, 2006. *Biomédica*, 27(3), 400-409. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i3.202>
- Varona, M., Castro, R. A., Paéz, I., Carvajal, N., Barbosa, E., León, L. M., & Díaz, S. M. (2012). Impacto en la salud y el medio ambiente por exposición a plaguicidas e implementación de buenas prácticas agrícolas en el cultivo

de tomate, Colombia, 2011. *Revista Chilena de Salud Pública*, 16(2), 96-106. <https://doi.org/10.5354/0717-3652.2012.20267>