

INVESTIGACIÓN ORIGINAL

DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v63n3.49744>

Intoxicación letal con aldicarb: análisis de sangre post mortem mediante LC-ESI-MS/MS

*Fatal intoxication with aldicarb: Analysis in post mortem blood by LC-ESI-MS/MS*Diana Jazmín Mariño-Gaviria¹ • Nancy Patiño-Reyes²

Recibido: 20/03/2015 Aceptado: 21/04/2015

¹ Laboratorio de Toxicología del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Colombia. Bogotá, D.C., Colombia.² Departamento de Toxicología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C., Colombia.Correspondencia: Diana Jazmín Mariño-Gaviria. Carrera 30 No. 45-03, Edificio 471, Oficina N° 203, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C., Colombia. Tel: +57 1 3165000, ext: 15120. Correo electrónico: djmarinog@unal.edu.co.[| Resumen |](#)

Antecedentes. El aldicarb es un plaguicida carbamato de alta toxicidad asociado a intoxicaciones agudas fatales en el ser humano. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) que ocasiona la acumulación del neurotransmisor acetilcolina en la hendidura sináptica. Esta acumulación provoca síntomas colinérgicos y, dependiendo de la dosis de exposición, puede paralizar los sistemas respiratorio y nervioso hasta llegar a la muerte.

Objetivo. Determinar el nivel de aldicarb en sangre *post mortem* en casos de intoxicación aguda.

Materiales y métodos. Investigación de tipo experimental empleando un cromatógrafo líquido con espectrometría de masas, con ionización electrospray y análisis en modo tándem (LC-ESI-MS/MS). Los estándares de aldicarb y el aldicarb-d3 fueron comprados de Dr. Ehrenstorfer GmbH.

El método consiste en una precipitación de proteínas de la sangre y su posterior análisis por LC-ESI-MS/MS, utilizando el aldicarb-d3 como estándar interno. El método fue aplicado a siete casos de intoxicación letal por presunta acción del aldicarb.

Resultados. El aldicarb se encontró en la sangre de seis de los casos estudiados, en niveles desde 0.12 a 1.90 µg/mL. Solo en uno de los casos no se detectó aldicarb. En cuanto la presunta manera de muerte, en seis de los casos analizados fue el suicidio y en un caso se clasificó como *muerte en estudio*.

Conclusiones. Los resultados obtenidos con la metodología analítica y la técnica LC-ESI-MS/MS son satisfactorios en términos de la determinación cuantitativa de aldicarb en sangre total *post mortem*. La aplicación de la metodología descrita en toxicología forense evidencia el empleo de este plaguicida en actos suicidas.

Palabras clave: Aldicarb; cromatografía líquida con espectrometría de masas tándem (LC-ESI-MS/MS); intoxicación; sangre; postmortem; toxicología forense (DeCS).

.....
Mariño-Gaviria DJ, Patiño-Reyes N. Intoxicación letal con aldicarb: análisis de sangre post mortem mediante LC-ESI-MS/MS. Rev. Fac. Med. 2015;63(3):465-9. Spanish. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v63n3.49744>.

Summary

Background. Aldicarb is a high toxicity carbamate pesticide associated to human fatal acute intoxications. Its mechanism of action consists of the inhibition of the acetylcholinesterase enzyme (AChE), which induces the accumulation of the neurotransmitter acetylcholine in the synaptic cleft. This accumulation induces cholinergic symptoms and, depending on the exposition dose, it can paralyze the respiratory and nervous systems, leading to death.

Objective. To determine aldicarb levels in post mortem blood in cases of acute intoxication.

Materials and methods. An experimental research was conducted using liquid chromatography tandem-mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) with electrospray ionization. The aldicarb and aldicarb-d3 standards were purchased from Dr. Ehrenstorfer GmbH corporation.

This method carries out a protein precipitation of blood and its analysis using LC-ESI-MS/MS, using aldicarb-d3 as internal standard. This method was applied to seven cases of fatal intoxication by presumable action of aldicarb.

Results. Aldicarb was found in six of the studied cases on levels between 0.12 and 1.90 µg/mL. Aldicarb was not detected in blood only in one case. Six of the cases were associated to suicide as a manner of death and in one of them it remained under study.

Conclusions. The results obtained with the analytical methodology and the use of the LC-ESI-MS/MS technique are satisfactory in terms of the quantitative determination of aldicarb in post mortem total blood. The application of the described methodology in forensic toxicology evidences the use of this pesticide in suicidal practices.

Keywords: Aldicarb; chromatography liquid tandem mass spectrometry; acute intoxication; Blood; Postmortem Forensic toxicology (MeSH).

.....
Mariño-Gaviria DJ, Patiño-Reyes N. [Fatal intoxication with aldicarb: Analysis in post mortem blood by LC-ESI-MS/MS]. Rev. Fac. Med. 2015;63(3):465-9. Spainsh. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v63n3.49744>.

Antecedentes

La intoxicación letal con plaguicidas, ya sea en eventos accidentales, homicidas o suicidas, es una problemática de salud pública a nivel internacional y nacional (1). En circunstancias suicidas, el estudio de Gunnell (2,3) reportó que el 30% de los suicidios del planeta se atribuyen a la intoxicación aguda con este tipo de sustancias. En Colombia, el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA) reportó 9377 intoxicaciones por plaguicidas en 2014 que pueden llegar, en la circunstancia más desfavorable, a la muerte según los diversos factores de la intoxicación clínica como: cantidad del plaguicida, concentración, vía de administración, tiempo transcurrido y tratamiento recibido(4).

El aldicarb es un carbamato utilizado principalmente como insecticida, con efecto también nematocida y acaricida, introducido con el nombre de Temik en 1962 por la Union Carbide Corporation (5). Su presentación física es de cristales

incolores con un leve olor sulfuroso. En el campo agrícola, es aplicado durante la siembra en el suelo para ejercer un efecto insecticida sistémico y de contacto. Su acción va dirigida al exterminio de las arañas rojas, los tisanópteros, chinches, lygus y minadores de hojas en cultivos diversos como: vegetales, frutales, ornamentales y perennes (6,7). Aunque su empleo es orientado a la labor agrícola, el aldicarb ha estado presente en algunos rodenticidas de libre venta y acceso que facilitan su adquisición para uso doméstico (7).

El aldicarb tiene una toxicidad aguda alta para el ser humano debido a la acumulación del neurotransmisor acetilcolina en el espacio sináptico como consecuencia de la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), encargada de realizar su eliminación. Este efecto provoca una crisis colinérgica como principal mecanismo de acción (8).

El aldicarb se absorbe en forma eficaz a nivel gastrointestinal y en menor proporción por la piel. Tiene la capacidad de distribuirse a todos los tejidos y atravesar con dificultad la barrera hematoencefálica. Su biotransformación se lleva a cabo en el hígado mediante reacciones de hidrólisis del grupo éster del carbamato y de oxidación del azufre. El aldicarb sulfóxido y aldicarb sulfona son los productos de la biotransformación de la reacción de hidrólisis y se consideran metabolitos biológicamente activos en toxicología, ya que también inhiben la actividad de la enzima acetilcolinesterasa. Finalmente, el aldicarb y sus metabolitos son eliminados por la orina y, en menor cantidad, por vía biliar (9–13).

Debido al potencial tóxico del aldicarb, su empleo a nivel rural y doméstico y su asociación con intoxicaciones agudas fatales en Colombia, es necesaria su determinación en matrices biológicas para contribuir desde la toxicología a encontrar la causa de muerte y circunstancias del caso en el contexto forense (14). De este modo, el papel científico de las ciencias forenses se conjuga en el apoyo a la administración de justicia en Colombia.

El método rápido y sencillo desarrollado en el presente estudio permitió la determinación del aldicarb en sangre mediante cromatografía líquida con ionización electrospray y espectrometría de masas tándem (LC-ESI-MS/MS). La metodología analítica fue aplicada a muestras de sangre de siete casos de intoxicación fatal presuntamente por este plaguicida.

Materiales y métodos

El aldicarb y aldicarb-d3 fueron comprados de Dr. Ehrenstorfer GmbH. El metanol (MEOH) empleado fue grado HPLC y los demás reactivos son grado analítico. La solución *stock* de aldicarb y aldicarb-d3 se prepararon a 5.0 µg/mL en metanol grado HPLC. Las subsecuentes

diluciones se realizaron con este mismo solvente. La sangre blanco, que se fortificó con el estándar aldicarb y el estándar interno aldicarb-d₃ para los niveles de concentración en la cuantificación, se consiguió de la dilución de glóbulos rojos concentrados con agua desionizada en una proporción de 1:1.

Procedimiento

El tratamiento de la muestra consistió en tomar 1 mL de sangre *post mortem* en un tubo de ensayo y adicionarle 50 µL del estándar interno aldicarb-d₃ de 5.0 µg/mL para luego agitar en un vortex. La precipitación de proteínas de la sangre se realizó mediante la adición gota a gota de 1 mL de acetonitrilo frío sin suspender la agitación. Los tubos fueron tapados y se dispusieron en el congelador por 30 minutos. Transcurrido el tiempo, el contenido de los tubos fue centrifugado a una velocidad aproximada de 2000 r.p.m. y se realizó la separación de la capa orgánica superior por medio de su traspaso a tubos de ensayo limpios y secos de 6 mL. Seguidamente, este extracto se evaporó a 45 °C hasta un volumen aproximado de 0.5 mL aplicando agitación y, posteriormente, se llevó a sequedad con máximo vacío. El último paso fue la reconstitución con 100 µL de la solución 1:1 de MEOH/H₂O con 0.1 % de ácido fórmico.

Condiciones de la cromatografía líquida con ionización electrospray y espectrometría de masas tándem (LC-ESI-MS/MS)

Para el análisis en el (LC-ESI-MS/MS) se utilizó un cromatógrafo líquido con espectrometría de masas de marca Thermo Electron Corporation, Modelo Thermo Surveyor - LCQ Advantage Max equipado con una columna Hypersil Gold PFP de (50 mm X 2.1 mm, 5 µm) que permaneció a una temperatura de 40 °C. La fase móvil estuvo constituida de la solución de formiato de amonio de 10 mM con 0.1% de ácido fórmico y el metanol con 0.1% de ácido fórmico, previamente filtrados al vacío a través de una membrana de tamaño de poro de 0.22 µm. El corrido cromatográfico se llevó a cabo a flujo

constante de 200 µL/min con la siguiente programación: 0-1 min 2% de metanol, 9-13 min de 2-98% de metanol y de 14-16 min decreció de 98-2%. El volumen de inyección fue 10 µL.

La fuente de ionización fue electrospray (ESI) configurada en modo positivo y el espectrómetro de masas en su analizador de masas, la trampa de iones se programó en modo tándem. El análisis se realizó mediante el barrido de los iones producto.

Para la identificación del aldicarb se encontraron los valores de los iones (m/z), el tiempo de retención y la energía de colisión optimizada (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización del aldicarb mediante LC-ESI-MS/MS.

Compuesto	Transición (m/z)	EC (%)	TR (min)
Aldicarb	207.9 → 115.9 207.9 → 88.9	50	10.16
Aldicarb-d ₃ (SI)	210.9 → 115.9 210.9 → 89	44	10.14

Nota: SI: Estándar interno, EC: Energía de colisión, TR: Tiempo de retención. m/z: Relación masa-carga.

Presentación de casos

Durante la necropsia de los siete casos se encontraron en común los siguientes hallazgos: signos inespecíficos de hipoxia como cianosis facial, edema cerebral, edema pulmonar, congestión visceral generalizada y petequias en conjuntivas. Previamente, se había encontrado aldicarb en el contenido gástrico de estos casos. Se analizaron luego las muestras de sangre *post mortem* para la medición de los niveles de aldicarb por duplicado.

Resultados

En las Figuras 1, 2 y 3 se ilustra el cromatograma y los espectros de masas del aldicarb y aldicarb-d₃ en sangre. El LOD determinado por dilución sucesiva del compuesto en la sangre fue de 20 ng/mL.

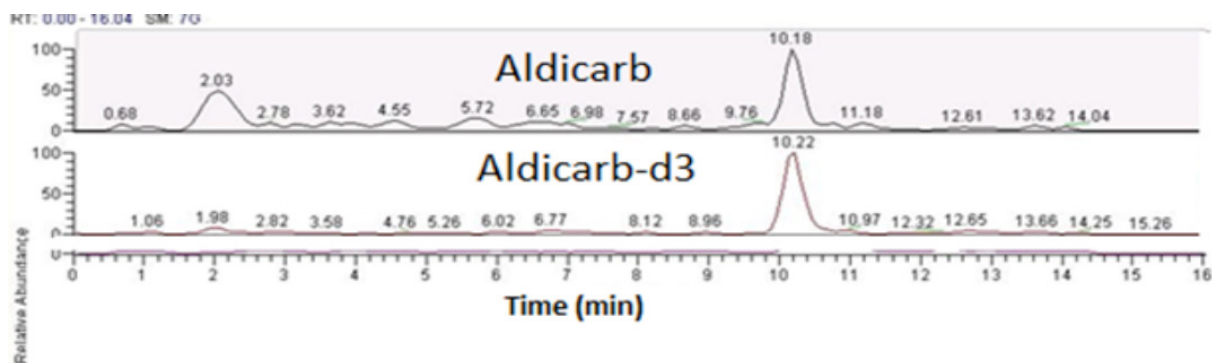


Figura 1. Cromatograma del aldicarb a una concentración de 0.10 µg/mL y su estándar interno aldicarb-d₃ a una concentración de 0.25 µg/mL en sangre.

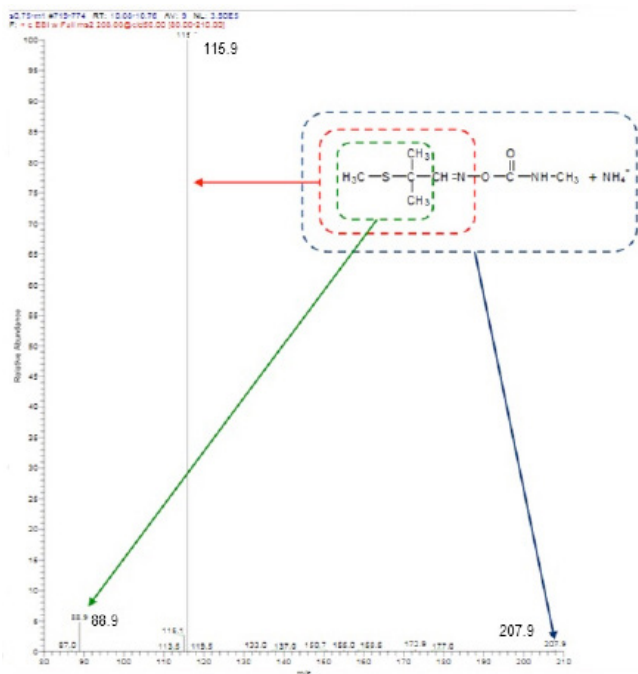


Figura 2. Espectro de masas obtenido del aldicarb.

Para la cuantificación del aldicarb en los casos se realizó la curva de calibración en sangre en un rango lineal desde 0.10 a 5.0 $\mu\text{g/mL}$. Cada nivel fue preparado por triplicado y se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.9984.

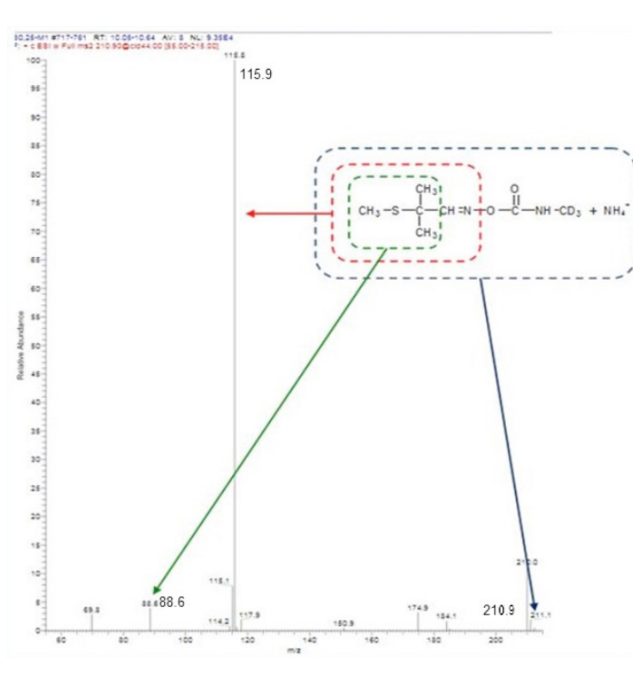


Figura 3. Espectro de masas obtenido del aldicarb-d₃.

La metodología se aplicó para determinar el aldicarb en siete casos con presunta intoxicación aguda por plaguicidas (Tabla 2).

Tabla 2. Casos analizados y su concentración de aldicarb en sangre.

Caso No.	Información del caso	Presunta manera de muerte	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)
1	Hombre. Sin más datos.	Suicidio	1.90 1.84
2	Hombre de 70 años. Sin más datos.	En estudio	0.25 0.23
3	Hombre de 54 años con signos de atención médica. Sin más datos.	Suicidio	0.82 0.79
4	Hombre de 22 años que tenía problemas sentimentales y económicos.	Suicidio	0.12 0.12
5	Hombre de 25 años, deprimido, que manifestaba quererse quitar la vida.	Suicidio	0.30 0.27
6	Hombre de 18 años encontrado en hostel que manifestaba encontrarse cansado de vivir.	Suicidio	0.47 0.49
7	Mujer de 17 años que tuvo atención médica. Sus síntomas al ingreso fueron: taquicardia, miosis, diaforesis, debilidad, contracción de los músculos faciales, deterioro progresivo de la respiración y saturación del 50%. Finalmente presentó paro cardiorespiratorio.	Suicidio	No detectado

Discusión y conclusiones

En el presente estudio se desarrolló una metodología para la determinación del aldicarb en sangre post mortem utilizando LC-ESI-MS/MS. En muestras biológicas, la técnica LC-ESI-MS/MS presentó resultados de límite de detección bajo y una correlación lineal que permite la cuantificación del aldicarb.

La determinación de aldicarb en la sangre complementa los hallazgos encontrados en la necropsia por el patólogo o médico forense y, lo más importante, confirma la presencia de un xenobiótico tóxico que es incompatible con la vida y puede ser la causa de muerte.

En seis de los casos analizados la concentración de aldicarb en sangre encontrada estuvo entre 0.12 y 1.90 µg/mL. En uno de los casos analizados no se detectó el aldicarb, a pesar de que en el análisis previo del contenido gástrico reportó un resultado positivo. En este caso concreto se puede explicar el no detectado por un procedimiento de lavado gástrico con carbón activado que se realizó a la occisa al momento de recibir atención médica. Esta maniobra evita que parte del aldicarb ingerido se absorba y distribuya hasta la sangre, disminuyendo por lo tanto su concentración.

Los niveles de aldicarb en sangre post mortem encontrados en la literatura están entre 4.8 y 11 µg/mL. De acuerdo con estos datos, las cantidades de aldicarb en sangre obtenidas de las muestras de los casos forenses en este estudio son menores a las publicadas en la literatura. Pero sin duda alguna, la concentración de aldicarb alcanzada en la sangre fue suficiente para conducir a la muerte en los casos analizados (10,15).

Finalmente, si bien el aldicarb es un plaguicida de uso agrícola, en Colombia es vendido como principio activo de rodenticidas para uso casero. Esta situación pone de manifiesto su fácil adquisición y por ende, su accesibilidad para ser usado como instrumento de suicidio.

Conflicto de intereses

Ninguno declarado por los autores.

Financiamiento

La investigación fue financiada por la Dirección de Investigación de la Sede Bogotá (DIB).

Agradecimientos

Al Departamento de Toxicología de la Facultad de Medicina, a la Dirección de Investigación de la Sede Bogotá (DIB), al Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses en su Laboratorio de Toxicología, al Laboratorio Nacional de Insumos Agrícolas (LANIA) y al Departamento de Estadística de la Universidad Nacional de Colombia, entidades que permitieron la realización de este trabajo.

Referencias

1. **Wesseling C, Corriols M, Bravo V.** Acute pesticide poisoning and pesticide registration in Central America. *Toxicol Applied Pharmacol.* 2005; 207(2 Suppl):697-705. <http://doi.org/fgtkmh>.
2. **Gunnell D, Eddleston M.** Suicide by intentional ingestion of pesticides: a continuing tragedy in developing countries. *Int J Epidemiol.* 2003;32(6):902-9. <http://doi.org/dpjf3g>.
3. **Gunnell D, Eddleston M, Phillips MR, Konradsen F.** The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: systematic review. *BMC Public Health.* 2007;7(1):357. <http://doi.org/fs746s>.
4. Colombia. Instituto Nacional de Salud. Intoxicación por plaguicidas casos semanales y acumulado. Bogotá: Sistema de Vigilancia en Salud Pública-SIVIGILA. 2014. p. 1.
5. **Risher JF, Mink FL, Stara JF.** The toxicologic effects of the carbamate insecticide aldicarb in mammals: a review. *Environ Health Perspect.* 1987;72:267-81. <http://doi.org/cvs26p>.
6. United States. Environmental Protection Agency. Reregistration eligibility decision for aldicarb. 2007:1-18. [cited 2015 may 29]. Available from: <http://goo.gl/bL8uGj>.
7. **Galofre M, Padilla E.** Intoxicación con rodenticidas: casos reportados al Centro de Información, Gestión e Investigación en Toxicología de la Universidad Nacional de Colombia. *Rev Fac Med.* 2014;62(1):27-32. <http://doi.org/4wv>.
8. **Krieger R.** Hayes' handbook of pesticide toxicology. 3d ed. San Diego: Academic Press; 2010. p. 1619-30.
9. **Fernández JM, Vázquez PP, Vidal JLM.** Analysis of N-methylcarbamates insecticides and some of their main metabolites in urine with liquid chromatography using diode array detection and electrospray mass spectrometry. *Anal Chim Acta.* 2000;412:131-9. <http://doi.org/bvjsmr>.
10. **Baselt RC.** Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 7th ed. Foster City, CA: Biomedical Publications; 2004.
11. **Proença P, Teixeira H, de Mendonça MC, Castanheira F, Marques EP, Corte-Real F, et al.** Aldicarb poisoning: one case report. *Forensic Sci Int.* 2004;146 Suppl:S79-81. <http://doi.org/djmkpj>.
12. **Parilla Vázquez P, Martínez Vidal JL, Martínez Fernández J.** Reversed-phase liquid chromatographic column switching for the determination of N-methylcarbamates and some of their main metabolites in urine. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2000 11;738(2):387-94. <http://doi.org/b939rr>.
13. **Lacassie E, Marquet P, Gaulier JM, Dreyfuss MF, Lachâtre G.** Sensitive and specific multiresidue methods for the determination of pesticides of various classes in clinical and forensic toxicology. *Forensic Sci Int.* 2001;121(1-2):116-25. <http://doi.org/bpdkk4>.
14. SOFT/AAFS. Forensic toxicology laboratory guidelines - 2006 version. 2006:1-24. [cited 2015 may 29]. Available from: <http://goo.gl/Hq98bL>.
15. **Moffat AC, Osselton MD, Widdop B, Clarke EG.** Clarke's analysis of drugs and poisons: in pharmaceuticals, body fluids, and postmortem material, vol. 1. London: Pharmaceutical Press; 2004.