

Valores de referencia de actividad colinesterásica sanguínea en población laboral activa no expuesta a plaguicidas inhibidores de colinesterasa

Reference values of blood cholinesterase activity in the active labor force non-exposed to pesticides inhibitors of cholinesterase

Jaime Carmona-Fonseca,¹

Samuel Henao H.,²

Rocío Garcés M.³

Resumen

El uso extendido de plaguicidas inhibidores de colinesterasas obliga a disponer de valores de referencia en personas sanas para la correcta toma de decisiones clínicas y epidemiológicas. En Colombia se carece de estos valores y por ello se decidió realizar este estudio. Se diseñaron estadísticamente dos muestras representativas de las poblaciones laborales activas, afiliadas al Seguro Social, residentes en el Valle de Aburrá o en el cercano Oriente antioqueño. Se midió la actividad colinesterasa por seis técnicas diferentes y aquí se informan los resultados con la técnica Lovibond, que usa sangre total. Se estudiaron 827 personas, 415 en Aburrá y 412 en Oriente, tanto hombres como mujeres, con edad entre 18 y 75 años, pero sólo para los menores de 50 años se logró reunir la cantidad de personas exigidas por el diseño. El promedio de enzima es mayor en Aburrá que en Oriente, pero sin diferencia estadísticamente significativa (d.e.s: $p < 0.05$): 92,55 y 91,72%, en su orden ($F = 0,946$; $p = 0,3415$). En ambas regiones la actividad enzimática masculina es superior a la femenina: en Aburrá 93,95 y 91,15%; en Oriente 94,15 y 89,31%; hay d.e.s. entre ellas en ambas zonas. En los menores de 50 años, la variable edad no tiene efecto en el comportamiento del Lovibond. No hay d.e.s. entre nuestro promedio y los del fabricante ni en hombres ni en mujeres. Los estándares extranjeros del Lovibond concuerdan con los hallados por Henao y colaboradores en niños trabajadores de Antioquia y con los nuestros.

¹ Médico, Epidemiólogo, Centro de Atención Especializada de Salud Ocupacional, Administradora de riesgos profesionales, Seguro Social, Médico titular, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia

² Médico, Maestro en Salud Pública, Especialista en salud ocupacional. Profesor titular, Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia, Gerente nacional de Salud Ocupacional, Seguro Social.

³ Química farmacéutica, Laboratorio Higiene y Toxicología Industrial, Centro de Atención Especializada de Salud ocupacional, CASO, Administradora de riesgos profesionales, Seguro Social, Antioquia.

Palabras clave

Colinesterasas, Lovibond, valores de referencia, población laboral.

Abstract

The extended use of pesticides using cholinesterase inhibitors as their active principle, demands the determination of reference values in order to be able to monitor the levels of spill over into humans and for the take of rational clinical and epidemiological decisions. Such values are lacking in Colombia and this is the rationale for this work. The design of the study included two representative samples of labor active populations affiliated to the Social Health Care System and residing in the Aburrá Valley (Location 1:L1) or in the near east of the state of Antioquia (Location 2:L2). Six different techniques were used to measure cholinesterase levels. This reports presents the results by using the Lovibond technique which uses whole blood. 827 individuals of both sexes and within an age range between 18 and 75 years were analyzed, 415 of them in L1 and 412 in L2. Only for the age group under 50 was it possible to gather the number of persons demanded by the statistical design. The average value was higher in L1 than in L2 (92.55% vs 91.72%, $F = .946$; $p = 0.3415$). Interestingly in both locations the values were higher for men (93.95% vs 91.15% in L1 and 94.15% vs 89.31% in L2) and the difference was statistically significant ($p < 0.05$). In individuals younger than 50, age does not have an effect in the Lovibond test. There was no significant variation between our results and those reported by the producers of the Lovibond kit. Ours data are in agreement with the results of Henao et al in working children in Antioquia.

Key words

Cholinesterase, Lovibond, reference values, working populations.

Introducción

La industrialización y los intereses económicos de diversa índole han influido notablemente durante las últimas cinco décadas para el empleo en gran escala de los plaguicidas químicos, que aun cuando se usen debidamente producen efectos nocivos agudos y crónicos en la salud humana y en el ambiente.^{1,2,3} Sin duda, tendremos que seguir sufriendo durante muchos años más los efectos deletéreos de los plaguicidas sobre los trabajadores expuestos laboralmente, sobre la comunidad y sobre el ambiente.

En la actualidad, si se consideran conjuntamente los herbicidas, los fungicidas y los insecticidas, la casi totalidad de los casos de intoxicaciones agudas se debe a los insecticidas organofosforados y carbámicos inhibidores de las colinesterasas. En los países “en desarrollo” la situación es grave y las estadísticas, a pesar de las fallas de registro, informan la gran frecuencia de casos de intoxicación.¹ La acetilcolina es el transmisor

químico del impulso nervioso en varias clases de terminales nerviosas.^{4,5} Las enzimas que producen la hidrólisis de la acetilcolina y de otros ésteres de la colina se llaman colinesterasas. La acetilcolinesterasa produce la inactivación de la acetilcolina, con la consiguiente interrupción de la transmisión del impulso nervioso,^{4,5} así:

I Acetilcolina + acetilcolinesterasa ---->
 ----> colina + acetilcolinesterasa acetilada

II Acetilcolinesterasa acetilada + H₂O ---->
 ----> acetilcolinesterasa + ácido acético + colina

Las colinesterasas son de dos tipos^{4,5,6}:

- a. Colinesterasa verdadera, eritrocitaria, específica o de tipo e: se encuentra localizada exclusivamente en las neuronas, en las sinapsis ganglionares de la estructura neuromuscular del organismo y en los eritrocitos.
- b. Pseudocolinesterasa o colinesterasa inespecífica, o butirilcolinesterasa, o colinesterasa plasmática (sérica) o de tipo s: está presente en casi todos los tejidos (principalmente en hígado) y en el plasma, pero en poca concentración en el sistema nervioso central y periférico.

Para atender parte de la problemática asociada al uso de PIC se ha venido insistiendo en la necesidad de desarrollar sistemas de vigilancia epidemiológica que permitan detectar precozmente alteraciones mediante indicadores biológicos y, lo más importante, que permitan controlar eficazmente las situaciones de riesgo. Específicamente para los PIC, que continúan siendo responsables de un alto número de intoxicaciones, la determinación de esta enzima se emplea como uno de los mejores indicadores biológicos de efecto en la exposición aguda o crónica.¹ Existen varios métodos para la medición de esta enzima;⁷⁻¹⁵ la mayor parte de ellos están fundamentados en cuatro principios básicos que son:^{7,8}

- La medición del ácido producido de la acetilcolina, acetil beta-metilcolina o de la butirilcolina
- La medición de la hidrólisis de la tiocolina
- La determinación de la rata de desaparición de la acetilcolina
- Utilización de métodos con otros ésteres de la colina
-

Las seis técnicas utilizadas en el presente estudio y, específicamente, el Lovibond que es la informada en este artículo, corresponden a los dos primeros principios.

El indicador biológico de exposición humana comprende cualquier sustancia o subproducto de biotransformación, así como cualquier alteración bioquímica precoz, cuya determinación en los fluidos biológicos, tejidos o aire exhalado, evalúe la intensidad de la exposición al

agente químico contaminante ambiental u ocupacional.¹⁷ Para los PIC, los IBE tales como su determinación en sangre son difíciles, pues se hidrolizan rápidamente. La medición de sus productos de biotransformación en orina tiene limitaciones, su análisis aislado no evalúa la magnitud de la exposición. Dentro de los indicadores biológicos de efecto, hasta ahora conocidos, los más importantes corresponden a la actividad colinesterásica y a la estearasa neurotóxica (tabla 1). La determinación de esta última en linfocitos y plaquetas es una prueba útil en los estudios de neurotoxicidad retardada. La medición de la actividad colinesterásica se ha constituido en la principal prueba de laboratorio para la vigilancia de la población laboral expuesta a PIC.¹⁷

Tabla 1. Indicadores biológicos de exposición y efecto a organofosforados y carbamatos

<i>Exposición a</i>	<i>Muestra</i>	<i>Indicador biológico</i>
Organofosforados	Sangre	Actividad colinesterásica
		Estearasa neurotóxica
		Paraoxonasa
		Plaguicidas
	Orina	Fenoles
		Alquifosfatos
Carbamatos	Sangre	Actividad colinesterásica
		Plaguicidas carbámicos
	Orina	1-naftol
		2-isopropoxifenol

Cuando existe exposición prolongada y a bajas dosis se recomienda medir la enzima eritrocitaria, porque es similar en su función a la isoenzima del sistema nervioso, por la larga vida media de la célula roja y porque se afecta menos por cambios fisiológicos, enfermedades o medicamentos. La medición de la colinesterasa plasmática se recomienda como indicador de exposición aguda.^{11,12}

Hasta el presente, los valores de referencia de la colinesterasa, analizada por diferentes métodos, han sido tomados de resultados de estudios foráneos de países con características poblacionales muy diferentes a las de Colombia o recomendados por las casas comerciales de equipos o de reactivos. En general, dichos estándares han sido obtenidos de estudios

hechos en grupos muy pequeños no representativos de la población. En Colombia, en 1990, Henao y colaboradores publicaron un informe sobre valores de colinesterasa en 400 menores (catorce a diecisiete años) trabajadores no expuestos a PIC, habiendo empleado seis métodos diferentes para la medición.¹⁶ Por las consideraciones anteriores, se estimó necesario obtener valores de referencia autóctonos para población laboral activa por los mismos seis métodos de laboratorio usados por Henao y asociados:¹⁶ método potenciométrico de Michel y varios métodos colorimétricos que usan diferentes técnicas, como EQM[®], Monotest[®], Lovibond[®]. Este informe da cuenta de los resultados obtenidos con la técnica tintométrica de Lovibond[®] para sangre total. En informes posteriores se dará cuenta de los resultados con los otros procedimientos para colinesterasas en eritrocitos y en plasma, así como de las comparaciones entre los métodos.

Materiales y métodos

1. Diseño de la muestra poblacional

Se aplicó un diseño de índole descriptiva y transversal. Se tomaron sendas muestras representativas de la población laboral adulta, de 18 a 59 años, no expuesta a plaguicidas inhibidores de colinesterasa PIC, vinculada a empresas afiliadas al Seguro Social y situadas en el Valle de Aburrá y en el cercano Oriente antioqueño. El Valle de Aburrá incluyó los municipios de Caldas, La Estrella, Itagüí, Sabaneta, Envigado, Medellín, Bello, Copacabana, Girardota y Barbosa. El cercano Oriente incluyó a Rionegro, Guarne, Marinilla, Santuario, Carmen de Viboral, El Retiro y La Ceja.

Se tomaron los datos censales de 1985 para los municipios del Valle de Aburrá y del cercano Oriente antioqueño,¹⁸ se calcularon las proporciones de cada sexo con respecto a la población de 18 a 59 años en cada región y también las proporciones de cada grupo etáreo con relación a la misma población; tales proporciones por edad y sexo se usaron para aplicarlas a las proyecciones poblacionales de 1990 para dichas zonas.¹⁹ Se aplicó el método de muestreo aleatorio estratificado MAE para el cálculo del tamaño de la muestra.²⁰

De esta manera se conformaron los ocho estratos poblacionales de cada área: 2 sexos x 4 grupos de edad = 8 estratos sexo-edad.

Una vez definido el tamaño muestral para cada región (Valle de Aburrá y cercano Oriente antioqueño) se procedió a la selección de los participantes en el estudio, mediante el criterio de participar voluntariamente luego de recibir explicación sobre la investigación. Se obtuvo el consentimiento escrito informado, firmado por cada participante.

No se sabía cuáles eran los valores (parámetros) poblacionales de las colinesterasas eritrocitarias, plasmáticas y sanguíneas en el Valle de Aburrá y en el Oriente antioqueño. Por ese motivo se usaron como aproximación a esos parámetros los datos de Rider y colaboradores²¹ sobre niveles de colinesterasas en diferentes grupos por sexo. Según este

estudio, la media aritmética de las colinesterasas eritrocitarias en hombres es 0,766 y en mujeres es 0,750, con desviaciones estándares de 0,081 y 0,082, respectivamente.

El estudio poblacional de Rider y asociados²¹ es el más grande que se conoce y en él se encontró que el nivel de colinesterasa eritrocitaria no cambia con la edad en ninguno de los dos sexos. Por esta razón, se supuso que podía utilizarse el mismo valor de la media poblacional μ para los hombres y las mujeres. Para este caso, se empleó como valor de la media poblacional el promedio de los dos valores de Rider $[(0,766 + 0,750)/2 = 0,758]$ y como desviación típica poblacional la mayor, es decir 0,082.

El error de muestreo δ (el desvío que se acepta que puede tener la media aritmética de la muestra con respecto a la media poblacional: $\delta = \% \text{ error } x$) se definió mediante un ejercicio estadístico para observar cómo variaba el tamaño de la muestra según el cambio de δ ; se usó un nivel de significación del 5% ($\alpha = 0,05$) y se escogió un δ de 0,008 (8 por mil) mediante: $\delta = 0,0105 \times 0,758 \approx 0,008$, es decir se acepta que el valor poblacional difiera del muestral en un 1,05%, que multiplicado por la media poblacional lleva a un error de muestro de 0,008 unidades reales (por ejemplo, delta de pH/hora, o U/mL). Este error de muestreo tan pequeño se requiere debido a la pequeña magnitud de los valores de colinesterasa, del orden de 0,758. Con un valor de δ tan pequeño su influencia en el tamaño de la muestra es intensa, de tal forma que cuando δ aumenta levemente, disminuye grandemente el valor muestral.

El tamaño de la muestra se calculó con base en $\delta = 0,008$, un nivel de significación α de 0,05 y un nivel de confianza $(1-\alpha)$ de 0,95. Esto implica que se acepta que la probabilidad de que la diferencia entre las medias poblacional y muestral sea menor que δ es del 95%. El tamaño muestral (n) para el Valle de Aburrá resultó de 403 y para Oriente de 402 y se calculó con la ecuación:²⁰

$$n = \frac{N Z^2 \delta^2}{\delta^2 (N - 1) + Z^2 \delta^2}$$

donde los símbolos significan:

n : tamaño de la muestra

N : tamaño de la población de referencia

δ^2 : Varianza poblacional de las colinesterasas

Z : Unidades Z de la distribución normal de probabilidad. En este caso, Z será igual a 1,96, puesto que tomamos $\alpha = 0,05$

δ : error de muestreo aceptado, es decir $\delta = 0,008$

Las personas finalmente estudiadas fueron tomadas al azar entre quienes aceptaron participar en el estudio y llenaron los requisitos de inclusión. Cuando el trabajador aceptó

participar, se le aplicó una encuesta personal con el fin de excluir a aquellos que presentaran enfermedades o condiciones que pudieran modificar los niveles de actividad de la enzima (véase: Criterios de inclusión). La persona rechazada se reemplazó por otra escogida también por su decisión de participar en el proyecto y que cumpliera los requisitos de admisión.

Una vez conformada la muestra, a cada trabajador se le realizaron mediciones en plasma, eritrocitos y sangre completa de la actividad colinesterásica, utilizando un método potenciométrico (Michel) y varios métodos colorimétricos que usan diferentes técnicas (EQM, Cinético, Lovibond). También se le hizo medición de la hemoglobina por dos métodos, uno de los cuales mide la cianometahemoglobina y el otro la oxihemoglobina. La primera medición se hizo en un laboratorio especializado y la segunda se obtuvo en el laboratorio de Salud ocupacional del Seguro Social como un paso intermedio en la medición de colinesterasa eritrocitaria por el método EQM.

2. Recolección de información

Las empresas se visitaron en horario de plena actividad laboral, se reunió a los trabajadores y se les explicó cuáles eran los objetivos de la investigación, los requisitos para poder participar, los riesgos de la toma de la muestra de sangre y el destino exclusivamente para esta investigación de todos los datos recogidos con el formulario y con el análisis de la muestra de sangre. Cada persona firmó una autorización para ser incluida en la investigación.

A cada uno de los trabajadores que aceptaron participar en el trabajo se le hizo una entrevista por la misma persona, con el fin de aplicarle un formulario diseñado para recoger la información sobre identificación general, edad, sexo, presencia / ausencia de estados fisiológicos como embarazo y menstruación, presencia / ausencia de enfermedades, presencia / ausencia de ingestión de drogas (véase: Criterios de inclusión). Si llenaban los requisitos contenidos en éste, se les tomó de inmediato la muestra de sangre para estudio de colinesterasas y valores hematológicos.

3. Criterios de inclusión en el estudio

Al aplicar el formulario a cada persona, se investigó sobre la presencia en ella de enfermedades que alteran los niveles de colinesterasas y quien tuvo alguna de ellas se excluyó del estudio. Los estados fisiológicos como embarazo y menstruación, que modifican los valores de actividad colinesterásica, no fueron causa de exclusión. Tampoco lo fue la ingestión de drogas si el trabajador decía sentirse bien, pero quienes dijeron tomar medicamentos y afirmaron no estar con buena salud sí fueron dejados por fuera del estudio. Estos dos grupos se dejaron con el fin de compararlos con aquel otro conformado por quienes ni estaban enfermos, ni estaban en embarazo, ni menstruaban, ni tomaban drogas.

Todos los trabajadores incluidos laboraban en empresas donde ni por rutina ni ocasionalmente se usan PIC; además, se indagó a los trabajadores sobre el uso extralaboral de estas sustancias en el último mes y se excluyó a quienes manifestaron haberlos usado en actividades como aplicación domiciliaria contra insectos, plagas de jardín u otras similares. Las personas incluidas en la muestra prestan sus servicios en empresas de textiles, confecciones, alimentos, producción de papel, hospitales y centros de salud, recreación, transporte de personas, vigilancia.

4. Métodos y técnicas de laboratorio

Estas son las características básicas del Lovibond,¹⁵ aplicadas en este estudio según las instrucciones de la empresa fabricante:

- Método: colorimétrico de Edson (Lovibond®)
- Tipo análisis: viraje de color por cambio de pH de la solución indicadora
- Principio: perclorato de acetilcolina + azul bromotimol ? cambio color del indicador
- Muestra: sangre total
- Tiempo de reacción: depende de la temperatura; máximo 41 minutos
- Volumen: 10 µL
- Temperatura: 10-4C

El Lovibond usa una escala de medición que es discreta y avanza de a 12,5%.¹⁵ Se emplea sangre total como muestra biológica para estudio¹⁵ y, al parecer, mide tanto la enzima eritrocitaria como la plasmática.

Según datos no publicados y obtenidos por el laboratorio de salud ocupacional de la ARP Seguro Social, a partir de la base de datos del estudio de Henao y colaboradores en menores trabajadores,¹⁶ el Lovibond tiene los siguientes valores diagnósticos, comparado con la prueba de Michel (prueba estándar) y siguiendo bien sea los valores promedio normales según el fabricante o según los datos hallados por Henao y asociados en ese estudio:

	<i>Valor normal según</i>	
	<i>Fabricante</i>	<i>Henao et al.</i>
sensibilidad	21%	36%
especificidad	100%	89%
valor predictivo (+)	11%	89%
valor predictivo (-)	97%	96%

Según la sensibilidad, el Lovibond es una pésima herramienta para efectuar actividades de vigilancia epidemiológica sobre PIC entre población laboral, pudiendo ser una buena herramienta para descartar problemas de intoxicación por PIC, dada su alta especificidad.

5. Análisis estadístico

Las dos muestras (415 personas de Aburrá y 412 de Oriente; total: 827 trabajadores) se tomaron independientemente una de otra. El diseño muestral se hizo por el procedimiento de afijación proporcional.

Para el análisis estadístico se usaron los programas SPSS versión 4.0, SGPlus versión 7.1, Statistica versión 6.2 y EpiInfo versión 6. La estadística descriptiva se obtuvo con el SGPlus 7.1, las pruebas de chi cuadrado, incluyendo la versión de Fisher, se realizaron con el programa EpiInfo 6.0, las pruebas t para muestras independientes se obtuvieron con Statistica 6.2, los análisis de varianza se hicieron con SGPlus 6.0 y, para generar las triples interacciones, con SPSS; el de correlación y regresión con SGPlus 7.1 y SPSS. Los gráficos se hicieron con SGPlus 7.1.

En el análisis de varianza (anova) las sumas de cuadrados se obtuvieron por el procedimiento de tipo III para tales sumas y todas las razones F están basadas en el error residual de mínimos cuadrados. Los gráficos para representar las diferencias entre las medias y los intervalos de confianza del 95% se hicieron siempre por la prueba HSD de Tukey al 95%.

En el análisis de rango múltiple (ARM) siempre se usó el método de Newman-Keuls al 95%.

Resultados

1. Redefinición de las muestras poblacionales según la edad

Al final, se incluyeron 827 personas, en vez de las 805 previstas. Un total de 415 fueron del Aburrá y 412 del Oriente. Se presentó dificultad para conseguir las personas del estrato de 50 a 59 años; se decidió completar el número de personas de estos grupos eliminando el límite superior del estrato y, de esa manera, quedaron incluidas las siguientes, agrupadas en dos estratos según la edad:

<i>Edad (años)</i>	<i>Aburrá</i>		<i>Oriente</i>	
	<i>Hombres</i>	<i>Mujeres</i>	<i>Hombres</i>	<i>Mujeres</i>
50-59	13	18	14	10
60-75	5	7	7	11
total	18	25	21	21

Lo anterior es diferente de lo previsto, que era:

	<i>Hombres</i>	<i>Mujeres</i>	<i>Hombres</i>	<i>Mujeres</i>
50-59	20	24	21	23

Las nuevas muestras para los estratos 50-59 y 60-75 no fueron calculadas con base en poblaciones que incluyeran personas por arriba de los 59 años. El número de individuos en esos dos estratos de 50-59 y 60-75 es estadísticamente inadecuado y por ello las conclusiones del trabajo no se podrán aplicar a esos estratos de edad. El análisis se aplica sólo a los tres grupos con edad por debajo de 50 años y los otros dos se dejan únicamente para comparar y enfatizar su comportamiento diferente al de los grupos de correcta conformación. En síntesis, la muestra estudiada tiene la estructura por edad y sexo que muestra la tabla 2.

Tabla 2. Muestra final por región, sexo y edad

<i>Estrato</i>	<i>Población</i>				<i>Muestra</i>	
	<i>h</i>	<i>Sexo</i>	<i>Edad</i>	<i>V. Aburrá</i>	<i>Oriente</i>	<i>V. Aburrá</i>
1	H	18-29	276.093	27.296	82	90
2	H	30-39	187.942	15.100	57	53
3	H	40-49	13.355	9.487	36	33
4	H	50-59	68.222	6.166	13	14
5	H	60-75			5	7
6	M	18-29	325.712	29.615	95	104
7	M	30-39	212.732	15.906	65	57
8	M	40-49	127.041	9.893	37	33
9	M	50-59	83.944	6.742	18	10
10	M	60-75			7	11
Total			1.395.041	120.205	415	412

2. Valores de colinesterasas sanguíneas

La tabla 3 y las figuras 1 y 2 muestran los valores enzimáticos de las colinesterasas sanguíneas por región, sexo y edad para el Lovibond, tanto los promedios como los intervalos de confianza del 95% (IC95%), así como los valores para las interacciones entre las tres variables mencionadas.

A. Efectos principales de las variables explicativas (región, sexo y edad) en el comportamiento de la colinesterasa sanguínea

- Región

El promedio de actividad enzimática es mayor en las personas de Aburrá que en las de Oriente (92,55 y 91,72% en su orden; tabla 3). Según el anova y el ARM, esa diferencia no es estadísticamente significativa ($F = 0,946$; $p = 0,3415$). El estudio se diseñó para estudiar en forma independiente las dos regiones (Aburrá y Oriente). Por este motivo, a pesar de

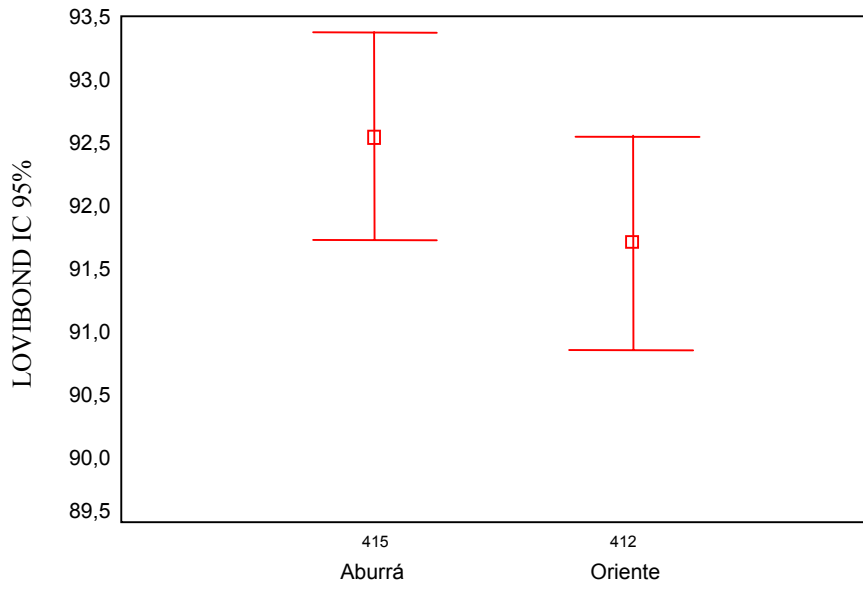
que no hay diferencia en los promedios de colinesterasas entre ambas áreas, se mantendrá la presentación de los resultados para cada una de ellas.

gTabla 3. Promedios e intervalos de confianza de la colinesterasa sanguínea por la técnica Lovibond

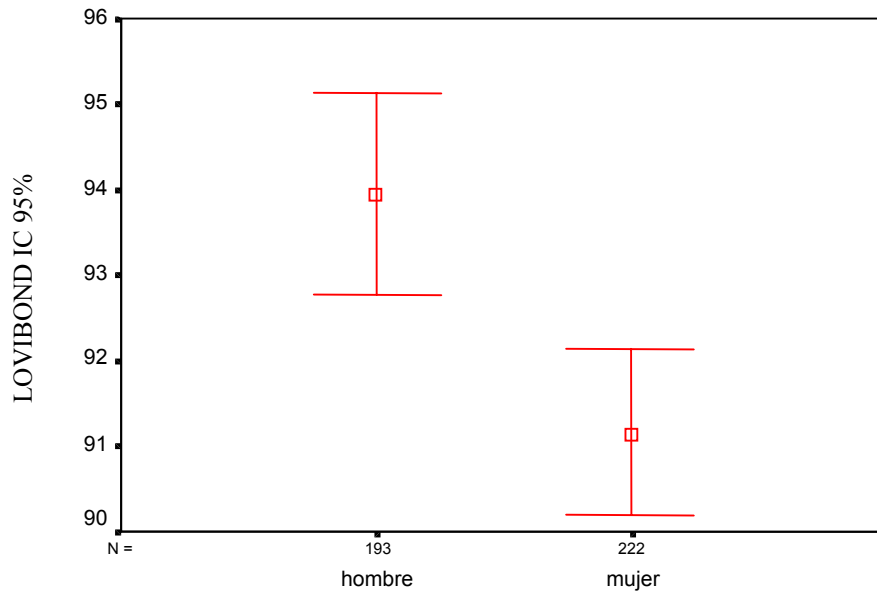
<i>Nivel</i>	<i>Nro</i>	<i>Media</i>	<i>E.E.¹</i>	<i>IC95% para la media</i>	
Gran media	827	92,14	0,42	91,31	92,97
A: Región					
1: Aburrá	415	92,55	0,61	91,34	93,76
2: Oriente	412	91,73	0,58	90,58	92,87
B: Sexo					
1: hombre	390	94,05	0,62	92,81	95,28
2: mujer	437	90,23	0,56	89,11	91,34
C: Edad					
1: 18-29	371	89,72	0,41	88,90	90,54
2: 30-39	232	90,98	0,53	89,94	92,02
3: 40-49	139	91,80	0,68	90,46	93,14
4: 50-59	55	93,80	1,10	91,62	95,98
5: > 59	30	94,38	1,52	91,38	97,38
AB Región-Sexo					
1 1	193	93,95	0,93	92,12	95,77
1 2	222	91,15	0,80	89,57	92,74
2 1	197	94,15	0,84	92,49	95,80
2 2	215	89,31	0,80	87,73	90,88
AC Región-Edad					
1 1	177	91,04	0,60	89,84	92,23
1 2	122	91,00	0,73	89,56	92,43
1 3	73	92,31	0,94	90,46	94,16
1 4	31	94,12	1,46	91,25	97,00
1 5	12	94,28	2,35	89,65	98,91
2 1	194	88,41	0,57	87,27	89,55
2 2	110	90,97	0,76	89,46	92,48
2 3	66	91,28	0,99	89,34	93,23
2 4	24	93,48	1,66	90,20	96,75
2 5	18	94,48	1,95	90,66	98,30
BC Sexo-Edad					
1 1	172	91,66	0,61	90,45	92,87
1 2	110	91,95	0,77	90,44	93,46
1 3	69	93,84	0,97	91,93	95,75
1 4	27	96,70	1,55	93,65	99,75
1 5	12	96,07	2,35	91,44	100,70
2 1	199	87,79	0,57	86,66	88,91

2	2		122	90,01	0,73	88,58	91,44
2	3		70	89,75	0,96	87,86	91,65
2	4		28	90,90	1,59	87,78	94,02
2	5		18	92,69	1,95	88,87	96,51
ABC:Región-Sexo-Edad							
1	1	1	82	92,07	0,86	90,38	93,76
1	1	2	57	91,23	1,03	89,20	93,25
1	1	3	36	93,75	1,29	91,20	96,30
1	1	4	13	95,19	2,16	90,95	99,43
1	1	5	5	97,50	3,48	90,66	104,33
1	2	1	95	90,00	0,80	88,43	91,57
1	2	2	65	90,77	0,96	88,87	92,67
1	2	3	37	90,88	1,28	88,36	93,39
1	2	4	18	93,06	1,83	89,45	96,66
1	2	5	7	91,07	2,94	85,29	96,85
2	1	1	90	91,25	0,88	89,52	92,98
2	1	2	53	92,69	1,14	90,44	94,94
2	1	3	33	93,93	1,45	91,09	96,78
2	1	4	14	98,21	2,22	93,84	102,59
2	1	5	7	94,64	3,15	88,45	100,82
2	2	1	104	85,58	0,82	83,97	87,18
2	2	2	57	89,25	1,10	87,09	91,42
2	2	3	33	88,64	1,45	85,79	91,49
2	2	4	10	88,75	2,63	83,57	93,92
2	2	5	11	94,32	2,51	89,38	99,25

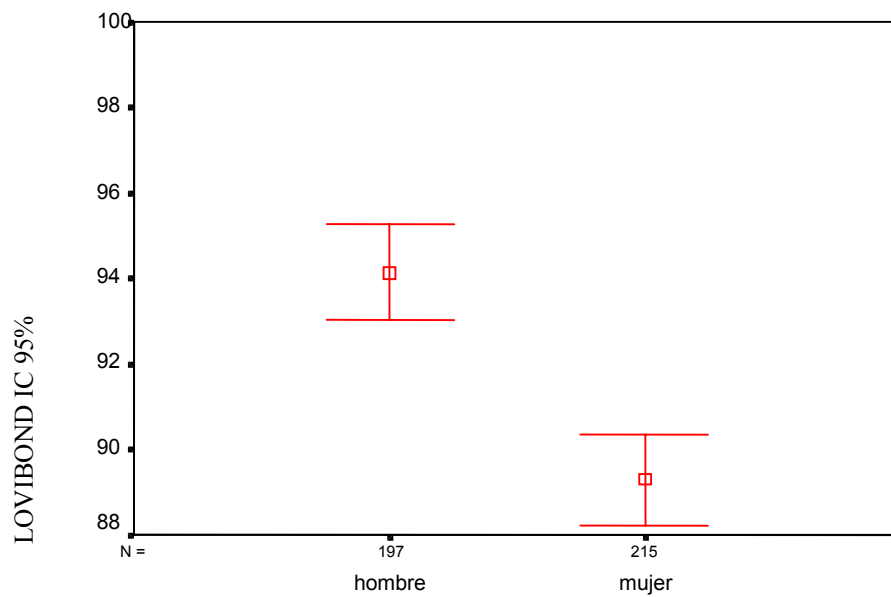
¹E.E: error estándar



A. Por región

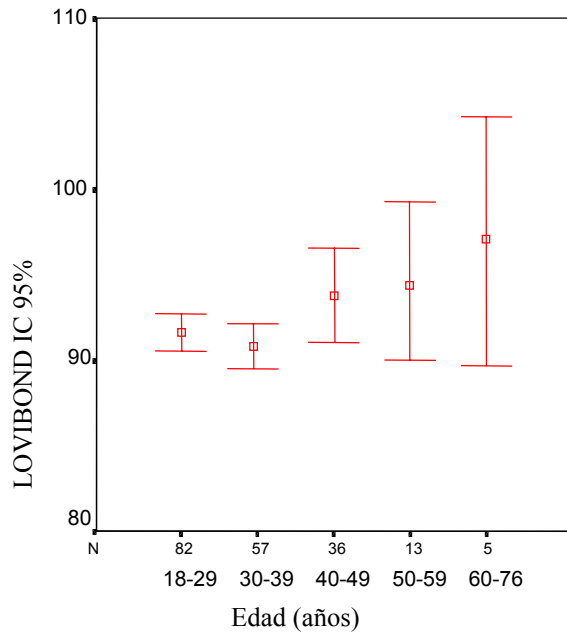


B. Por sexo en cada región: Aburrá

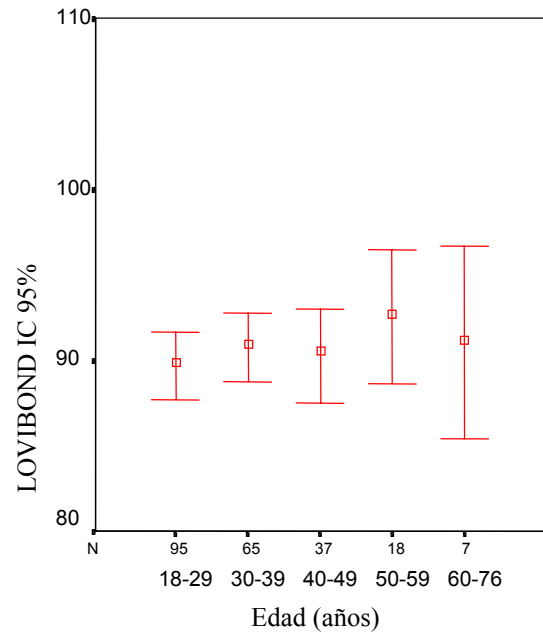


C. Por sexo en cada región: Oriente

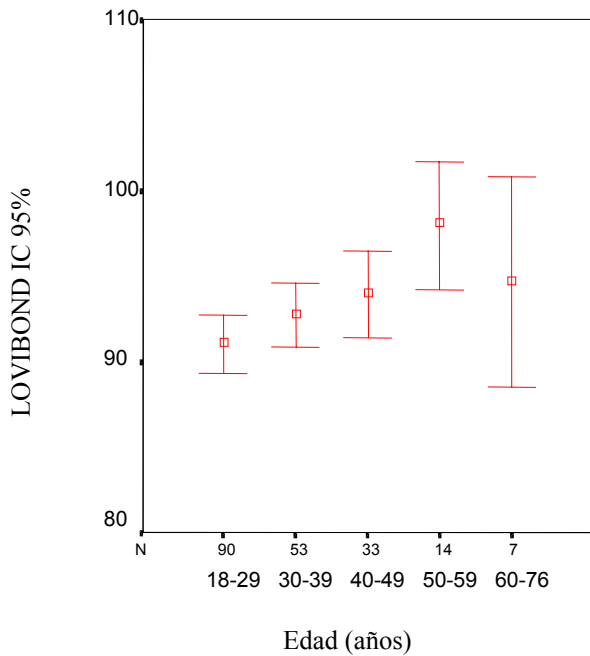
Figura 1. Colinesterasas sanguíneas con Lovibond



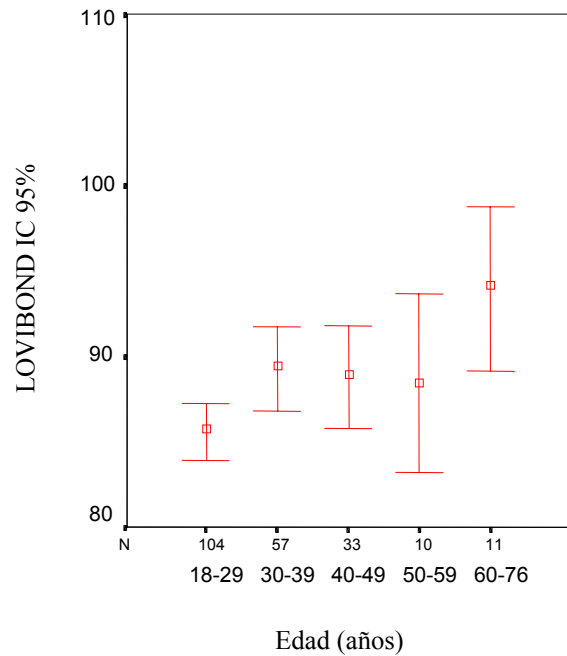
A. Aburrá hombres



Aburrá mujeres



B. Oriente hombres



Oriente mujeres

Figura 2. Colinesterasas sanguíneas con Lovibond por edad

- **Sexo:** en ambas regiones los hombres tienen una actividad enzimática superior a las mujeres: en Aburrá los promedios son 93,95 y 91,15%; en Oriente son 94,15 y 89,31% (tabla 3 sector AB: Región-Sexo). Hay diferencia estadísticamente significativa (d.e.s.) entre las medias de hombres y mujeres tanto en Aburrá ($F = 5,508$; $p = 0,0194$) como en Oriente ($F = 16,167$; $p = 0,0001$).

- **Edad:** la parte “ABC: Región-Sexo-Edad” de la tabla 3 presenta la estadística descriptiva del Lovibond para cada grupo de edad. Considerando los tres grupos menores de 50 años de edad, en Aburrá y entre los hombres la colinesterasa varía según la edad entre 91,21 y 93,75%, mientras que en las mujeres oscila entre 90,00 y 90,78%. En Oriente, entre los hombres la enzima está entre 91,50 y 93,94%, en tanto que entre las mujeres la variación ocurre entre 85,58 y 88,64%. Un análisis estratificado en el que se fijan las variables región y sexo permite comparar la variación en función de la edad y enseña que, en los tres grupos por debajo de 50 años de edad, esa variable no tiene efecto en el comportamiento del Lovibond (siempre $p < 0,05$).

B. Interacciones de las variables explicativas (región, sexo y edad) en el comportamiento del Lovibond

- También muestra el anova que el comportamiento del Lovibond no es afectado por las interacciones entre las variables región, sexo y edad, según los valores de las razones F y sus respectivos valores de probabilidad asociados (valores p), que es mayor que 0.05. Tampoco existe la triple interacción región-sexo-edad.

C. Síntesis sobre la colinesterasa sanguínea según la técnica de Lovibond

- **Región:** según el anova y el ARM, no hay diferencia estadísticamente significativa entre Aburrá y Oriente.

- **Sexo:** sin tener en cuenta la edad, tanto el anova como el ARM muestran que hay diferencia entre hombres y mujeres, con valores masculinos superiores en ambas regiones. Si se estratifica por la variable edad, en ambas zonas hay un nítido efecto del sexo masculino en todos los grupos de edad.

- **Edad:** el ARM muestra que no hay diferencia en los valores en función de la edad cuando se hace un análisis que controle los efectos en ellas de las variables región y sexo.

3. Valores máximos normales de inhibición de la colinesterasa

Es común que al evaluar en personas y grupos la colinesterasa los resultados se expresen o se utilicen en términos no de la actividad encontrada sino de la inhibición hallada, lo cual resulta de comparar el valor de referencia poblacional (parámetro) con el dato individual mediante una regla de tres simple, en la que el 100% de actividad corresponde al parámetro y se calcula a cuánto porcentaje equivale el hallazgo de la persona. En el laboratorio de

salud ocupacional de la ARP Seguro Social, seccional Antioquia, se acepta como “normal” una reducción máxima del veinte por ciento, es decir que la mínima actividad “normal” es del 80% (0,80) del parámetro. Otras entidades, como la ACGIH en Estados Unidos de América,²² aceptan una mínima actividad del 75% con respecto al valor basal de la persona. Si el IC95% es hallado en personas normales, el límite inferior del intervalo es el menor valor “sano” o “normal”. Por ello, se toma este límite como el 100% de la actividad enzimática mínima normal, se multiplica el límite por 0,80 y se obtiene el valor máximo de inhibición aceptable en personas sanas.

4. Personas “no sanas” presentes en las muestras

La encuesta epidemiológica que se aplicó a los posibles participantes en el trabajo recogía información sobre tres asuntos: antecedentes personales de enfermedades, consumo de drogas para el tratamiento de enfermedades y problemas y, finalmente, datos sobre presencia de embarazo o menstruación en el momento de la encuesta.

Entre los 415 y 412 individuos estudiados en Aburrá y en Oriente varios presentan alguna situación que podría considerarse “no normal, no sana”, como la presencia de anemia en 21 mujeres, de embarazo en 14 personas, de menstruación en otras 53 mujeres, de antecedentes de enfermedad en 161, de uso de medicamentos en 115 personas. Se definió como mujer anémica a aquella con hemoglobina (Hb) (como cianometahemoglobina) menor de 12 g/dL y como hombre anémico a aquel con menos de 13 g/dL de Hb.

Se evaluó el comportamiento de las colinesterasas en tres grupos de mujeres: embarazadas, menstruales, sin embarazo ni menstruación. De los grupos se excluyeron las anémicas y las mujeres con 50 o más años de edad. No se halló d.e.s. entre los tres grupos comparados en ninguna de las dos regiones, lo cual significa que los niveles de colinesterasas sanguíneas son iguales en los tres grupos de mujeres.

Dentro de cada región, se realizó un análisis para medir la variación de las medias de colinesterasa en mujeres sanas y anémicas. Los promedios en Aburrá son de 90,6 y 90,1% en sanas y anémicas, respectivamente; en Oriente son de 87,7 y 85,7%, en su orden. No hay d.e.s. ni en Aburrá ($F = 0,045$; $p = 0,8345$) ni en Oriente ($F = 0,325$; $p = 0,5753$).

Debido a los pocos casos de enfermos por categoría o enfermedad individual, toda las personas con algún problema patológico se agruparon en una categoría única. Se procedió a evaluar el comportamiento de las colinesterasas en los dos grupos (sanos y enfermos) dentro de cada sexo y región, mediante un análisis con la prueba t (usando un $\alpha = 0,05$); así, en cada región las personas se separaron por sexo y dentro de cada sexo se compararon los sanos y los enfermos. De esta manera se controló el efecto de las variables región y sexo, asegurando grupos iguales en función de ellas. No se encontró d.e.s.

Se compararon los niveles de colinesterasas en función del consumo de fármacos; se construyeron tres grupos, así: no consumen, consumen un medicamento, consumen dos o

más drogas. En Oriente no hay d.e.s. ni con anova ($F = 2,047$; $p = 0,1305$) ni mediante el ARM; en Aburrá la primera prueba, pero no la segunda, detecta d.e.s. ($F = 3,733$; $p = 0,0247$). Las cifras sanguíneas son estas: 91,31% sin drogas, con una droga sube a 94,25% y con dos drogas baja a 88,07%. La d.e.s. está entre tomar una droga y tomar dos drogas.

Discusión

El hecho de haber incluido 827 personas, en vez de las 805 previstas, no constituye un problema, pero sí lo es el que no se haya podido contar con el número de sujetos programados para el estrato de 50 a 59 años. Por esta razón, los resultados del estudio sólo se consideran válidos para los tres grupos con edad por debajo de 50 años, mientras que los otros dos grupos (50-59 y 60-75 años) únicamente deberán considerarse como punto descriptivo y de contraste con los tres grupos representativos de las dos poblaciones muestreadas. No obstante lo anterior, es conveniente considerar que, en ambas regiones, el grupo de 50 a 75 años está constituido por un número mediano de sujetos, aunque cada grupo no es representativo de su población en términos cuantitativos, pero sí cualitativos.

Para los tres estratos representativos, el número de personas en cada estrato estudiado se ajusta casi totalmente a lo previsto, por lo cual hay que aceptar que la composición de las muestras resultó conforme a lo exigido desde el punto de vista teórico.

Las muestras poblacionales se diseñaron pensando que estarían conformadas por personas sanas. Como se informó antes, se incluyeron sujetos acerca de cuya “normalidad” puede existir controversia. Salvo las personas con anemia, las demás se detectaron en el momento de aplicar la encuesta y, después de una intensa discusión, se decidió incluirlas en la investigación. El argumento central fue el siguiente: el objetivo del trabajo apuntaba a establecer los valores de referencia de las colinesterasas en población laboral activa no expuesta a plaguicidas. El supuesto de que tal población era “sana o normal” nos pareció secundario. ¿Cómo afectan los resultados y las conclusiones la presencia de esos fenómenos? Ciertamente la presencia de anemia, de alguna enfermedad crónica o el consumo de medicamentos son características “no sanas, no normales”, mientras que el embarazo y la menstruación son estados completamente fisiológicos. Unas y otras situaciones pueden modificar los valores enzimáticos con respecto a personas sin esos rasgos y, además, laboralmente activas. Sin embargo, como quedó demostrado con los análisis estadísticos efectuados, no hay diferencia en los valores de colinesterasas sanguíneas entre sujetos seguramente sanos y aquellos con alguno de los problemas referidos.

Conviene pensar que la población laboral activa no expuesta a plaguicidas incluye, en la vida real, tanto sujetos “totalmente sanos” como personas “con alguna situación de anormalidad”, como las mencionadas. Nos parece que los estándares de colinesterasa de la población laboral activa deben reflejar la composición efectiva de esta, que no excluye a los sujetos con “alguna anomalía”. En otros términos, quienes laboran y producen la riqueza de

un país son personas comunes y corrientes y no ángeles ni serafines, carentes de “toda anormalidad”.

El hallazgo en nuestra población mayor de dieciocho años de valores de colinesterasa sanguínea superiores en hombres que en mujeres concuerda con el de Henao y colaboradores en su trabajo con personas de catorce a diecisiete años,¹⁶ incluyendo el hallazgo de cifras de magnitud similar a las nuestras. Ellos encontraron datos entre 78,15 y 109,51% entre hombres (promedio: 93,83%) y de 74,68 a 107,46 en las mujeres (promedio: 91,07), frente a cifras masculinas nuestras de 92,81 a 95,28% (promedio: 94,05) y de 89,11 a 91,35% para las mujeres (promedio: 90,23).

Por otra parte, las cifras de Henao y colaboradores para personas de catorce a diecisiete años¹⁶ son casi iguales a las nuestras para personas de dieciocho y más años. Esto nos sugiere que la edad no influye en el comportamiento de las colinesterasas sanguíneas medidas por Lovibond.

Según el fabricante de Lovibond, un valor de colinesterasas entre 87,5 y 100,0% indica ninguna exposición a PIC.¹⁵ Estas cifras, basadas en 14 personas (7 hombres y 7 mujeres), pueden usarse para decir que el valor promedio normal es aproximado a 93,75%. No hay datos de la empresa productora sobre el valor de la desviación estándar, para la cual nuestras cifras fueron de 8% en hombres y de 8,43% en mujeres, iguales a las Henao y asociados en menores trabajadores.¹⁶ Si tomamos una desviación típica de 8% para el Lovibond y usamos como promedio 93,75% tanto para hombres como mujeres, podemos comparar estos valores con los nuestros. Efectuada la contrastación, se demuestra que no hay d.e.s. entre nuestro promedio y los del fabricante, ni en hombres ($F = 0,01$; $p = 0,9217$) ni en mujeres ($F = 1,20$; $p = 0,2733$). La conclusión es que los estándares extranjeros del Lovibond concuerdan con los hallados en el trabajo de Henao y colaboradores¹⁶ y con los nuestros.

La importancia de disponer de valores de referencia a partir de sendas muestras representativas de las poblaciones, aleatoriamente tomadas y estudiadas siguiendo un diseño metodológico que parece correcto, es un avance muy importante para el país y para otros similares al nuestro, como casi todos los latinoamericanos. Esta importancia se refiere tanto al ámbito clínico como al epidemiológico y de salud ocupacional. No hay que olvidar que la intoxicación por PIC cobra un millón anual de casos de intoxicación intencional o accidental en los países mal llamados “en desarrollo”, de los cuales veinte mil fallecen^{23,24,25} y que la mayoría de los factores citados para intentar explicar esta situación^{25,26,27} tendrán una larga permanencia en el futuro mediato y, quizás, a largo plazo (15 y más años), porque tienen un fundamental origen socioeconómico estructural, motivo por el cual conviene disponer de elementos que sirvan para la toma de decisiones médicas y epidemiológicas, como son los valores de referencia.

Reconocimientos

- Fondo de Promoción de la Salud Industrial del Seguro Social (Colombia) por la financiación de la investigación.
- Administradora de Riesgos Profesionales Seguro Social, seccional Antioquia, por la cofinanciación del proyecto.
- Flor María Zapata L., química, y María Isabel Gallego P., médica de salud ocupacional, por su aporte para crear el proyecto y a la doctora Zapata por la participación en la realización de las mediciones químicas.
- Gabriel Agudelo V., estadístico y maestro en bioestadística, profesor titular, Departamento de Matemáticas de la Universidad de Antioquia, por su asesoría.
- Facultad Nacional de Salud Pública de la Universidad de Antioquia por su apoyo administrativo durante el proyecto.
- Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina en la Universidad de Antioquia por su ayuda en la realización de varias mediciones químicas.
- Laboratorio Clínico Hematológico Ltda. (Medellín) por su cooperación para las mediciones hematológicas.

Referencias

1. Henao S, Corey G. Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas. Serie Vigilancia 11. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Metepec, México: ECO, OPS, OMS; 1991.
2. Organophosphorous insecticides: a general introduction. Geneve, Switzerland: WHO, ILO, 1986. Environmental Health Criteria N°. 63.
3. International Programme on Chemical Safety (IPCS). Carbamate pesticides: a general introduction. Geneve, Switzerland: IPCS, 1986. Environmental Health Criteria N°. 64.
4. Whittaker M. Cholinesterase. New York: Karger Basel. 1986. Monographs in Human Genetics, N°. 11.
5. Guyton AK. Tratado de Fisiología médica. 8ª ed. México DF: Interamericana-McGrawHill; 1992.
6. Schwarz M, Glick D, Lowenstein Y, Soreq H. Engineering of human cholinesterases explains and predicts diverse consequences of administration of various drugs and poisons. Pharmacol Ther 1995; 67 (2):283-322.
7. Aldridge WN. The nature of the reaction of organophosphorous compounds and carbamates with esterases. Bull WHO 1971; 44:25-30.
8. Kangas J, Jauhainen A. Determination of cholinesterase activity. Afr Newslett Occup Health and Safety 1991; 2:56-58.

9. Michel HO. An electrometric method for determination of red blood cell and plasma cholinesterase activity. *J Lab Clin Med* 1949; 34:1.564-1.568.
10. Naab DP, Whitfield L. Determination of cholinesterase by the automated delta pH stat method. *Arch Environ Health* 1967; 15:147.
11. Ellman GL *et al.* A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961; 7: 88-95.
12. Magnotti RA Jr, Eberly JP, Quarm DEA, McConell RS. Measurement of acetylcholinesterase in erythrocytes in the field. *Clin Chem* 1987; 33:1731-1.735.
13. Magnotti RA Jr., Dowling K, Eberly JP, and McConell RS. Field measurement of plasma and erythrocytes cholinesterases. *Clin Chem Acta* 1988; 315:315-332.
14. Riddles PW, Blakely RL, Zerner B. Reassessment of Ellman's reagent. *Methods Enzymol* 1983. 91:4.960.
15. Tintometer. Lovibond. The Lovibond cholinesterase test kit AF 267 (40-2670). Instruction. Virginia, USA.
16. Henao S, Restrepo MP, Zapata FM, Marín LE, Ramírez H, Corrales R *et al.* Actividad colinesterásica en menores trabajadores. Antioquia (Colombia), 1989-1990. Medellín: Instituto de Seguros Sociales y Universidad de Antioquia; 1990.
17. Della Rosa HV *et al.* Detección biológica de la exposición humana a agentes químicos. ECO/OPS/OMS. Metepec, México; 1991.
18. Colombia, Departamento Nacional de Estadística DANE. Colombia Censo 85. Bogotá: DANE; 1986.
19. Colombia, Gobernación del Departamento de Antioquia, Planeación Departamental. Anuario estadístico de Antioquia 1993. Medellín: Planeación Departamental; 1994.
20. Ya Lun Chou. Estadística. México DF: Interamericana; 1972.
21. Rider JA *et al.* Plasma and cell cholinesterase in 800 "healthy" blood donors. *J Lab Clin Med* 1957; 50:376-383.
22. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Threshold Limit Values (TLVs) for chemical substances in the work environment adopted by ACGIH for 1995-1996. Cincinnati, USA: ACGIH; 1995.
23. Klein-Schwartz W, Smith GS. Agricultural and horticultural chemical poisoning. Mortality and morbidity in the United States. *Ann Emerg Med* 1997; 29:232-238.
24. Andrade-Carvalho W. Fatores de riscos relacionados com exposição ocupacional e ambiental a insecticidas organoclorados no Estado da Bahia, Brasil, 1985. *Bol Oficina Sanit Panam* 1991; 115:255-269.
25. Durán-Nah JJ, Collí-Quintal J. Intoxicación aguda por plaguicidas. *Salud Pública de México* 2000; 42 (1):53-55.
26. McConnell R, Hruska AJ. An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for preventions in developing countries. *Am J Public Health* 1993; 83:1.559-1.562.
27. Câmara V de M, Corey G. Vigilância epidemiológica relacionada com substâncias de uso proibido na agricultura. *Bol Oficina Sanit Panam* 1995;119:135-139.