

**PLAGUICIDAS EN EL RÍO BOGOTÁ:
EFECTO EN EL PEZ CAPITÁN Y EN LA
POBLACIÓN QUE LO CONSUME**

**FUNDACIÓN AL VERDE VIVO
UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**

BOGOTÁ, D.C., NOVIEMBRE DE 2007

**PLAGUICIDAS EN EL RÍO BOGOTÁ:
EFECTO EN EL PEZ CAPITÁN Y EN LA
POBLACIÓN QUE LO CONSUME**

INVESTIGADORES PRINCIPALES:

Alejandra Salcedo M – Universidad del Rosario
Marcela Varona – Instituto Nacional de Salud
Jaime Fernando González – Universidad Nacional
Adriana Rodríguez – Fundación Al Verde Vivo

CO-INVESTIGADORES:

Sonia Mireya Díaz – Instituto Nacional de Salud
Angélica Lancheros - Instituto Nacional de Salud

BOGOTÁ, D.C., NOVIEMBRE DE 2007

Información General del Proyecto:

- Nombre del Proyecto

“Plaguicidas en el río Bogotá: efecto en el pez capitán y en la población que lo consume”

- Grupo(s) de Investigación

Investigación Clínica - UR

Grupo Salud Ambiental - INS

Toxicología acuática – UNAL

- Líneas de Investigación

Determinación de biomarcadores para contaminantes ambientales –INS

Evaluación de intervenciones, medicamentos y tecnologías en medicina clínica - UR

- Investigador principal

Alejandra Salcedo – Universidad del Rosario

Marcela Varona – Instituto Nacional de Salud

Jaime Fernando González – Universidad Nacional

Adriana Rodríguez – Fundación Al Verde Vivo

- Duración

Un año (12 meses)

- Fecha esperada de Inicio y terminación

Febrero de 2008

Febrero de 2009

- Clasificación del área científica o disciplinar

Ciencias

- Sector de aplicación

Toxicología ambiental

Cuidado a la salud de las poblaciones humanas

- Clasificación del tipo de financiación: (a) Externa: nacional o internacional;

(b) Interna: Facultad o Fondo de Investigaciones de la Universidad del Rosario.

- Costo general del proyecto.

- Tiempo de dedicación semanal (agregando todo el recurso humano)

Resumen

El estudio pretende evaluar el impacto del vertimiento de plaguicidas en la cuenca alta del río Bogotá (municipio de Suesca), sobre la fauna íctica (pez capitán de la sabana, *Eremophilus mutisii*) y sobre la población que tradicionalmente ha consumido este pez. Se analizarán las concentraciones de plaguicidas organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos y organoclorados en muestras de agua del río Bogotá tomadas en Suesca, en la población habitante de la zona de muestreo y en peces. Para ello, se harán muestreos mensuales del pez, mediante su captura con anzuelo y en la población de Suesca, a través de la toma (consentida) de muestras, de orina y sangre y del desarrollo de encuestas conducentes a establecer la exposición ocupacional a plaguicidas. Adicionalmente, como biomarcador de efecto, se evaluará la actividad de la enzima acetilcolinesterasa en humanos (técnica cuantitativa de Michel & Aldrige en glóbulos rojos y plasma) y en peces (según Ellman) y en éstos se evaluará mediante histología convencional el efecto de la contaminación en la morfología de branquias, cerebro, gónadas, hígado y músculo y se harán frotis sanguíneos para observar alteraciones en su morfología celular. Los análisis de plaguicidas (α -BHC, β -BHC, δ -BHC, HCB, heptacloro, heptacloro epóxido, α -clordano, γ -clordano, oxiclordano, α -endosulfán, β -endosulfán, endosulfán sulfato, 2,4-DDT, 4,4-DDT, 4,4-DDE, 4,4-DDD, aldrín y dieldrín), se realizarán a través de la extracción en fase sólida y cromatografía de gases de alta resolución con detector de captura de electrones (HRGC/ECD) y de cromatografía líquida (HPLC/UV). Los resultados permitirán comprobar la existencia de plaguicidas (organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos y organoclorados) en las aguas de la cuenca alta del río Bogotá, determinar los biomarcadores de exposición y el efecto de estos plaguicidas en el pez “capitán de la sabana”, así como en la población que habita la zona y es consumidora de este pez en su dieta. Los datos serán publicados y constituirán un factor de motivación para que los habitantes de la zona y la comunidad en general se adhieran a un programa de control del vertimiento de plaguicidas en la cuenca alta del río Bogotá, contribuyendo a disminuir en un largo plazo la grave contaminación que padece el río Bogotá.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua por plaguicidas se produce en forma directa por su aplicación en los riegos, por lavado de envases o equipos y por descarga de remanentes. Su impacto indirecto se origina por la infiltración de estos productos a los mantos de agua subterránea (EPA) o al ser arrastrados por el agua de los campos de cultivo hasta los ríos y mares donde se introducen en las cadenas alimenticias provocando la muerte de varias formas de vida necesarias en el balance de algunos ecosistemas. Algunos efectos de esta contaminación se traducen en la aparición de organismos resistentes, persistencia ambiental de residuos tóxicos ó degradación de la flora y fauna. Para el caso de la fauna íctica, estos compuestos químicos se acumulan en tejidos de peces los que a su vez ponen en peligro la salud y vida de sus consumidores y algunos provocan la muerte de peces tanto en agua dulce como de mar. En condiciones de laboratorio se ha observado que algunos de estos productos son cancerígenos, teratogénicos y mutágenos en ratas, hamsters, peces y monos (Pastor, 2002).

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), anualmente se intoxican en el mundo cerca de dos millones de personas por exposición directa o indirecta a plaguicidas. De ese total, las 3/4 partes de afectados pertenecen a los países subdesarrollados, donde se emplea el 25% de la producción mundial de plaguicidas. La producción mundial actual de plaguicidas excede los 3 billones de Kg/año. Colombia consume al año 21 millones de kilogramos de plaguicidas químicos, de los cuales 17,1 se aplican en el sector agrario, ubicándose en el tercer puesto en Latinoamérica después de Brasil y México y en el tercero en cuanto a grado de exposición, sólo eclipsada por Panamá y Costa Rica (Zárate *et al.*, 1997; Idrovo, 1999).

En Colombia, el problema de la contaminación por plaguicidas es cada vez más grave, tanto por la cantidad y diversidad, como por la resistencia adquirida por algunos organismos, que obliga al uso de mayor cantidad de producto o su sustitución por compuestos más agresivos o incluso más tóxicos (EPA). Así, la flora y fauna nativas vienen siendo afectadas cada vez en mayor grado, lo que trae la destrucción de la diversidad natural de las regiones en que se usan, como es el

caso de la cuenca alta del río Bogotá (Rodríguez *et al.*, 2006). Según los datos publicados por Asocolflores, para el año 2006, en Colombia se encuentran registrados más de 120 principios activos de plaguicidas y reguladores de crecimiento para ser utilizados en los cultivos de flores. En Bogotá y la cuenca alta de su río no existen estudios que indiquen la magnitud del efecto del vertimiento de plaguicidas y sus sustancias acompañantes sobre el agua, los peces y los seres humanos.

El propósito de este estudio es comprobar la existencia de plaguicidas (organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos y organoclorados) en las aguas de la cuenca alta del río Bogotá, determinar los biomarcadores de exposición y efecto de estos plaguicidas en el pez “capitán de la sabana”, así como en la población que habita la zona y es consumidora de este pez en su dieta.

Este trabajo pretende dar respuesta a la ausencia de conocimientos y estudios realizados sobre el efecto de la contaminación por vertimiento de plaguicidas en la cuenca alta del río Bogotá y las consecuencias que estos vertimientos generan sobre los recursos naturales, específicamente sobre la fauna íctica, y sobre las implicaciones que se pueden derivar del consumo de estos peces por parte de la población habitante de la zona aledaña a los vertidos. Los resultados encontrados en esta investigación permitirán tomar medidas o ajustar las ya existentes, conducentes a disminuir el impacto provocado por los vertimientos, mediante un mayor control por parte de las entidades ambientales y a concientización sobre la necesidad de proteger nuestros recursos naturales y la vida de habitantes que corren riesgo de estar contaminados por el manejo inadecuado de los residuos por parte de la industria de flores y otros cultivos.

2. MARCO TEORICO

Para contextualizar esta problemática es necesario considerar información relacionada con los plaguicidas, los estudios previos en materia de efectos de la exposición de plaguicidas sobre los peces y sobre la población humana que los consume, y realizar una reseña general de la región objeto del estudio.

Según la OMS, “un pesticida o plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias, de carácter orgánico o inorgánico, que está destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas y animales que son perjudiciales para el hombre o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, producción de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales; y que puedan administrarse a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos”. El término plaguicida también incluye: reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de la fruta, agentes para evitar la caída prematura de la fruta y sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha, para proteger el producto contra el deterioro, durante el almacenamiento y transporte, que pueden tener potencial tóxico por si mismas (Olea *et al.*, 1995).

La contaminación de los cursos de agua se produce en forma directa por la aplicación de plaguicidas en las aguas, por lavado de envases o equipos y por descarga de remanentes y residuos (Pastor, 2002). Otra fuente de contaminación de agua se da por vía indirecta, la cual es producida por la lixiviación (infiltración) de productos, caída por desniveles y por contaminación de suelos. Las aguas contaminadas expanden el tóxico a la flora y fauna produciendo la muerte de especies, el aumento de la intoxicación humana, la pérdida del curso de agua como recurso utilizable y la probable contaminación de las reservas hídricas (Wolf *et al.*, 1993). Además, el empobrecimiento de la biodiversidad puede conducir a la proliferación de las especies antagónicas de aquellas extinguidas, provocando nuevos desequilibrios ecológicos y nuevas plagas. Un efecto adverso adicional proviene de la inadecuada disposición de envases y contenedores vacíos, ya que en Colombia no se cumplen las normativas para su eliminación, y frecuentemente se realiza la incineración a cielo abierto, sin tener en cuenta que algunos productos al ser expuestos al calor desprenden dioxinas cuya toxicidad es mayor que el agrotóxico original. Los factores mencionados forman un ciclo cerrado que se

retroalimenta y refuerza profundizando los efectos adversos (Olivera & Rodríguez-Ithurralde, 2002).

Los grupos de plaguicidas de interés para el presente estudio pertenecen a los organoclorados, ditiocarbamatos, organofosforados y carbamatos.

Los insecticidas organoclorados (OCI) son hidrocarburos cíclicos, muy estables en los diferentes ecosistemas y no biodegradables, con efectos de biomagnificación y bioacumulación. Penetran al organismo por todas las vías: oral, dérmica e inhalatoria y por su gran liposolubilidad se absorben fácilmente por la piel. Allí se distribuyen en todos los tejidos, principalmente en el tejido graso, por lo cual se eliminan lentamente por orina. Producen graves efectos neurotóxicos en el ser humano e interactúan con los ácidos nucleicos provocando efectos genéticos que desencadenan efectos mutagénicos ó carcinogénicos de manera inmediata ó a largo plazo (Goldfrank *et al.*, 1986; Cassaret, 1991; Eastmond, 1989; Major *et al.*, 1994).

Los ditiocarbamatos (D) se utilizan como fungicidas, aunque algunos tienen propiedades como insecticidas y herbicidas. Son compuestos moderadamente o poco tóxicos; hidrosolubles, no volátiles y sin acción inhibitoria sobre la acetilcolinesterasa. Desencadenan dermatitis de contacto, inducen sensibilización y son irritantes de piel y mucosas. Durante su metabolismo dan lugar a la etilentiourea, que puede estar presente en el fungicida aplicado o resultar de la transformación en el vegetal o después de la ingestión por el animal o el hombre. Se acumula en la glándula tiroides, se elimina por orina y heces. En animales de experimentación ha producido hiperplasia de tiroides, adenocarcinoma y efectos teratogénicos (Gosselin *et al.*, 2000; Aprea, *et al.*, 1996; Aprea *et al.*, 1997).

Los insecticidas organofosforados (OF), son utilizados como insumos agrícolas, plaguicidas domésticos ó para el control de vectores de enfermedades epidémicas. Son ésteres del ácido fosfórico y de sus derivados e inhiben la acetilcolinesterasa. Se hidrolizan fácilmente y tienen escaso poder de permanencia en el medio. Penetran al organismo por inhalación, ingestión y a través de la piel debido a su alta liposolubilidad. Una vez absorbidos y distribuidos en el organismo, como consecuencia de la acumulación de acetilcolina producen un síndrome muscarínico

(Henao & Corey 1991). Se eliminan por la orina y las heces (Obiols, 2.004). Dentro de los efectos crónicos se encuentran la neurotoxicidad del sistema nervioso central y periférico (Keifer & Mahurin 1997), la carcinogenicidad con incremento en la frecuencia de leucemia, linfoma tipo No-Hodgkin, mieloma múltiple, sarcoma de tejido blando y cáncer de la piel, labio, estómago, cerebro y próstata (Blair *et al.*, 1995; Zahm *et al* 1997) y desórdenes reproductivos y del desarrollo humano temprano (Sever *et al.*, 1997).

Los carbamatos (C) han sido usados como insecticidas, herbicidas y fungicidas y son de uso agrícola, veterinario y domisanitario. En general, son plaguicidas no bioacumulables que desaparecen rápidamente por hidrólisis y fotodegradación. Su absorción, metabolismo y mecanismo de acción es similar al de los plaguicidas organofosforados, pero la gran diferencia con estos, es que los carbamatos producen inhibición reversible de la acetilcolinesterasa (Pastor, 2002).

Los plaguicidas son uno de los principales tóxicos que causan daños en peces; algunos de sus compuestos inducen hipoxia, afectan el metabolismo general del organismo en diferentes formas y grados; si los cambios son drásticos, pueden provocar la necrosis celular de un órgano y afectar su homeostasis. Por ejemplo, el efecto del insecticida DDT en los peces, es su acumulación en el tejido graso, en el sistema nervioso y en el intestino, donde las exposiciones crónicas afectan la absorción de varios nutrientes esenciales como los electrolitos y los aminoácidos (Weis & Weis, 1987). Los organofosforados (mg/l ó ppm) producen tres veces mayor toxicidad aguda en peces que los compuestos organoclorados (ug/l ó ppb). Los herbicidas son menos tóxicos para los peces que los insecticidas, sin embargo, pueden tener un efecto indirecto, cuando se aplican para controlar hierbas acuáticas. En este caso incrementan significativamente la cantidad de materia vegetal muerta en el cuerpo de agua, cuya putrefacción consume grandes cantidades de oxígeno disuelto, produciendo ambientes hipóxicos (OPS, 1987).

Algunos estudios internacionales han demostrado la presencia de residuos OCl, endosulfan, arsénico y selenio en el pez gato *Tachysurus thalassinus*, en el bagre de agua dulce *Clarias batrachus*, en la carpa común (*Cyprinus carpio*), en el boca

dorada (*Micropterus salmoides*), en el cíclido *Aequidens portalegrensis* y en salmones Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*), cuyos efectos se relacionan con el declive en la eficiencia del metabolismo de la energía aeróbica en la musculatura, congestión branquial y edema, hemorragias y telangiectasia, hígado con necrosis y degeneración vacuolar; lesiones que desaparecen después de exponer a los peces a un ambiente sano. A su vez, se han detectado índices gonadosomáticos relativamente bajos, concentraciones elevadas de vitelogenina en machos y grandes porcentajes de huevos atrésicos, algún grado de lordosis y anormalidad mio-esquelética, sin respuesta a estímulos, natación anormal y descenso en las concentraciones de ATP y de fosfocreatina en ovas embrionadas y disminución en la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE) y de la butirilcolinesterasa (BuChE) (Sunderam, et al., 1992; Jonsson & Toledo, 1993; Das *et al.*, 2002; Mishra & Shukla, 2003; Domitrovic (s.f.); Schmitta *et al.*, 2005; Yan *et al.*, 2006; Viant *et al.*, 2006; Abdel-Halim *et al.*, 2006).

En Colombia, son pocos los estudios sobre el efecto de los plaguicidas en peces, González *et al* (2007), evaluaron el efecto del Glifosato en tilapia roja, yamú y bocachico, observándose una disminución de la actividad colinesterasa cuando los peces son sometidos a diferentes exposiciones de este plaguicida. Ochoa y González (2007) documentaron el estrés oxidativo en juveniles de cachama expuestos a condiciones subletales de glifosato. Un trabajo similar, pero realizando un estudio anatomopatológico se desarrolló en la misma especie por Eslava *et al* (2007).

La exposición de seres humanos a plaguicidas, se conoce como causa de morbilidad y mortalidad, por ejemplo, en el departamento de Antioquia, entre 1998 y 2001 se presentaron 463 muertes por intoxicaciones agudas por diversas sustancias, incluidos los plaguicidas inhibidores de la colinesterasa, que explicaban la casi totalidad, el 20% debido a exposición laboral; entre 2000 y 2002 los casos aumentaron en 70% (la incidencia pasó de 2,8 a 3,9 por cien mil habitantes) (Carmona, 2006); sin embargo, no se conoce cual puede ser el aporte a las cifras de morbilidad de la ingesta de alimentos contaminados con plaguicidas.

Con el objeto de dilucidar el estatus de los contaminantes químicos sobre peces y crustáceos que consumen los humanos, en la región de Calcuta (India), Sankar *et al* (2006), colectaron muestras de peces de diferentes lugares, evaluando los residuos de pesticidas organoclorados (OCl) y metales pesados. Las mayores concentraciones de OCl se encontraron en su orden en peces marinos, estuarinos y de agua dulce para consumo. El BHC y el heptacloro epóxido fueron los principales compuestos en los peces marinos, en tanto que los BHCs presentaron las mayores concentraciones en los peces estuarinos y de agua dulce. Concentraciones de Cu, Zn, Mn y Cr se presentaron indistintamente de su lugar de colección y cerca del 22% de las muestras de las áreas de agua dulce contenían Pb por encima del límite legal permitido. El mercurio se detectó en el 55% de las muestras provenientes de hábitats marinos. Las concentraciones de OCl y metales pesados en general, se encontraron por debajo del máximo nivel residual recomendado por varias organizaciones.

Por su parte, Tsukinoa *et al* (2006) evaluaron los niveles en suero de compuestos organoclorados (OCl) entre mujeres japonesas en edad reproductiva e investigaron si los factores de la forma de vida, especialmente factores dietéticos, se podían asociar a estos niveles. Se realizó un estudio en 80 mujeres japonesas infértiles (26 y 43 años) a las cuales se les confirmó la ausencia de endometriosis. Se midieron los niveles de suero de equivalencia tóxica total (TEQ). Los niveles totales de TEQ, PCDDs/PCDFs/cPCBs, PCBs y plaguicidas estuvieron asociados positivamente con la edad y con la frecuencia en el consumo de peces. El estudio sugirió que las mujeres japonesas que consumen pescado con frecuencia en su período reproductivo tienden a acumular los OCl en sus cuerpos.

Por su parte, el río Bogotá nace al nororiente de Cundinamarca en el Páramo de Guacheneque municipio de Villapinzón, a 3300 m.s.n.m. y desemboca en Girardot en el río Magdalena a 280 m.s.n.m. En la cuenca del río habita cerca del 20% de la población del país y se genera el 28% de la actividad socioeconómica nacional. El río drena las aguas de una cuenca de 6000 Km² y de 40 municipios y recibe de los municipios 25.185 toneladas/año de carga orgánica y 149.633 toneladas de Bogotá. La floricultura constituye un importante renglón en la economía de la

región, toda vez que el mayor porcentaje del área cultivada del país -70%- se encuentra en el Departamento de Cundinamarca y muy especialmente en la Sabana de Bogotá (Zárate et al., 1997). Las consecuencias que se pueden desprender de esta actividad se reflejan en el río y la grave catástrofe ecológica que padece, pues la floricultura hace parte del 28% de la actividad socioeconómica generada sobre su cuenca (CAR, 1998).

Uno de los recursos más afectados por las actividades económicas alrededor del río Bogotá, es la fauna que ha desaparecido de la mayor parte del río. En el pasado, el curso alto del río y sus afluentes era rico en especies autóctonas como el capitanejo (*Pygidium bogotensis*), el capitán de la sabana (*Eremophylus mutisií*), la guapucha (*Grundulus bogotensis*) y el cangrejo sabanero (*Hypolobocera neostrangeria macropora*). Estas especies desaparecieron a partir del curso bajo de la desembocadura de los ríos Negro, Frío, Chicú, Balsillas, Juan Amarillo, Fucha, Tunjuelo y Soacha. El pez capitán se mantiene hoy en los sectores altos y tormentosos del río Bogotá y sus tributarios libres de contaminación y en los embalses del Sisga, Tominé, Neusa y algunas lagunas naturales tales como Siecha, Guatavita y Chisacá, entre otras. La especie es muy valorada en la rivera del río y se pesca con frecuencia para el consumo de los pobladores de estas zonas. Los campesinos lo pescan tradicionalmente para luego venderlo en los mercados de la zona, obteniendo ganancias razonables. La captura se desarrolla sin ningún control por parte de las entidades gubernamentales y no hay procesos de capacitación para efectuar pescas controladas que verifiquen su calidad y aseguren la permanencia de la especie.

3. OBJETIVOS

3.1. General

Determinar los efectos en la salud de habitantes de Suesca y en el pez capitán debidos a la exposición por plaguicidas vertidos en la cuenca alta del río Bogotá.

3.2. Específicos

- Establecer los niveles de plaguicidas organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos y organoclorados en muestras de agua y en músculo de pez “capitán de la sabana” del río Bogotá tomadas en Suesca.

- Determinar los biomarcadores de exposición y efecto de plaguicidas organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos y organoclorados en la población habitante de Suesca.
- Establecer la exposición ocupacional a plaguicidas en la población de Suesca, el conocimiento y utilización de medidas de protección personal en su actividad laboral.
- Evaluar la actividad acetilcolinesterasa en pez capitán y utilizarlo como biomarcador para la contaminación acuática.
- Describir los cambios morfológicos en branquias, cerebro, gónadas, hígado y músculo y en células sanguíneas del pez capitán.

4. METODOLOGÍA

4.1. TIPO DE ESTUDIO

Se plantea realizar un estudio descriptivo transversal.

4.2. ÁREA DE ESTUDIO

Municipio de Suesca, situado en el departamento de Cundinamarca, en la cuenca alta del río Bogotá. Esta cuenca se ubica al norte de Bogotá (longitud de 170 km) y abastece de agua para consumo doméstico y uso agrícola a 18 municipios de la zona y a una buena parte de Bogotá y cuenta con 3 embalses que regulan el flujo del río. A esta cuenca la contaminan los vertimientos de 190 curtiembres, mataderos, industrias, cultivos, aguas negras y cabeceras municipales. Comprende los municipios de Villapinzón, Chocontá y Suesca. Su temperatura media presenta valores entre los 9°C y 14°C anuales. La humedad relativa promedio presenta valores entre el 76.5% y 82.5%. La zona muestra dos períodos de precipitación correspondientes a los meses de abril a mayo y agosto a septiembre. La precipitación se encuentra en un rango que varía entre los 745 y 1941 mm/año (Alarcón *et al.*, 2005).

4.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

4.3.1. Tamaño de la muestra

Humanos

La población muestra estará constituida por 114 individuos pertenecientes a la zona de Suesca. Se utilizó una prevalencia esperada del 50% con un nivel de confianza del 95%, un poder del 80% y un porcentaje de pérdidas del 20%, teniendo en cuenta que la población total del municipio de Suesca es de 10.410 habitantes (7474 del área rural y 2936 del área urbana).

Tamaño poblacional: 10.410

Prevalencia esperada: 50%

Peor resultado esperado: 40%

Nivel de confianza: 95%

Tamaño muestra: 95

Porcentaje de pérdidas: 20%.

Total tamaño poblacional: 114

Peces

Mensualmente se tomarán 5 peces provenientes de la zona de estudio. Para comparar, se capturarán un total de 10 capitanes provenientes de una zona libre de contaminación por plaguicidas.

Agua

Se coleccionará mensualmente un litro de agua en frascos estériles, los cuales permanecerán refrigerados (4°C), hasta su análisis en laboratorio.

4.3.2. Selección de la muestra en humanos

Criterios de inclusión

Entrarán al estudio todos los individuos que hayan vivido al menos 5 años en el municipio de Suesca, que sean mayores de 18 años y que hayan aceptado voluntariamente participar en el estudio.

Criterios de exclusión

Serán los individuos que tengan menos de 5 años de residencia en el municipio de Suesca, sean menores de 18 años y los que no acepten participar.

4.4. VARIABLES

Población ribereña

- Sociodemográficas: edad, sexo, escolaridad, afiliación al SGSSS.
- Ocupacionales: tipo de oficio, tiempo de exposición en el oficio, capacitación recibida en uso y manejo de plaguicidas, utilización de elementos de protección personal, medidas de higiene y seguridad industrial, exposiciones extralaborales, tiempo de trabajo en el sector agrícola, hábitos en el trabajo y exposición a otros tóxicos ambientales.
- Clínicas: signos y síntomas compatibles con intoxicación con plaguicidas OF, C, OCl y ditiocarbamatos.
- Toxicológicas: condición de fumador y consumo de alcohol.
- Hábitos alimenticios: Frecuencia de consumo de pez capitán de la sabana, cangrejo, frutas, verduras, tubérculos.
- Biomarcadores de exposición y efecto: niveles de acetilcolinesterasa en sangre, niveles de organoclorados en suero, niveles de ditiocarbamatos en orina.

Peces

- Características biométricas y sexo: peso y longitud, identificación sexual.
- Determinación de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa.
- Morfología externa e interna.
- Morfología de células sanguíneas.

Agua

- Análisis fisicoquímico.
- Niveles de organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos y organoclorados.

4.5. TECNICA DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN Y MUESTRAS EN HUMANOS

4.5.1. Encuesta sociodemográfica y laboral

El registro de la encuesta sociodemográfica y laboral (Anexo No.1) estará a cargo de profesionales del área de la salud quienes la aplicarán de manera individual a cada uno de los individuos seleccionados en la muestra. Se elaborará un instructivo como guía para el adecuado diligenciamiento, realizándole los ajustes necesarios después de llevar a cabo el estudio piloto. Antes de iniciar la fase de recolección de

la información se ofrecerá una inducción a los profesionales encargados de realizarla para garantizar la aplicación uniforme de la misma.

4.5.2. Toma de muestras de sangre

A cada individuo seleccionado se le tomará una muestra de 10 ml de sangre de los cuales 2 ml se colocarán en tubos con heparina. Los 8 ml de sangre restantes se recolectarán sin anticoagulante en tubos de vidrio duro tipo *pyrex* o similar. Las muestras serán centrifugadas y los sueros separados se trasvasarán a un tubo *pyrex* o similar cuya boca se cubrirá con papel de aluminio.

4.5.3. Toma de muestras de orina

A cada individuo seleccionado se le tomará una muestra de orina de una micción (aproximadamente 50 ml) en frascos de polipropileno con tapa rosca.

La recolección y rotulada de todas las muestras biológicas estará a cargo de profesionales (médicos/microbiólogas). Para la toma de muestras biológicas cada paciente será codificado con el número correspondiente a la encuesta laboral. Una vez lleguen las muestras a los laboratorios, serán recodificadas para minimizar el sesgo del analista, por una persona distinta a éste y al investigador.

4.6. TOMA DE MUESTRAS DE AGUA

Se tomarán muestras de agua en botellas de un litro de vidrio ámbar, previamente lavadas y enjuagadas con agua destilada y etanol. Se mantendrán refrigeradas a 4° C. La toma se realizará por inmersión del frasco el cual se rotulará anotando el sitio de muestreo, punto de muestreo, hora y fecha. En la boca del frasco quedará un sello de teflón o una lámina de papel de aluminio.

Además de estudiar la concentración de plaguicidas en agua, también se estudiará el grado de acidez o alcalinidad (pH) mediante potenciometría, la concentración de nitritos (NO₂) (mg/l) mediante diazotización y la alcalinidad y dureza (CaCO₃)(mg/l) por medio del Kit de Hach SF1 para análisis de calidad de aguas

4.7. TOMA DE MUESTRAS DE PECES

Los capitanes serán pescados con anzuelo en las horas de la mañana, estabulados en tanques de 50 litros de capacidad, adecuadamente marcados y separados con agua proveniente del mismo medio de donde fueron extraídos. Las muestras se transportarán al laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional. Los capitanes serán depositados en acuarios separados por zona de muestreo hasta que se proceda a su análisis. Con el fin de cumplir las normas internacionales de manejo de especies en el laboratorio, cada animal será sometido a una sobredosis de anestésico (tricaíno-metil-sulfonato, MS 222) durante 2 - 3 minutos. Durante ese tiempo los animales serán pesados, medidos y sexados. Al cabo de 3 minutos se procederá a su sacrificio mediante el corte de la base entre la cabeza y la columna vertebral, luego de lo cual se diseccionarán y se tomarán muestras de branquias, cerebro, gónadas, hígado y músculo, los cuales se dividirán en dos partes para ser procesados para el estudio de plaguicidas en el Instituto Nacional de Salud y para el análisis histológico por parte de la fundación Al Verde Vivo.

4.8. TECNICAS ANALÍTICAS DE LABORATORIO

4.8.1. Determinación de la enzima acetilcolinesterasa en sangre humana

Se realizará la determinación de la actividad de la colinesterasa como biomarcador de efecto. Se utilizará la técnica cuantitativa de Michel & Aldrige para la determinación de la actividad de la acetilcolinesterasa en glóbulos rojos y plasma. Esta técnica se basa en la medida del ácido acético producido por la acción de la acetilcolinesterasa sobre la acetilcolina. La cantidad de ácido es medida en términos de cambio de pH producido por la actividad enzimática en una solución tampón estándar en un período de tiempo definido (Michel, 1949). Esta técnica será empleada por el laboratorio de Salud Ambiental del INS (Anexo No. 2).

Determinación de la enzima acetilcolinesterasa mediante la técnica de Michel:

DETERMINACIONES	SEXO	RANGO (ΔpH/hora)	PROMEDIO (ΔpH/hora)
Eritrocitos	Hombres	0.58 - 0.95	0.766
	Mujeres	0.56 - 0.94	0.750
Plasma	Hombres	0.52 - 1.39	0.953
	Mujeres	0.38 - 1.25	0.817

4.8.2. Determinación de los niveles de plaguicidas organoclorados en suero humano

Se efectuará a través de la extracción en fase sólida y cromatografía de gases de alta resolución con detector de captura de electrones (HRGC/ECD). El análisis se realizará por microextracción en fase sólida (SPME) en modo *headspace* (HS), la muestra se ubica en un vial de HS se sella con un *septum* de silicona y se calienta a 120°C durante 15 min. La jeringa de SPME se coloca en el HS del vial y se expone la fibra de PDMS (polidimetilsiloxano). (Anexo No.3). Se determinarán 18 plaguicidas: α -BHC, β -BHC, δ -BHC, HCB, heptacloro, heptacloro epóxido, -clordano, γ -clordano, oxiclordano, α -endosulfán, β -endosulfán, endosulfán sulfato, 2,4-DDT, 4,4-DDT, 4,4-DDE, 4,4-DDD, aldrín y dieldrín.

4.8.3. Determinación de los niveles de plaguicidas ditiocarbamatos en orina humana

Mediante cromatografía líquida (HPLC/UV), se analizarán los ditiocarbamatos en orina. Se determinará la etilentiourea (ETU) en orina por medio de extracción con solvente con posterior análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia con detección ultravioleta visible (Anexo No.4).

4.8.4. Determinación de los niveles de plaguicidas organofosforados, carbamatos, organoclorados y ditiocarbamatos en muestras de peces

A través de cromatografía de gases y cromatografía líquida se determinará la concentración de plaguicidas en musculatura de peces.

4.8.5. Determinación de la enzima acetilcolinesterasa en peces mediante la técnica de Ellman (1961)

Se tomarán muestras de cerebro y músculo que se conservarán a -80°C. Se determinará la proteína total de acuerdo con Lowry *et al.*, (1951) para expresar la actividad específica de la AChE. Esta enzima será evaluada a través de la hidrólisis de la acetilcolina a ácido acético y tiocolina por la acción de la AChE. Todos los valores de la AChE serán expresados como mmol/min/mg proteína.

4.8.6. Análisis histológico en peces

La histología de branquias, cerebro, gónadas, hígado y músculo del pez capitán se procesará mediante el método convencional. Muestras de 1 cm³ se deshidratarán en gradientes de etanol y se incluirán en parafina, después se cortarán con un micrótopo en cortes de 7 micras de espesor y se teñirán con Hematoxilina-Eosina (H-E) con el fin de ser analizadas al microscopio.

4.8.7. Frotis sanguíneo

Se ubica una gota de sangre del pez en un extremo de un portaobjetos limpio, se hace su extensión, se deja secar, luego de lo cual se fija con unas gotas de metanol. Posteriormente se tiñe con *Giemsa* y se procede a observar la morfología celular sanguínea.

4.8.8. Determinación de plaguicidas organoclorados y organofosforados en muestras de agua

Mediante cromatografía de gases con detector de captura de electrones y con detector de nitrógeno-fósforo utilizando extracción líquido-líquido continuo y extracción en fase sólida siguiendo los métodos EPA 507 y 508.

4.8.9. Determinación de carbamatos en muestras de agua

Se determinarán n-metilcarboximas, n-metilcarbamatos por inyección directa de la muestra de agua con derivatización post-columna utilizando cromatografía líquida de alta eficiencia y detector de fluorescencia (Métodos EPA 531.1 y 547).

4.8.10. Determinación de ditiocarbamatos en muestras de agua

El análisis de ditiocarbamatos y su metabolito la etilentiourea se realizará utilizando extracción con solventes y cromatografía líquida de alta eficiencia con detector ultravioleta visible (Método EPA 630).

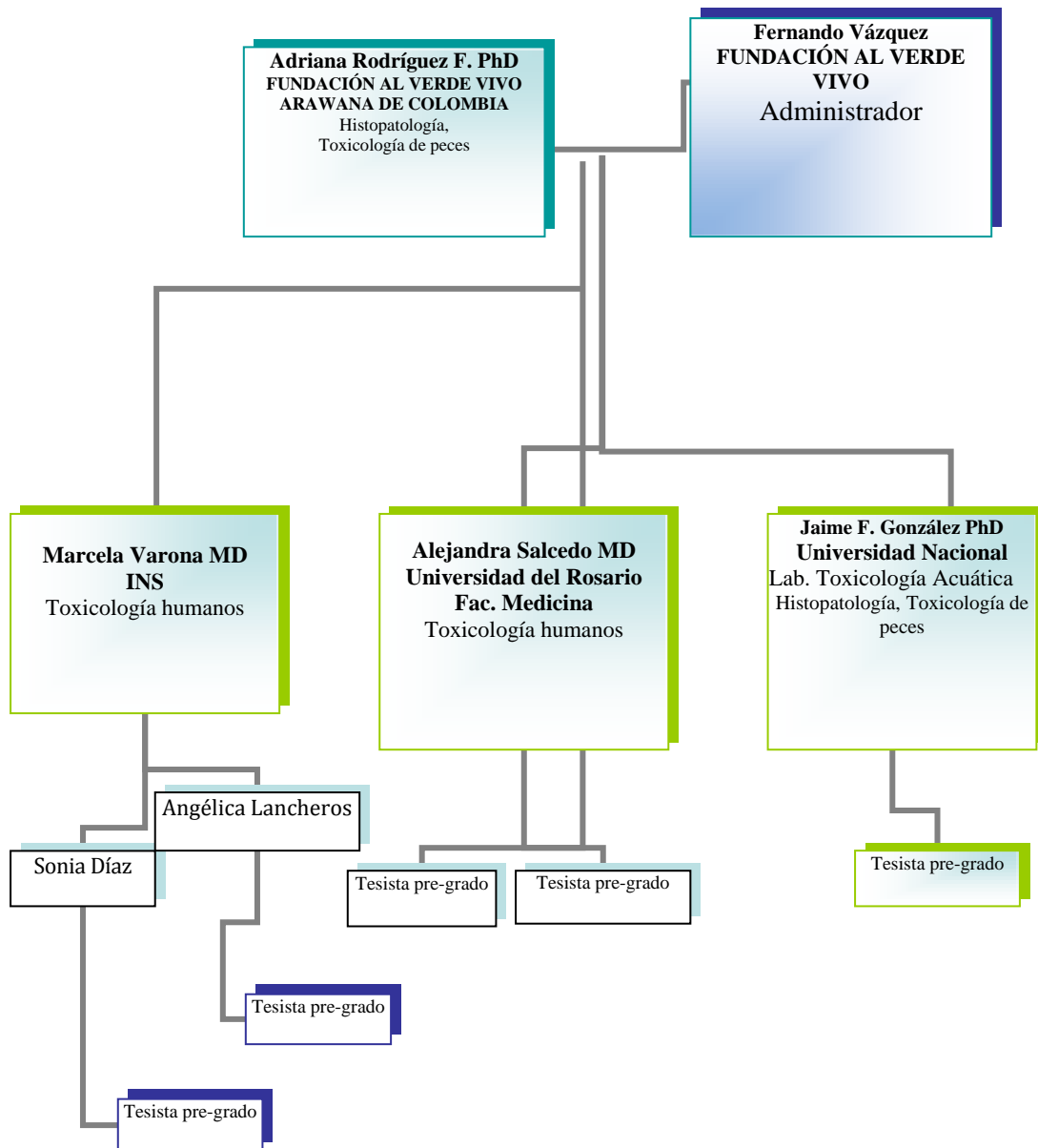
4.9. CONSIDERACIONES ETICAS

Teniendo en cuenta la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud que establece las normas académicas, técnicas y administrativas para la investigación

en salud, en el Título II Capítulo I Artículo 11 sobre los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, se clasifica esta investigación como de riesgo mínimo.

A cada individuo se le proporcionará una hoja de consentimiento (Anexo No.5) la cual deben firmar antes de contestar las preguntas de la encuesta individual y de la toma de muestras biológicas. Antes de iniciar la recolección de la información y de las muestras, se comunicará a los individuos los objetivos y el tipo de estudio que se llevará a cabo, su importancia y los beneficios que les traerá el participar, aclarándoles que se les entregarán los resultados de las pruebas paraclínicas. Los individuos que lo ameriten serán remitidos a la EPS o ARS correspondiente con el fin de definir la conducta médica a seguir, los que no cuenten con EPS tendrán un seguimiento a través de la Dirección Local de Salud de Suesca.

5. ORGANIGRAMA DEL GRUPO EJECUTOR



7. PRESUPUESTO

(Anexo No 7)

8. RESULTADOS ESPERADOS

DIRECTOS

Generación de nuevo conocimiento

El aporte de información que enriquece la caracterización de la problemática del uso de plaguicidas en la cuenca alta del río Bogotá.

El aprendizaje y establecimiento de una metodología de laboratorio compartida para el estudio de biomarcadores en humanos y animales de consumo, en este caso, peces.

El diagnóstico de la toxicidad por exposición a plaguicidas en las comunidades ícticas y humanas de la región.

El diagnóstico de la influencia de los hábitos alimenticios en la salud humana de la población que habita la región.

Fortalecimiento de la comunidad científica

El afianzamiento de los vínculos alrededor de la investigación por parte de los entes académicos, las instituciones oficiales y las organizaciones particulares que intentan intervenir en la problemática medio ambiental actual.

La difusión en la ciudadanía, la academia, las organizaciones y la comunidad científica de los hallazgos del estudio.

El establecimiento de cooperación e intercambio de información entre entidades nacionales (ONG's, institutos relacionados con el área de la salud y el medio ambiente y universidades).

INDIRECTOS

Ser una herramienta de formación de personal investigador dada la participación de estudiantes de pre-grado mediante la elaboración de 2 tesis de pre-grado.

Aportar a la producción científica nacional, mediante la difusión de los resultados obtenidos a través de la presentación a nivel nacional e internacional en eventos relacionados con la conservación del medio ambiente y la protección de la salud, así como también mediante publicaciones científicas.

Al ser el capitán de la sabana una especie muy apetecida en las áreas rurales del altiplano cundi-boyacense, pero a la vez, catalogada como vulnerable, se pretende llamar la atención sobre su adecuada explotación en los habitantes de la región.

Fortalecer la colaboración entre centros de investigación científica nacionales.

La creación de red de intercambio de información y asesoría telemática que permita el contacto e intercambio de información entre los investigadores del proyecto.

Divulgación de un video informativo sobre el estudio, enfatizando en la importancia biológica, cultural y ecológica del capitán de la sabana.

En definitiva, los resultados obtenidos permitirán:

- Emplear la evidencia del efecto de plaguicidas obtenida en el estudio, como factor de motivación, para que los sujetos participantes en él y quienes tengan acceso a esta información, se adhieran a un programa de control del vertimiento de plaguicidas en la cuenca alta del río Bogotá.

- Proveer una metodología de estudio para establecer el impacto de la contaminación de las aguas del río Bogotá en la salud pública, su repercusión en el funcionamiento social al reconocerlo como un generador de enfermedad y pérdida de años de vida saludables (AVISAs), que gravita con un exceso no necesario sobre los costos asistenciales directos del Sistema General de Seguridad Social en Salud.

- Motivar la acción de las autoridades sanitarias para que, basados en la evidencia aportada por el estudio, desarrollen o fortalezcan políticas, planes y programas de promoción de la adopción de medidas de control del uso abusivo de plaguicidas en la zona, el vertimiento de contaminantes al río Bogotá y el consumo y explotación del pez capitán de la sabana.

- Los datos obtenidos en el estudio permitirán a las autoridades sanitarias y a las entidades promotoras de salud recomendar medidas de higiene y adecuados hábitos alimenticios para los habitantes de la región.

- Proveer a los investigadores el fundamento para su continuación como grupo de investigación y su afianzamiento como red de colaboración interinstitucional.

10. USUARIOS POTENCIALES

Profesionales del área (investigadores, técnicos) a los que se les aportará el conocimiento científico y técnico del estudio realizado.

Empresarios relacionados con la agroindustria a los cuales se les presentarán los resultados obtenidos con el fin de mejorar sus procesos de cultivo y disminuir el impacto del efecto de los vertidos sobre el medio ambiente. A su vez, optimizarán los estándares de calidad fitosanitarias.

Comunidades de pescadores, a los que se les informará sobre el riesgo potencial del consumo y venta de productos provenientes de su actividad.

Organizaciones gubernamentales y no gubernamentales que trabajan en la conservación del medio ambiente y/o la protección de la salud humana y animal.

Comunidad en general quien conocerá los posibles efectos de la exposición a plaguicidas en su actividad laboral o en sus hábitos alimenticios.

11. ESTRATEGIAS DE COMUNICACIÓN

Un informe técnico, sobre los hallazgos obtenidos en este estudio.

Publicación de por lo menos dos artículos sobre el efecto de los plaguicidas en la zona de estudio, en revistas de circulación internacional indexadas o en las principales revistas nacionales.

Elaboración de un documental sobre el tema de estudio como estrategia de transferencia de información a la comunidad.

Presentación de los resultados en los eventos relacionados con el tema en el ámbito nacional e internacional.

Comunicación continua y discusión de los resultados con otros grupos de investigación interesados en el tema, como las universidades, fundaciones y asociaciones de floricultores, agricultores, industriales, etc.

12. IMPACTOS ESPERADOS

Impactos científicos y tecnológicos	Indicador verificable
Aumento del conocimiento del impacto de los plaguicidas sobre la cuenca alta del río Bogotá.	Demostración del efecto de los plaguicidas en los biomarcadores de exposición y efecto, o evidencia de daños en salud humana y animal.
Culminación de pre-gradados.	Elaboración de tesis de grado.
Consolidación de un grupo de investigación en salud ambiental referida al río Bogotá.	Reuniones de trabajo, difusión de resultados: artículos, cartillas, videos.
Fortalecimiento de la línea de investigación en salud humana y salud ambiental en las organizaciones participantes.	Incremento de los procesos de investigación de las Facultades de Medicina (U.Rosario), de Veterinaria (Toxicología Acuática, U.Nacional) y del Grupo Salud Ambiental (INS)
Colaboración entre centros de investigación científica nacional.	Red de intercambio.
Impactos sobre el medio ambiente y la sociedad	Indicador verificable
Mejor conocimiento del producto de la pesca por parte de los pescadores de la región.	Registro del estado de sanidad del capitán de la sabana.
Mejor conocimiento de las autoridades gubernamentales en relación con los impactos sobre la salud humana y animal del vertimiento de plaguicidas en la cuenca alta del río Bogotá.	Registro y atención de problemas relacionados con la exposición a los plaguicidas: salud, agricultura y medio ambiente.
Mejor utilización de los recursos naturales, hídricos, vegetales y animales en la región.	Adecuada explotación y preservación del capitán de la sabana. Adecuado manejo de plaguicidas y residuos tóxicos.
Difusión de la investigación.	Publicaciones en revistas nacionales e internacionales indexadas. Realización de un video educativo
Control del uso indiscriminado de plaguicidas en las prácticas agrícolas de la cuenca alta del río Bogotá.	Priorización de acciones encaminadas a la prevención de los impactos en salud, agricultura, medio ambiente, legales y económicos, como consecuencia del uso y manejo de sustancias tóxicas.
Enriquecimiento para la comunidad científica y para la sociedad.	Mejoramiento de la calidad de vida de los campesinos de la región. Adopción de medidas de protección personal y disminución de la exposición a sustancias tóxicas.
Preservación de la biodiversidad.	Disminución del impacto de la explotación de los recursos naturales de la zona.
Incremento del conocimiento y experiencia de la metodología de estudio de los efectos de los plaguicidas en poblaciones humana e íctica del altiplano cundi-boyacense.	Publicación de los hallazgos del grupo multidisciplinario de científicos y continuación de la participación en proyectos de investigación en el tema.

BIBLIOGRAFÍA

- EPA. Compilations of EPA's Sampling and analysis methods. 2nd Edition. Edited by Lawrens, Keith.
- Pastor, S. 2002. Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas, expuestas a plaguicidas, mediante el ensayo de micronúcleos. Tesis Doctoral. Facultat de Ciències. Departament de Genètica i de Microbiologia. Grup de Mutagènesi. Universitat Autònoma de Barcelona. España. 107 p.
- OMS Organización Mundial para la Salud. Guías para la calidad del Agua Potable. Volumen 1. Recomendaciones. Segunda Edición. Ginebra, 1995.
- Zárate, F.A., Carvallo, B., Londoño, J.L., Restrepo, H., J.I., Silva. 1997. Prevalencia de discromatopsia adquirida y exposición a plaguicidas y a radiación ultravioleta solar. Rev. Fac. Nac. Salud Pública 15(1): 69 – 93.
- Idrovo, A.J. intoxicaciones masivas con plaguicidas en Colombia. Biomédica 1999; 19: 67-76.
- EPA. Compilations of EPA's Sampling and analysis methods. 2nd Edition. Edited by Lawrens, Keith.
- Rodríguez, A., González, J.F., Suárez, R. 2006. Toxicidad por metales pesados en capitanes de la sabana provenientes de la cuenca alta del río Bogotá. Fundación Al Verde Vivo. Bogotá.
- Asocolflores. <http://www.asocolflores.org/site/new/informacion.html>.
- Olea, N., Molina, M.J., García-Martin, M. 1995. Modern agricultural practices: The human price. Comments Toxicology., 5: 447.
- Wolf, S. M. Toniolo, G. P. Lee, W.E., Rievera M. Dubin N. 1993. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. Journal of the National Cancer Institute, USA Vol. 85, No. 8
- Olivera, S., D. Rodríguez-Iturralde. 2002. Pesticidas, Salud y ambiente. Publicación especial. Laboratorio de Neurociencia Molecular (PEDECIBA) - Departamento de Neuromiología, Instituto Clemente Estable. Uruguay <http://iibce.edu.uy>
- Goldfrank, LR, Lewin, NA, Flomenbaum. 1986. Toxicologic emergencies. Edit. Appleton Century Crofts. USA
- Cassaret, L., Doull J. Toxicology, The basic science of poisons. Macmillan Publishing Co. Fourth edition. New York, USA 1991
- Eastmond, DA, Tucker, JD. 1989. Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochore antibody. Environ Mol. Mut.: 13: 34 - 43.
- Major, J., Jakab, M., Kiss, G., Tompa, A. 1994. Chromosome aberration, sister-chromatid exchange, proliferative rate index, and serum thiocyanate concentration in smokers exposed to low-dose benzene. Environ Mol. Mut. 23: 137-142.
- Gosselin, RE, Smith RP, Hodge, HC, Braddock, JE, Eds. 1984. Clinical Toxicology of Commercial Products, 5th ed., Williams & Wilkins, Baltimore MD.
- Aprea, C, Betta, A, Catenacci, G, Lotti A. et al. 1996. Reference values of urinary ethylenethiourea in four regions of Italy. Sci Total Environ, 192(1): 83-93
- Aprea C, Betta A, Catenacci G, Colli A et al. 1997. Urinary excretion of ethylenethiourea in five volunteers on a controlled diet. Sci Total Environ, 203(2): 167-179).
- Henao S, Corey G. 1991. Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas. Serie Vigilancia 11. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. México.
- Obiols, J. 2004. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. NPT 512: Plaguicidas organofosforados: aspectos generales y toxicocinética. Norma Técnica. Madrid, España: 1 – 10.
- Keifer MC, Mahurin RK. 1997. Chronic neurologic effects of pesticide overexposure. Occup Med, 12: 291-304.
- Blair, A, Zahm, SH. 1995. Agricultural exposures and cancer. Environ. Health Persp. Suppl., 103:205-8.

- Zahm, S.H., Ward, M.H., Blair, A. 1997. Pesticides and cancer. *Occup. Med.* 12:269-289.
- Sever, L.E., Arbuckle, T.E., Sweeney, A. 1997. Reproductive and developmental effects of occupational pesticide exposure: the epidemiologic evidence. *Occup. Med.*, 12: 305 - 25.
- Weis, J., Weis, P. 1987. Pollutants as developmental toxicants in aquatic organisms. *Environm. Health Persp.*, 71: 77 - 85.
- OPS, 1987. Informe de un grupo de estudio sobre estrategias de control de la enfermedad de Chagas. OPS.PNSP/87.03, Washington.
- Sunderam, R.I.M., Cheng, D.M.H. & Thompson, G.B. 1992. Toxicity of endosulfan to native and introduced fish in Australia. *Environmental Toxicology Chemistry*. 11: 1469 -1476.
- Jonsson, C.M. & Toledo, M.C.F. 1993. Bioaccumulation and elimination of endosulfan in the fish yellow tetra (*Hyphessobrycon bifasciatus*). *Bulletin Environmental Contaminantion Toxicology* 50: 572 - 577.
- Das, B., Sharif, Y., Khan, A., Das, P., Shaheen, S.M. 2002. Organochlorine pesticide residues in catfish, *Tachysurus thalassinus* (Ruppell, 1835), from the South Patches of the Bay of Bengal. *Environmental Pollution* 120: 255 - 259.
- Mishra, R., & Shukla, S.P. 2003. Endosulfan effects on muscle malate dehydrogenase of the freshwater catfish *Clarias batrachus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56: 425 - 433.
- Domitrovic, H. A. s.f. Toxicidad y respuesta histopatológica en *Aequidens portalegrensis* (Pisces, Cichlidae) expuestos a Endosulfan en ensayos de toxicidad aguda y en ensayos subletales. Instituto de Ictiología del Nordeste, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE) Sargento Cabral 2139 - C.C. 180 - (3400). Corrientes, Argentina. 4p.
- Schmitta, C.J., Hincka, J.E., Blazerb, V.S., Denslowc, N.D., Dethloff, G.M., Bartishe, T.M., Coylee, J.J., Tillitta, D.E. 2005. Environmental contaminants and biomarker responses in fish from the Rio Grande and its U.S. tributaries: Spatial and temporal trends. *Science of the Total Environment* 350: 161 - 193.
- Yan, D., Jiang, X., Yu, G., Zhao, Z., Bian, Y., Wang, F. 2006. Quantitative structure–toxicity relationships of organophosphorous pesticides to fish (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere* 63: 744 - 750.
- Viant, M.R., Pincetich, C.A., Tjeerdema, R.S. 2006. Metabolic effects of dinoseb, diazinon and esfenvalerate in eyed eggs and alevins of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) determined by ¹H NMR metabolomics. *Aquatic Toxicology* 77: 359 - 371
- Abdel-Halim, K.Y., Salama, A.K., El-khateeb, E.N., Bakry, N.M. 2006. Organophosphorus pollutants (OPP) in aquatic environment at Damietta Governorate, Egypt: Implications for monitoring and biomarker responses. *Chemosphere* 63: 1491 - 1498.
- González, J.F., Ochoa, D.M., Figueredo, D, González, C.A. 2007. Efectos tóxicos del Roundup ® (Glifosato), en tilapia roja (*Oreochromis sp.*), yamú (*Brycon amazonicus*) y bocachico (*Prochilodus magdalenae*). *Rev. Med. Vet. Zoot.* 54: 67 -250.
- Ochoa, D.M., González, J.F. 2007. Actividad colinesterasa cerebral, muscular, hepática y plasmática en juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*): efecto inhibitorio del clorpirifós (Lorsban 4EC). *Rev. Med. Vet. Zoot.* 54: 67 -250.
- Eslava, P., Ramírez, W.F. Rondón, I.S. 2007. Evaluación anatomopatológica de los efectos tóxicos agudos del Roundup ® en juveniles de cachama blanca. En: Sobre los efectos del glifosato y sus mezclas: impacto en peces nativos. Unillamos-IIOC. 59-72.
- Carmona, J. 2006. Correlation and interconversion between erythrocyte cholinesterase values obtained by the Michel and the EQM® techniques. *Biomédica*, dez.26(4):546-555.
- Sankar, T.V., Zynudheen, A.A., Anandan, R., Viswanathan, P.G. 2006. Distribution of organochlorine pesticides and heavy metal residues in fish and shellfish from Calicut region, Kerala, India. *Chemosphere* (article in press).
- Tsukino, H., Hanaoka, T., Sasakib, H., Motoyamab, H., Hiroshimab, M., Tanakab, T., Kabutoc, M., Turner, W., Patterson Jr., D.G., Needham, L., Tsuganea, S. 2006. Fish

intake and serum levels of organochlorines among Japanese women. *Science of the Total Environment* 359: 90 - 100.

- Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca (CAR). 1998. Cuenca Alta del Río Bogotá. Descripción y diagnóstico.

Anexo No. 2

MÉTODO ELECTROMÉTRICO DE MICHEL

Se basa en la medida del ácido acético producido por la acción de la acetilcolinesterasa sobre la acetilcolina. La cantidad de ácido es medida en términos de cambio de pH producido por la actividad enzimática en una solución tampón estándar en un período de tiempo definido. El pH es medido con un microelectrodo de vidrio.

Dentro de las ventajas de este método se encuentra su simplicidad de ejecución, el requerimiento de equipo es mínimo y la posibilidad de realizar un número grande de determinaciones en un tiempo relativamente corto. La lectura del pH puede hacerse fácilmente en un tiempo de un minuto por cada muestra. Por lo tanto es posible hacer una serie grande de determinaciones en pocas horas agregando el sustrato a las muestras en intervalos de un minuto.

Procedimiento

Calibrar el medidor de pH, con soluciones tampón de diferentes pH, si al verificar el pH de las soluciones están por encima ajustar a 8.0 para plasma y a 8.1 para eritrocitos con HCl 0.1N.

Pasos para eritrocitos

- Medir 20 μ L de eritrocitos, colocarlos en un tubo de ensayo o de centrifuga graduado que contenga 1.0 ml de solución de NaCl 0.9%, agitar suavemente.
- Centrifugar a 2.000 rpm durante 10 minutos para lavar los eritrocitos.
- Aspirar y descartar con una pipeta de transferencia la solución sobrenadante, dejando 0.2 ml en el tubo.
- Agregar 1.0 ml de solución de saponina 0.01%, agitar suavemente para hemolizar los eritrocitos.
- Agregar 1.0 ml de solución tampón para eritrocitos y agitar para estabilizar el pH.
- Dejar en reposo 10 minutos aproximadamente
- Agitar, medir el pH₁ (inicial) y anotarlo. Si mide por debajo de 7.97 descartar la prueba empezar de nuevo.
- Agregar 0.2 ml de sustrato de acetilcolina para eritrocitos, agitar suavemente y registrar el tiempo.
- Dejar en reposo para que se produzca la hidrólisis enzimática durante 60 a 90 minutos a 25°C.
- Medir el pH₂ al final de la reacción y registrar el tiempo exacto.

Pasos para Plasma

- Medir 20 μ L de plasma, colocarlos en un tubo de ensayo o vaso de precipitado de 5 ml que contenga 1.0 ml de agua destilada y agitar suavemente.
- Agregar 1.0 ml de solución tampón para plasma y agitar suavemente.

- Dejar en reposo 10 minutos aproximadamente, agitar medir el pH₁ (inicial) y registrarlo. Valores de pH por debajo de 7.97 descartar la prueba empezar de nuevo.
- Agregar 0.2 ml de sustrato de acetilcolina para plasma, agitar suavemente y registrar el tiempo como T₁
- Dejar en reposo para que se produzca la hidrólisis enzimática durante 60 a 90 minutos a 25 °C.
- Agitar, medir el pH₂ al final de la reacción y registrar el tiempo exacto.

Anexo No. 3

DETERMINACION DE ORGANOCOLORADOS EN SUERO

Análisis cromatográfico. Se realiza en un cromatógrafo de gases HP 5890 Series II, con detector de captura de electrones (ECD, ^{63}Ni), con puerto de inyección split/splitless y un sistema de datos HP ChemStation HP Rev. A.06.03 [509]. Se utiliza una columna HP-5, 30 m x 0.32 mm (di.) x 0.25 μm 5% fenil-poli(metilsiloxano). Las temperaturas del inyector y del detector permanecieron a 250 y 300°C respectivamente, la programación de temperatura de la columna fue así: 105°C hasta 205°C (2 min) a 5°C/min, luego a 3°C/min hasta 215°C (2 min), posteriormente a 5°C/min hasta 280°C (5 min). Como gas de arrastre se utilizó helio (99.995%, Aga-Fano S.A.) en modo splitlessy como gas auxiliar argón/metano (95:5) a una velocidad de flujo de 20 mL/min.

Nivel mínimo de detección. Se determina diluyendo e inyectando, una muestra patrón de 1 ppm preparada a partir de una solución "stock" de 40 ppm de los POC, hasta obtener un área cromatográfica tres veces superior al nivel del ruido.

Curva de calibración. A partir de cada uno de los estándares de POC se prepara una solución patrón individual, pesando una cantidad exacta entre 1.2 y 1.9 mg y aforando a 100 ml con isooctano, hexano, metanol acetona y/o mezclas de solventes, teniendo en cuenta la solubilidad del plaguicida.

Se emplea el método de estandarización externa, usando balones aforados de 1 mL para preparar soluciones de trabajo en el rango de concentraciones de 5 a 800 ppb, partiendo de una solución "stock" de 1 ppm, preparada a partir de las soluciones patrón de cada uno de los POC. 1 μL de cada una de las soluciones de trabajo se inyecta al cromatógrafo de gases de alta resolución con detector de captura de electrones (HRGC/ECD).

Extracción en Fase Sólida utilizando discos C_{18} : El acondicionamiento del disco se lleva a cabo agregando 4 mL de metanol y 4 mL de agua HPLC permitiendo que corra por el disco sin que este se seque. Luego la muestra se prepara de la siguiente forma: 2 mL de suero se diluyeron con 2 mL de agua HPLC y 4 mL de metanol, se agitó durante 2 min a 2000 rpm y se expuso la mezcla durante 10 min a frecuencias ultrasónicas sin calentamiento. Esta mezcla se paso por el disco de extracción en fase sólida y se prosiguió al lavado con 4 mL de agua HPLC por dos veces. A continuación se llevó a cabo la elución de los analitos con 5 mL de hexano y se concentró a 1 mL bajo flujo de nitrógeno. Por último 1 μL del extracto se inyectó en el sistema HRGC/ECD.

Anexo No. 4

DETERMINACION DE DITIOCARBAMATOS EN ORINA

Análisis cromatográfico. Se realiza en un cromatógrafo líquido de alta eficiencia con detector de ultravioleta visible a 243 nm. Con una columna RP8 de 5 µm; utilizando una fase móvil de hexano/alcohol isopropílico/ alcohol etílico (93:6:1 v/v) adicionando 0.6 mL/L de butilamina.

Nivel mínimo de detección. Se determina diluyendo e inyectando, una muestra patrón de 1 ppm preparada a partir de una solución "stock" de 100 ppm de los analitos, hasta obtener un área cromatográfica tres veces superior al nivel del ruido.

Curva de calibración. A partir de cada uno de los estándares se prepara una solución patrón individual. Se emplea el método de estandarización externa, usando balones aforados de 1 mL para preparar soluciones de trabajo en el rango de concentraciones de 5 a 800 ppb, partiendo de una solución "stock" de 1 ppm, preparada a partir de las soluciones patrón de cada uno de los analitos. 5 L de cada una de las soluciones de trabajo se inyecta al cromatógrafo líquido de alta eficiencia con detector UV.

Extracción Líquido Líquido: La extracción de los analitos de la matriz se realiza utilizando como solvente de extracción diclorometano mediante una partición líquido líquido convencional.

ANEXO No. 5



Universidad del
Rosario



HOJA DE CONSENTIMIENTO

La Universidad del Rosario, el Instituto Nacional de Salud, la Fundación Al Verde Vivo y la Universidad Nacional de Colombia llevarán a cabo una investigación para determinar los niveles de diversos contaminantes en la población de Suesca afectada por la contaminación del río Bogotá.

Por este motivo necesitamos toda su colaboración y sinceridad para contestar la encuesta que realizaremos, y para suministrarnos una muestra de sangre de 10 mL y una de orina (50 mL) por una única vez con el fin de medir algunos plaguicidas como organofosforados, carbamatos, organoclorados y ditiocarbamatos. La muestra de sangre no representará ningún riesgo para usted ya que los materiales utilizados son estériles, sin embargo, puede haber una pequeña molestia al obtener esta muestra. La realización de estas pruebas de laboratorio no tendrá costo económico para usted y los resultados se entregarán personalmente una vez sean analizadas las muestras. La información recolectada es confidencial y será manejada únicamente por el grupo de investigadores.

El estudio tendrá una duración de 1 año. Los individuos podrán retirarse del mismo en el momento que lo deseen. El beneficio que traerá el participar en éste estudio es el poder contar con los resultados de las pruebas realizadas las cuales indicarán el nivel de exposición a plaguicidas organofosforados, carbamatos, organoclorados y ditiocarbamatos y servirán para tomar acciones correctivas o de prevención. Los individuos que lo ameriten serán remitidos a la EPS o ARS correspondiente con el fin de definir la conducta médica a seguir; los que no cuenten con EPS tendrán un seguimiento a través de la Dirección Local de Salud de Suesca.

Por lo tanto, yo _____ con cédula de ciudadanía número _____ de _____ acepto participar voluntariamente en este estudio y cooperaré respondiendo las preguntas de la encuesta que se aplicará y dando 10 mL de sangre y una muestra de orina de una micción, necesarios para los análisis correspondientes. Así mismo declaro que he tenido oportunidad de preguntar y que las inquietudes que he tenido me han sido resueltas.

Firma: _____ CC No. _____

Testigos

Nombre: _____ Nombre: _____

CC No. _____ CC No. _____

Dirección: _____ Dirección: _____

Teléfono: _____ Teléfono: _____

Firma: _____ Firma: _____

Investigadores:

Alejandra Salcedo Marcela Varona Adriana Rodríguez Jaime F. González

____ de _____ de 2008.

Documento de Consentimiento Informado

PLAGUICIDAS EN EL RÍO BOGOTÁ: EFECTO EN EL PEZ CAPITÁN Y EN LA POBLACIÓN QUE LO CONSUME

Investigadores Responsables:

Alejandra Salcedo, Marcela Varona, Adriana Rodríguez y Jaime F. González

Estimado Señor/Señora:

La producción de cultivos agrícolas, como el de las flores, bajo el sistema intensivo que se practica en la Sabana de Bogotá, requiere la aplicación de grandes cantidades de plaguicidas para el control fitosanitario.

Las consecuencias que se pueden desprender de esta actividad se reflejan en el río Bogotá y la grave catástrofe ecológica que padece, pues la floricultura hace parte del 28% de la actividad socioeconómica generada sobre la cuenca del río.

Es el propósito de este estudio verificar la existencia de elevados niveles de plaguicidas (organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos y organoclorados) en las aguas de la cuenca alta del río Bogotá, determinar los biomarcadores de exposición y efecto de los plaguicidas mencionados en el pez “capitán de la sabana”, así como en la población que habita la zona y es consumidora del pez en su dieta.

Queremos invitarlos a participar voluntariamente en el estudio, pero se requerirá de la autorización libre e informada de cada uno de ustedes.

Este documento contiene la información necesaria para que usted pueda decidir si desea o no participar en el estudio, le pedimos que lo lea cuidadosamente y nos haga todas las consultas que estime conveniente antes de darnos su decisión.

A cada individuo se le solicitará una muestra de 10 ml de sangre y una muestra de orina (50 mL), en la cual se realizará la determinación de plaguicidas organofosforados, carbamatos, organoclorados y ditiocarbamatos.

Riesgos y beneficios del estudio

La toma de muestra de sangre y de orina no implica riesgo para la salud y se tomará una única vez. Se le entregarán los resultados a cada individuo con la explicación respectiva. Los individuos que lo ameriten serán remitidos a la EPS o ARS correspondiente con el fin de definir la conducta médica a seguir, los que no cuenten con EPS tendrán un seguimiento a través de la Dirección Local de Salud de Suesca.

Derecho de los participantes

La participación es completamente libre, voluntaria y gratuita. Si usted decide rechazar esta invitación a participar, ello no afectará la atención que usted recibe en las entidades de salud, ni perderá ninguno de los beneficios que le corresponde por Ley. Toda la información del estudio será guardada en forma confidencial y anónima. Sólo el personal a cargo del estudio y el Comité de Ética que lo supervisará podrá tener acceso a sus datos personales.

Personas que le pueden dar información adicional

Si usted desea hacer cualquier consulta sobre el estudio puede contactar a los siguientes investigadores:

Dra. Alejandra Salcedo	3474570 Ext.338 Bogotá
Dra. Marcela Varona	2207700 Ext.447 Bogotá
Dra. Adriana Rodríguez	6918398 Bogotá
Dr. Jaime Fernando González	3165524 Bogotá