

Heliodora Díaz Padrón

# TOXICOLOGÍA OCUPACIONAL



Heliodora Díaz Padrón

# **TOXICOLOGÍA OCUPACIONAL**

Heliodora Díaz Padrón

# TOXICOLOGÍA OCUPACIONAL



CIENCIAS MÉDICAS • TOXICOLOGÍA

La Habana • 2019

## Catalogación Editorial Ciencias Médicas

Toxicología ocupacional/ Heliodora Díaz Padrón... (et al.). –La Habana:  
Editorial Ciencias Médicas, 2019.  
195 p.: il., tab. – (Ciencias Médicas. Serie Toxicología)

-

-

Toxicología, Salud Laboral, Monitoreo del Ambiente /métodos, Monitoreo Epidemiológico,  
Vigilancia Sanitaria Ambiental, Sustancias, Productos y Materiales Tóxicos, Sustancias  
Tóxicas, Exposición Profesional, Toxicocinética, Toxicidad/métodos, Genotoxicidad ,  
Asunción de Riesgos

WA 400

Edición: Dra. Nancy Cheping Sánchez  
Diseño, Ilustración y Composición: DCV. Mariana Vila Acosta

© Heliodora Díaz Padrón, 2019  
© Sobre la presente edición:  
Editorial Ciencias Médicas, 2019

ISBN: 978-959-313-750-8  
ISBN: 978-959-313-751-5 (PDF)  
ISBN: 978-959-313-752-2 (Epub)

Editorial Ciencias Médicas  
Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas  
Calle 23 No. 654 e/ D y E, El Vedado  
La Habana, Cuba. C.P. 10400  
Teléfono: (53) 7836-1893  
Correo: [ecimed@infomed.sld.cu](mailto:ecimed@infomed.sld.cu)  
Sitio web: <http://www.ecimed.sld.cu/>

# **Autora Principal**

## **Heliadora Díaz Padrón**

Ingeniera Química. Máster en Ciencias de la Salud de los Trabajadores. Investigadora Auxiliar. Profesora Asistente.

# **Autoras**

## **Dalia Rojas Companioni**

Licenciada en Química. Especialista en Toxicología Ocupacional. Investigadora Auxiliar. Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores.

## **Arelis Jaime Novas**

Licenciada en Farmacia. Máster en Ciencias Químicas Farmacéutica. Especialista en Toxicología Ocupacional. Investigadora Auxiliar. Instructora. Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores.

## **Rita María González Chamorro**

Licenciada en Química. Máster en Ciencias Químicas. Especialista en Química Sanitaria Industrial. Investigadora Auxiliar. Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores.

## **María Esther Linares Fernández**

Máster en Ciencias de la Salud de los Trabajadores. Especialista de II Grado en Medicina del Trabajo. Investigadora Auxiliar. Profesora Auxiliar.

## **Gladys Rabelo Padua**

Máster en Ciencias de la Salud de los Trabajadores. Especialista de II Grado en Medicina del Trabajo. Investigadora Auxiliar. Profesora Auxiliar. Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores.

## **Iraisa Sánchez Pérez**

Máster en Ciencias de la Asteroesclerosis y sus riesgos. Especialista de II Grado de Fisiología. Profesora Auxiliar.

## **Regla Angulo Pardo**

Máster en Ciencias de la Salud Pública. Especialista en Medicina General Integral. Profesora Asistente.

# Presentación

Con el advenimiento de la Revolución Industrial, el desarrollo de las ciencias como química, bioquímica, física, farmacología y la industria apareció una cantidad no despreciable de nuevas sustancias de síntesis, las que de forma gradual han entrado en contacto no solo con el hombre en su medio laboral, sino también en su vida diaria. Estas sustancias no se encuentran exentas de riesgo para el ser humano, que en muchos casos no se conoce o no se han estudiado suficientemente.

Ante este desenfadado y exponencial aumento del número de sustancias químicas, aparecidas durante los últimos tiempos, la toxicología ha debido responder de manera adecuada y obligada a un importante desarrollo de sí misma, buscando nuevas técnicas para el estudio de las sustancias químicas y sus efectos sobre el organismo, lo que la ha llevado no solo a separarse de sus ciencias madres, definir su campo y delimitar sus fronteras, sino también a crear ramas de especialización como la toxicología clínica, toxicología industrial, toxicología prospectiva, ecotoxicología y analítica.

El estudio de la toxicología adquiere nueva dimensión para quienes se desempeñan en el campo de la Salud Ocupacional, debido entre otras razones a que el grupo humano al cual van destinadas las acciones de salud, dada su estrecha relación con sustancias tóxicas en el ambiente laboral que se desempeñan, constituye un grupo de elevado riesgo en cuanto a intoxicaciones se refiere.

La Toxicología Ocupacional se diferencia de las demás ramas de esta ciencia en que su perspectiva predominante es la prevención, involucra lo concerniente a la vigilancia epidemiológica de los trabajadores que se exponen constantemente a sustancias tóxicas en la pesquisa precoz de las poblaciones sobreexpuestas o con daño inicial, para ejercer acciones preventivas en el ámbito de la higiene industrial y médica que tienden a prevenir el potencial de daño a la salud de los trabajadores.

El objetivo de este texto es facilitar a todo el personal técnico y profesional de la Red de Higiene y Epidemiología las herramientas adecuadas, crear las bases esenciales para sustentar el desarrollo de la especialidad de Salud de los Trabajadores, con relación al monitoreo biológico que se requiere como complemento del Sistema de Vigilancia a la exposición de sustancias nocivas en el ambiente laboral.

# CONTENIDO

## Capítulo 1. Generalidades de la toxicología/ 1

- Definiciones/ 2
- Clasificación de las sustancias químicas/ 3
- Tipos de intoxicación/ 3
- Situación actual de la toxicología/ 4
- Toxicometría/ 7
  - Curvas dosis-efectos y dosis-respuesta/ 7
  - Parámetros toxicométricos/ 8
  - Factores que pueden modificar la toxicidad/ 9

## Capítulo 2. Toxicocinética/ 11

- Absorción/ 12
  - Vía respiratoria/ 12
  - Vía cutánea/ 14
  - Vía gastrointestinal/ 14
- Distribución, localización y acumulación/ 15
- Biotransformación/ 16
  - Reacciones microsómicas/ 16
  - Reacciones no microsómicas/ 17
  - Procesos metabólicos de conjugación/ 18
  - Conjugación con aminoácidos/ 20
  - Conjugación con el glutatión/ 20
- Eliminación/ 21

## Capítulo 3. Mecanismos de acción tóxica/ 22

- Afección de la función celular/ 22
- Toxicidad selectiva/ 23
- Procesos fisiopatológicos de origen tóxico/ 24
  - Irritación/ 24
  - Alteración de la respiración celular/ 24
  - Trastornos de la conducción nerviosa/ 25
  - Alteración de la función pulmonar/ 25
  - Alteraciones hepáticas/ 26
  - Alteraciones hemáticas/ 26
  - Alteraciones renales/ 26

#### **Capítulo 4. Factores que modifican la toxicidad/ 27**

- Tipos de efectos por acción combinada/ 28
- Evaluación cuantitativa del efecto por acción combinada/ 28
- Mecanismos que intervienen en la respuesta por acción combinada/ 29
  - Interacciones con el ambiente/ 29
  - Interacción biológica/ 29
  - Interacciones entre agentes químicos y físicos/ 30

#### **Capítulo 5. Aspectos generales de la mutagénesis, carcinogénesis, teratogénesis/ 33**

- Mecanismos de acción/ 34
- Métodos de detección de daños genéticos/ 34
  - Métodos de detección de daños genéticos en poblaciones con riesgo/ 35
- Importancia del monitoreo biológico en genotoxicología/ 37

#### **Capítulo 6. Aspectos generales de la inmunotoxicología/ 39**

- Efectos inmunotóxicos/ 39
- Datos y verificaciones experimentales más importantes de la inmunotoxicología. Estresantes inmunológicos/ 40
- Intoxicación medicamentosa/ 40
- Sustancias químicas con propiedades inmunotóxicas/ 41

#### **Capítulo 7. Monitoreo biológico/ 42**

- Monitoreo biológico de exposición/ 42
  - Biomarcadores/ 42
  - Medios biológicos de análisis/ 43

#### **Capítulo 8. Riesgo por exposición a metales, solventes y plaguicidas/ 47**

- Metales/ 48
- Plaguicidas/ 70
- Solventes/ 88
- Otras sustancias químicas/ 101
- Otros compuestos/ 105

#### **Capítulo 9. Aseguramiento de la calidad/ 106**

- Errores preanalíticos/ 106
- Errores analíticos/ 109
- Enfoque de sistema/ 110



## **Capítulo 10. Métodos de ensayo para el monitoreo biológico/ 111**

- Determinación de plomo en la sangre/ 112
- Determinación de plomo en la orina/ 115
- Determinación de mercurio en la orina/ 119
- Determinación de arsénico en la orina/ 122
- Determinación de cobre en el suero/ 125
- Determinación de manganeso en las heces fecales/ 128
- Determinación de protoporfirina libre en eritrocitos/ 131
- Determinación de ácido delta aminolevulínico en la orina/ 134
- Determinación de la actividad del ácido delta aminolevulínico dehidrasa en eritrocitos/ 137
- Determinación de la actividad de la enzima colinesterasa en sangre total/ 140
- Determinación de la actividad de la enzima colinesterasa en sangre total, plasma y eritrocitos/ 143
- Determinación de fenol en la orina/ 147
- Determinación de ácidos hipúricos totales en la orina/ 150
- Separación de ácido hipúrico y metilhipúrico por cromatografía de capa fina/ 153
- Determinación de hierro y capacidad total de fijación de hierro de la transferrina/ 156
- Preparación de soluciones/ 161
  - Preparación de soluciones según la técnica de análisis. Determinaciones/ 162

## **Bibliografía/ 185**

## Capítulo 1

---

# Generalidades de la toxicología

La historia de la toxicología se remonta a la época de la aparición del hombre sobre la tierra, donde este debió discriminar tempranamente qué alimentos de la naturaleza servían para nutrirlo y cuáles podían envenenarlo, de esta distinción dependía su vida. El hombre fue aprendiendo de la naturaleza y utilizó de ella tanto para los tratamientos con bases empíricas, como para agredir a otros. La historia recuerda que los proveedores de venenos distinguían aquellos de acción rápida, retardada y otros de acción acumulativa. Así aparecen los primeros modelos experimentales “los probadores de alimentos” de los reyes, primero hombres y luego perros, con lo cual fue creciendo el conocimiento. Sin embargo, a partir de la Revolución Industrial las acciones tóxicas comienzan a tener relevancia en los ambientes de trabajo, de donde surgen los primeros conocimientos acerca de las intoxicaciones, ejemplo, por plomo. A partir de la Primera Guerra Mundial la búsqueda de mayores conocimientos acontece dentro de la industria bélica, emerge la utilización del gas mostaza que elimina primero a los enemigos, y una veintena de años después a quienes tuvieron contacto con este gas (distinción entre los efectos agudos y crónicos de un tóxico).

Los riesgos de origen químico constituyen una de las principales causas de muerte evitables en el ámbito laboral en todo el mundo. La Organización Internacional del Trabajo (OIT) estima que las sustancias peligrosas acaban con la vida de 438 mil trabajadores al año, y que la causa del 10 % de cáncer de piel detectado se atribuye a la exposición a estas sustancias en el lugar de trabajo. Los productos químicos que se utilizan en el lugar de trabajo pueden provocar también problemas relacionados con la salud reproductiva, generar enfermedades al nacer, desequilibrar el sistema nervioso, causar asma y otros problemas epidérmicos. El daño provocado por estas sustancias peligrosas puede suceder tras una breve exposición o por la acumulación de estas partículas en el cuerpo humano; aunque, no solo los trabajadores lo sufren, el riesgo atañe a las personas y las comunidades en general, al estar expuestas a los productos químicos, tanto en sus casas como a consecuencia de la contaminación medioambiental.

El primer elemento es lograr un flujo de información suficiente acerca de los riesgos de los productos y las mejores estrategias de prevención. Lamentablemente no todos los productos utilizados se han investigado de manera suficiente en tiempo y forma antes de su introducción en el mercado, y la epidemiología demuestra cuán útil hubiera sido hacerlo oportunamente.

Hoy día se dispone de información, también, el Sistema de Riesgos del Trabajo ha definido distintos niveles de ayuda para ello, asimismo, las aseguradoras de Riesgos del Trabajo tienen la obligación de ofrecer a los empresarios suministro de información *relacionada con la seguridad en el empleo de productos químicos y biológicos*, además, con la finalidad de que la información sea accesible a todos.

## Definiciones

La *toxicología* se define como la ciencia que estudia el origen y naturaleza de los efectos tóxicos, provocados por la exposición a los agentes químicos en organismos vivos. Permite hacer un estudio cualitativo y cuantitativo de estos efectos que pueden ser desde prácticamente inapreciables, hasta capaces de provocar la muerte. Incluye la investigación de todos los mecanismos y factores que intervienen en el proceso toxicológico, qué hace el tóxico al penetrar en el organismo y qué hace el organismo para inactivarlo y eliminarlo.

La *toxicología preventiva* se refiere a aquellos casos en los que existe evidencia de exposición a un tóxico, este o sus metabolitos se identifican en el organismo, además, aparecen alteraciones a nivel bioquímico, pero el trabajador no presenta ninguna manifestación clínica, es decir, no se ha alcanzado aún el nivel del horizonte clínico. En esta etapa la conducta siguiente es eminentemente preventiva. En general, basta con retirar al trabajador de la fuente de exposición para que los niveles bioquímicos remitan en un periodo más o menos corto y sin necesidad de aplicar tratamiento alguno.

Un *agente tóxico* es el compuesto químico que, absorbido e introducido en el medio interno y metabolizado, provoca lesiones en los aparatos y sistemas orgánicos del cuerpo, e incluso, causa la muerte del individuo y, por supuesto, puede inducir la intoxicación. Todos estos trastornos son ocasionados de forma accidental, o sea, es el proceso patológico con signos y síntomas clínicos provocados por una sustancia química.

La *toxicidad* es una expresión usada para medir el grado tóxico o venenoso de algunos elementos, puede referirse al efecto de esta sobre un organismo completo como un ser humano. Uno de los objetivos de los estudios clínicos y experimentales en toxicología es definir la capacidad de las sustancias para provocar efectos perjudiciales, es decir, la toxicidad de estas, que es la acción de un agente tóxico sobre un organismo y significa una alteración del estado fisiológico o de salud. Esta toxicidad puede ser aguda, cuando los efectos adversos suceden en un corto tiempo; crónica, capacidad de una sustancia para causar efectos adversos consecuentes a una exposición prolongada; subcrónica, por exposición repetida a una sustancia durante un período, usualmente el 10 % de la vida.

## Clasificación de las sustancias químicas

Las sustancias químicas según su acción biológica se clasifican en:

- Irritantes. Ejercen acción inflamatoria en las mucosas de las vías respiratorias por contacto directo.
- Asfixiantes. Impiden el aporte de oxígeno a los tejidos sin interferir con el mecanismo de ventilación.
- Anestésicos y narcóticos. Actúan como depresores del sistema nervioso central.
- Tóxicos sistémicos. Aquellos que se distribuyen por el organismo y actúan en más de un órgano o tejido específico o ambos.
- Neumoconióticos. Penetran y se depositan en los pulmones e inducen neumoopatías fibróticas o por simple acumulación.
- Carcinógenos. Capaces de inducir proliferación celular desordenada.
- Teratógenos. Provocan malformaciones en la descendencia.
- Mutágenos. Actúan sobre el material genético, provocando alteraciones hereditarias.
- Alergenos. Originan reacciones descontroladas de tipo antígeno-anticuerpo.

## Tipos de intoxicación

Los tipos de intoxicación debidas a las sustancias nocivas pueden ser: subaguda, crónica o recidivante:

- Aguda. Consiste en la aparición de un cuadro clínico patológico, en ocasiones dramático, por la adsorción de una o varias dosis o exposiciones a un agente durante un período de exposición inferior a 24 h. En algunos casos, como los que ocurren con el fósforo, los efectos pueden aparecer a la semana de su ingestión o exposición.
- Subaguda. Significa menor grado de severidad de la intoxicación, ocasiona algunos trastornos a nivel biológico, sin manifestaciones significativas casi siempre aparecen como consecuencia de corto tiempo de exposición al agente.
- Crónica. Es consecuencia de la absorción recurrente de un tóxico, con tiempo de exposición significativamente elevado (más de 90 días); en ocasiones esta intoxicación sucede por la absorción de cantidades pequeñas del agente tóxico, que con las sucesivas exposiciones se acumula en algún órgano o tejido. Suele manifestarse (estado subclínico) cuando ocurre un estado fisiológico más bajo o un posible movimiento del agente tóxico, aparece a largo plazo. Su presencia más bien se debe al uso de plaguicidas, algunos compuestos químicos y por efecto de la contaminación ambiental.

- Recidivante. Conducen al individuo a un estado de carencia biológica progresiva, que disminuye su capacidad de recuperación de manera que su restablecimiento es cada vez más deficiente.

## **Situación actual de la toxicología**

Independientemente de la toxicología judicial, aunque quizá forzada por esta, tenía que desarrollarse una toxicología básica o farmacológica. Tardieu (Repetto, 2009) llegó a negar la existencia de la toxicología como ciencia, alegando que los venenos no forman un orden natural. Claude Bernard (Rodríguez de Romo, 2007) decía que toda sustancia introducida en el organismo y extraña a la constitución química de la sangre es un medicamento o un veneno, sin embargo, ha quedado bien comprobada la teoría de Paracelso (Repetto, 2009) respecto a que: “la toxicidad es, en el fondo, una cuestión de dosis”. Actualmente se calcula que el 1 % de los ingresos en hospitales se debe a intoxicaciones, y el 8 % de todas las autopsias que se realizan en el mundo son por muerte tóxica.

De la misma manera que la psiquiatría se desarrolló en el seno de la medicina legal, para después constituirse en materia médica independiente, la toxicología ya no es una faceta de la medicina legal, como tampoco es de la química analítica: la amplitud de las materias y el elevado número de sustancias químicas, que bajo tantas formas y continuamente están en contacto con el hombre, exigen una identidad propia de las nuevas ramas de la toxicología, en especial de la química toxicológica y de la toxicología clínica. Esta tendrá por objetivo la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las intoxicaciones que, como cualquier enfermedad, pueden manifestarse con evolución aguda o crónica, presentando en cada caso diferentes exigencias terapéuticas.

Las dificultades para alcanzar estos objetivos han suscitado la creación de un sistema intermedio, con personal especializado en proporcionar información toxicológica con propósitos de prevención y tratamiento; que está constituido por los centros de lucha contra las intoxicaciones, iniciados en 1952 en EE. UU., y desarrollados hoy en todos los países. El interés y la utilidad de estos centros se deducen claramente por el hecho de que en EE. UU. llegaron a funcionar en la década de los 80 unos 600 centros, aunque la aplicación de criterios de calidad ha disminuido la cifra a la décima parte. De las observaciones estadísticas de los centros antitóxicos (CAT) surgió la necesidad de los servicios de farmacovigilancia y, más tarde, de los de tóxicovigilancia, para proteger a la población de los riesgos tóxicos.

El manejo de grandes cantidades de compuestos químicos por la industria, así como su transporte y almacenamiento, incrementan el riesgo de accidentes y consecuente afección de los seres vivos, al igual que el empleo de sustancias químicas en acciones de guerra y terrorismo. Todo ello ha provocado profunda preocupación

en ambientes gubernamentales y clínicos, por lo que se desarrollaron programas de prevención y tratamiento del medio ambiente y de los individuos afectados por sustancias especialmente peligrosas (conocidas en todo el mundo por las siglas HAZMAT, acrónimo de la expresión inglesa *hazardous materials*).

En el siglo xx adquiere extraordinaria importancia la toxicología industrial y ampliamente la toxicología laboral u ocupacional, hasta el punto de haber promovido en varios países, entre ellos España (1973), una nueva especialidad profesional. Este hecho se debe a las circunstancias siguientes:

- La considerable expansión de la industria.
- El crecimiento simultáneo de las diferentes ramas de la química industrial: orgánica, de los plásticos y resinas, alimentaria, farmacéutica, agrícola y química nuclear.
- El reconocimiento de los derechos del trabajador contra los posibles peligros tóxicos en la industria.

La última circunstancia requiere especial atención, pues el reconocimiento de los derechos del individuo a condiciones higiénicas de trabajo ha sido difícil de conseguir. Ya se han citado los antecedentes históricos de Ramazzini y Ximénez de Lorite (Repetto, 2009) en el siglo XVIII, y aunque la legislación acerca del tema parece muy reciente, se debe recordar que el 30 de enero de 1900 fue promulgada en España la Ley de Accidentes del Trabajo, con reglamentos de aplicación aprobados por Reales Decretos del 28 de julio y 2 de agosto. En ella, aparte de especial preocupación por los accidentes, se atiende a la pureza del aire, mediante la existencia de aparatos depuradores, filtros e instrumentos para comprobar su calidad, así como las precauciones recomendables para el manejo de sustancias tóxicas; sin embargo, Oliveras y Soler (Repetto, 2009) en *Elementos de higiene industrial* (1929, 2009) criticaron algunas de las prevenciones de la Ley por insuficientes.

Suiza fue la primera nación que estableció indemnizaciones para la enfermedad profesional, e Inglaterra y Francia publicaron las primeras listas de enfermedades, aunque comprendían un número muy reducido y destacaban como principales el saturnismo y el hidrargirismo. A partir de 1917 se impulsó de manera significativa en Rusia la medicina del trabajo, para lo cual se instituyeron centros especializados en Charkow, Moscú, Leningrado, etc., mientras que Alemania, Austria, Hungría y Checoslovaquia adoptaron el Sistema de Seguro de Enfermedad, y en las repúblicas hispanoamericanas se consideraba al enfermo profesional con los mismos derechos que el accidentado en el trabajo.

En España se promulgó, en 1947, un decreto de Clasificación de Enfermedades Profesionales, que establecía las Normas Médicas por las cuales debían regirse los reconocimientos, diagnósticos y la calificación de algunas enfermedades profesionales,

como las causadas por los ácidos (sulfúrico, sulfuroso y sulfídrico), los hidrocarburos alifáticos halogenados, el sulfuro de carbono, los nitro- y aminoderivados de los hidrocarburos aromáticos, arsénico y sus compuestos, los isocianatos, el vanadio y sus compuestos, el fósforo y sus compuestos, el mercurio, los derivados halogenados de los hidrocarburos aromáticos, etc., reglamentación que se ha modificado por diferentes disposiciones ulteriores, hasta confluir en el Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo creado en abril de 1970, dependencia del Instituto Nacional de Previsión, del Ministerio de Trabajo, denominado después Servicio Social de Higiene y Seguridad en el Trabajo, integrado al Ministerio de Sanidad y Seguridad Social (1977) y, luego, otra vez en el Ministerio de Trabajo.

De manera similar habría que considerar la contaminación ambiental urbana, con su incidencia en la salud del ciudadano, en el paisaje y en las obras culturales (pictóricas, escultóricas, arquitectónicas o de ingeniería), así como la contaminación de los espacios naturales, sus animales y vegetación, todo ello, materia de la toxicología ambiental y de la ecotoxicología. De modo muy expresivo, G. Persoone (Repetto, 2009) distingue ambas ramas, considerando que para la toxicología ambiental es crítico o crucial que se afecten o mueran algunos individuos, pero la ecotoxicología solo se interesa cuando aparecen desequilibrios en el ecosistema.

Se cree que la toxicología ya ha superado la etapa de ciencia descriptiva, de acumulación de datos, de listados de sustancias y de sus dosis tóxicas agudas y letales, aunque prosiga el desarrollo de subespecialidades en los órganos específicos (neurotoxicología, dermatotoxicología, nefrotoxicología, inmunotoxicología, genotoxicología, toxicología genética, etc.).

En efecto, se puede ver que la tendencia de la toxicología en los últimos 20 años es la comprensión de los fenómenos en términos de toxicología bioquímica o toxicología molecular, lo cual significa la línea más potente del desarrollo de la toxicología: el mejor conocimiento de las interacciones entre los xenobióticos y las biomoléculas, y aún más, entre las moléculas exógenas y los mediadores intracelulares, interpretado a la luz de los progresos en genética, polimorfismos enzimáticos (por su variabilidad bioquímica) y de los estudios poblacionales. Esto requerirá mayor atención de los toxicólogos a la bioestadística, que se ha establecido como importante ciencia auxiliar; solo con la experta aplicación de esta herramienta, podrán establecerse de manera adecuada los límites máximos permitidos de contaminación ambiental urbana, en el medio laboral y en los alimentos, así como se podrán encontrar las causas de algunas enfermedades, como determinados trastornos mentales y neurológicos, cuya incidencia aumenta sin que aún se conozca su causa.

La toxicología mecanicista o mecanística busca identificar todo el entramado molecular que conduce desde la exposición inicial al tóxico hasta la última manifestación de trastorno en el organismo. Además, pretende encontrar las explicaciones moleculares

de cómo los xenobióticos penetran en el organismo, se distribuyen, biotransforman y excretan (procesos toxicocinéticos), cómo los xenobióticos o sus metabolitos ejercen sus efectos a través de interacciones moleculares (toxicodinámica) y, finalmente, cómo la célula, el órgano o el cuerpo reacciona ante el ataque, con respuestas que pueden ser adaptativas, de tolerancia o de reparación o bien sucumbiendo al daño.

En ocasiones estos procesos son sencillos, se desarrollan en un único nivel, pero frecuentemente tienen lugar a través de cadenas o cascadas de acontecimientos bioquímicos.

La toxicología cambia rápido, principalmente debido al avance en los conocimientos de los cambios que acontecen en las señales de transducción celular provocados por las sustancias químicas (endo- o xenobióticos). Especial actualidad poseen las proteínas de superficie celular (cadherinas, integrinas, etc.), los factores de transcripción y de transporte (chaperonas), las quinasas del estrés (MEKK, por sus siglas en inglés), la proteínaquinasa mitogénica (MAPK, por sus siglas en inglés), los factores antiapoptóticos y proapoptóticos (caspasas, Bcl, factores de necrosis, caspasacitocromo c, etc.), proteínas, glutámico pirúvico transaminasa (GTP), interacciones de proteínas Ras-Raf, el papel de las mitocondrias y las numerosas cascadas de señales.

También tiene desarrollo acelerado la toxicogenómica, ciencia que estudia las modificaciones de la expresión de los genes por la acción de los tóxicos, a partir de las nuevas tecnologías, como el "microarray", que permite evaluar de modo masivo los cambios en la expresión génica. Esta ciencia combina la información de los estudios a escala genómica (perfiles de expresión de ARNm), a escala proteómica (perfiles proteicos globales, tanto celulares como tisulares), de la susceptibilidad genética y de los modelos computacionales, para comprender la función de las interacciones gen-ambiente (Rockett, 2003) (Repetto, 2009).

## **Toxicometría**

Se define como conjunto de determinaciones cuantitativas de parámetros biológicos afectados por los tóxicos. Cuantifica la toxicidad de una sustancia o mezclas de ellas mediante la determinación de las relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta. La relación dosis-efecto es el vínculo que existe entre la dosis y el efecto a nivel individual; la relación dosis-respuesta es el nexo entre la dosis y el porcentaje de individuos que presentan un determinado efecto.

## **Curvas dosis-efectos y dosis-respuesta**

Cuando se administra una cantidad determinada de un agente químico a una población supuestamente homogénea, se obtiene una respuesta cuya magnitud depende de la cantidad de tóxico administrado, por lo que se producirá una gama de



respuestas graduadas que irá desde 0 hasta 100 %. Las dosis o concentraciones del tóxico administrado se relacionarán con el peso corporal del animal y la superficie de aplicación, en el caso de que la vía de penetración utilizada sea la dérmica. Las relaciones más usuales son gramos (g) o miligramo (mg) por kilogramo de peso corporal, microgramo ( $\mu\text{g}$ ) por gramo de peso corporal, gramo-microgramo por metro cúbico de superficie, etcétera.

La relación entre la dosis del compuesto-prueba y la respuesta obtenida se representa gráficamente mediante las curvas dosis-efecto y dosis-respuesta, donde la dosis representa la cantidad de agente administrado y la respuesta a la intensidad del efecto que este provoca en la población investigada. Cuando el efecto que se produce es la muerte, la curva dosis-respuesta se expresa como dosis-letalidad.

Mediante las curvas de letalidad se pueden obtener los valores de las dosis o concentración letal media para una especie determinada. Las curvas dosis-respuesta presentan casi siempre una forma sigmoideal cuando se relaciona el logaritmo de las dosis con el grado de respuesta. Las curvas sigmoideales se pueden hacer lineales por el uso del logaritmo de las dosis en las abscisas y la escala de las ordenadas.

## Parámetros toxicométricos

Los parámetros toxicométricos constituyen principios básicos para evaluar la toxicidad de un agente químico, ellos cuantifican la toxicidad de una sustancia o mezcla de ellas, y tienen como objetivo hallar relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta, así como caracterizar el nivel de toxicidad y riesgo. Entre estos parámetros se citan la dosis letal media (DL 50) determinada por vía oral o dérmica, la concentración letal media (CL50) determinada por vía inhalatoria, el límite agudo (Limac), coeficiente de acumulación (K), límite crónico (Limch) y niveles límites admisibles en el aire de la zona de trabajo, entre otros.

A partir de la valoración de los parámetros toxicométricos citados se establecen los límites de seguridad, concentraciones máximas admisibles y concentraciones promedio admisibles en el aire de la zona de trabajo.

**Dosis letal media (DL 50).** Puede determinarse por vía oral o dérmica y se define como la dosis que por administración única a una población supuestamente homogénea produzca el 50 % de muertes durante un período de observación de hasta 15 días después de la administración.

Es una medida simple y aproximada de la toxicidad aguda de una sustancia, de fácil cálculo, pero solo ofrece el efecto dramático final, no permite conocer efectos adicionales, exclusivamente carencia de efecto observable o muerte; sin embargo, orienta acerca del modo de acción de la sustancia y permite comparar diferentes tóxicos, facilitando su clasificación de toxicidad. Para disminuir sus limitaciones durante

el período de observación, el investigador o técnico debe anotar signos o síntomas de intoxicación que suelen aparecer, y enriquecer aún más la información toxicológica obtenida. Estos pueden ser:

- Limitación en la ganancia de peso.
- Trastornos gastrointestinales.
- Alteraciones de la actividad locomotora.
- Incoordinación, ataxia, dificultades respiratorias, convulsiones y otros.

Un análisis anatomopatológico posmortem o inmediatamente después del sacrificio, conducirá a un enriquecimiento de la información obtenida.

**Concentración letal media (CL<sub>50</sub>).** Se diferencia de la dosis letal media en que la vía de penetración del tóxico es la inhalatoria, en un tiempo de exposición que varía según la especie animal utilizada.

Al realizar la determinación de los parámetros toxicométricos para un compuesto o mezcla de ellos, es muy importante tener en cuenta que existen diversos factores que deben ser conocidos y controlados, ya que, de lo contrario, se puede tomar como verídicos resultados total o parcialmente errados.

## **Factores que pueden modificar la toxicidad**

**Factores que dependen de la sustancia y la vía de administración.** Para que un agente químico produzca un efecto biológico debe entrar en contacto con células biológicas y precisamente la intensidad del efecto dependerá entre otros factores de la capacidad del tóxico para atravesar las barreras biológicas, además del grado de sensibilidad del receptor. Las características de los compuestos que se administran influyen en mayor o menor absorción y traslocación de estos al interior del organismo. Según la vía de entrada puede acelerarse o retardarse su llegada al sitio de acción. El tóxico puede absorberse por vía sanguínea, inhalatoria, conjuntiva, oral, intraperitoneal, y dérmica, pero las más utilizadas o las que con mayor frecuencia suceden son casi siempre la inhalatoria, la oral, la intraperitoneal y la dérmica.

La concentración del tóxico determinará proporcionalmente una mayor toxicidad. La velocidad de absorción dependerá del medio o vehículo en que el tóxico esté disuelto, su naturaleza química y su estado físico y, asimismo, influirán la presencia de otros compuestos que conlleven a una absorción simultánea de tóxicos en combinación.

**Factores que dependen del individuo.** Cada individuo presenta características personales que hacen que este responda de forma diferente a los tóxicos, aun al compararlos con sujetos de su misma especie, lo que dificulta generalmente la experimentación en animales y más tarde la extrapolación de los resultados obtenidos del hombre.

Existen diferencias entre especies que varían los valores de los parámetros toxicométricos, debido a diferencias en la absorción, por la ausencia de mecanismos similares para la detoxificación o por diferencias en su grado de eficiencia entre otras.

Entre los sexos existen diferencias en la actividad de algunas enzimas que pueden influir en la respuesta tóxica. Está demostrado que las hormonas sexuales desempeñan un importante papel en el metabolismo de los tóxicos. Cuando estas enzimas pertenecen a sistemas de eliminación, el fenómeno es favorecedor porque disminuye el riesgo, pero cuando las enzimas estimuladas producen metabolitos más tóxicos, se incrementa la toxicidad.

Las diferencias en la edad influyen también debido al estado de desarrollo o maduración de los sistemas enzimáticos involucrados en la inactivación de los compuestos extraños o de determinados sistemas fisiológicos, como el sistema nervioso central en los recién nacidos. Con la edad se disminuyen las capacidades hepáticas y renales para biotransformar y eliminar el tóxico.

Determinados alimentos de la dieta pueden hacer menos intensos los efectos tóxicos sobre el organismo sobre todo cuando se logra buena nutrición proteica y calórica.

**Factores que dependen del medio.** Las condiciones climáticas y meteorológicas influyen en la toxicidad. Dentro de estos factores tiene gran importancia la temperatura; las diferencias de temperatura pueden activar o deprimir el metabolismo para un determinado compuesto o el producto o metabolitos derivado de este, influye en la velocidad de las reacciones químicas, modifica la vasodilatación superficial y con ello altera el volumen de sangre circulante y como consecuencia la cantidad de tóxico que llega a los receptores.

La presión atmosférica o del ambiente en que se localice el sujeto expuesto influirá en la absorción de gases y vapores y en la eliminación por vía pulmonar; se sabe que la velocidad de las reacciones químicas es proporcional a la presión, de tal manera que la reacción de los tóxicos con los receptores será más intensa al aumenta la presión. Otros elementos del medio que influyen son la luz, la humedad, el ruido, la estación del año y la contaminación del medio por otros elementos.

## Capítulo 2

---

# Toxicocinética

Los trabajadores, en su ambiente de trabajo, se encuentran expuestos a diferentes factores de riesgos en su zona de labor, por lo que se define la exposición como todo lo que se relaciona con las sustancias químicas en el aire del medio laboral y el riesgo a ese contacto, donde es posible la aparición de alteraciones de salud como consecuencia de la exposición a un agente determinado, o sea, a uno o varios factores de riesgo.

Las principales vías de ingreso de las sustancias tóxicas al organismo son: inhalación, ingestión y contacto epidérmico. En el primer caso, habría que tener en cuenta factores como estado físico de los agentes nocivos (vapor o gas), proceso respiratorio en sí (L/min que se introducen por vía respiratoria), área pulmonar (m<sup>2</sup>) y permeabilidad (capacidad de retención superior).

Tras la absorción por cualquier vía de entrada de la sustancia quimiotóxica, se produce una respuesta concreta del organismo, cuyas características y magnitud dependen del ente nocivo específico y de la dosis absorbida correspondiente, esto es lo que se denomina *toxicodinamia*, el estudio de la relación entre la dosis que entra en el organismo y la respuesta medida; por lo general, la magnitud de una respuesta tóxica se relaciona con la concentración de la sustancia tóxica en su sitio de acción, a lo cual le antecede el proceso de toxicocinética que es el estudio del desplazamiento de las sustancias tóxicas dentro del cuerpo (es decir, absorción, distribución, metabolismo y excreción).

La respuesta biológica se manifiesta y se refleja en las alteraciones de determinados parámetros internos y/o externos del organismo. Los externos pueden ser los síntomas y signos que refiere el individuo durante el examen clínico, y que proporcionan al médico algunos de los elementos necesarios e imprescindibles para establecer el diagnóstico clínico correspondiente de intoxicación. Por su parte, también en el interior del organismo se operan cambios que no necesariamente tienen que reflejarse como síntomas y signos externos, y lo que es más importante, pueden comenzar a producirse mucho antes de que se manifieste la intoxicación clínica.

La detección de los primeros cambios internos puede y debe contribuir tanto a la determinación de la magnitud de la exposición ambiental, como a la prevención de la propia enfermedad u otro tipo de alteraciones reversibles de salud entre los trabajadores. Muchas de las intoxicaciones profesionales crónicas por sustancias nocivas, cuando se declaran como tales, son prácticamente irreversibles, por lo que es necesario detectarlas y controlarlas en sus primeros estadios, cuando aún los cambios puedan considerarse como reversibles.

Un compuesto químico cualquiera, al presentarse ante el organismo humano, debe romper la primera barrera que es su entrada, una vez que el compuesto ha logrado penetrar, sucede su absorción para entrar a los órganos y tejidos. En este lugar el compuesto químico debe librar una verdadera batalla –a biotransformación– en la que saldrá vencedor el más fuerte, como es un elemento que el organismo no desea, tratará de eliminarlo por cualquiera de las vías previstas.

## Absorción

Los agentes tóxicos pueden entrar al organismo humano por 3 vías, la respiratoria, cutánea y gastrointestinal. Este capítulo tratará cada una de ellas.

### Vía respiratoria

Esta vía es muy importante en la exposición ocupacional y en los casos de sustancias químicas volátiles. Mediante esta vía entran los vapores, gases y partículas. El área por donde penetran los tóxicos en el pulmón es muy grande (de 90 a 100 m<sup>2</sup>) y el grosor de la membrana es de 0,001 a 0,004 mm, lo cual hace que esta sea una de las principales vías para el acceso de sustancias al organismo. En esta absorción se involucran factores mecánicos, proceso similar a la toma de muestra de aire como si fuera el hombre una bomba de aspiración, factores anatómicos, fisiológico-bioquímicos que reglamentan tanto el ritmo de entrada como la intensidad de la absorción y las posibilidades de retención.

Esta vía se divide en dos partes: la vía respiratoria superior y los alvéolos.

#### *Vía respiratoria superior*

Esta se considera como vía de paso sin función activa, aunque sí participan tanto en la absorción como en la retención de los tóxicos.

Las fosas nasales calientan y humedecen el aire inhalado, y en el caso de las partículas actúan como un filtro natural que permiten retener el 50 % de las partículas, cuyo diámetro sea superior a 8  $\mu$ .

En comparación con la mucosa nasal, la faringe y la laringe juegan un papel accesorio; en cuanto a la tráquea, bronquios y bronquiolos la importancia de la retención está ligada al tamaño de las partículas. La incesante actividad de los cilios que recubren esta parte de la vía respiratoria, la secreción mucosa de las células y el reflejo nervioso ocasionado por la presencia de cuerpos extraños, contribuye a expulsar las partículas e impiden que estas penetren en zonas más profundas.

Aunque este espacio no participa en el intercambio gaseoso no puede ser subestimado en el caso de los gases y vapores en cuanto a los aspectos toxicológicos.

Mientras más soluble en agua es el gas o vapor, mayor es su tendencia a ser retenido en esta parte de la vía, debido a la humedad constante de la mucosa que la tapiza.

También es posible que estos agentes tóxicos produzcan una reacción de hidrólisis en esta zona, como ejemplo de estos agentes químicos existe el tricloruro de fósforo, que en contacto con el agua libera ácido fosfórico y ácido clorhídrico; por esta razón pueden ocurrir efectos irritantes locales que a su vez contribuyan a la penetración de sustancias químicas por esa mucosa dañada.

### *Alvéolos*

En esta etapa del trayecto de un agente tóxico son muy importantes sus características físico-químicas.

Si la sustancia tóxica es particulada, llegarán a los alvéolos aquellas partículas que tengan un diámetro entre 1 y 5  $\mu$ , y ya en este lugar, se absorberán fácilmente a través del torrente circulatorio.

Es muy importante además del tamaño, el peso de las partículas, y en los casos de sustancias de 0,1 a 0,5  $\mu$  que casi siempre tienen poco peso son expulsadas al exterior nuevamente. Existen algunas partículas que, aunque son pequeñas, tienen una densidad elevada como el caso de partículas metálicas o sus óxidos, las que son retenidas por las vías respiratorias superiores, lo contrario, en caso de partículas grandes como el amianto que tienen poco peso, penetran profundamente.

El paso del tóxico a la sangre se efectúa a través de 400 millones de alvéolos, cuyas células están en contacto estrecho con los capilares y permiten el intercambio de 6 a 8 m<sup>3</sup> de aire por día; ninguna otra parte de la vía respiratoria posee una participación tan masiva y activa en la absorción del agente tóxico.

La concentración de las sustancias tóxicas en la sangre está regulada por leyes físicas, entre ellas la ley de Dalton, que dice: "el contacto con un líquido la absorción de un gas o vapor se efectúa de manera independiente para cada gas y vapor". Otra ley es la de Henry, que dice: "la cantidad de gas o vapor disuelto es directamente proporcional a la presión ejercida por el gas o el vapor a la superficie del líquido".

Por lo tanto, la presión parcial, o sea, la concentración del tóxico en el aire alveolar interviene de manera preponderante para asegurar una determinada concentración del tóxico en la sangre.

Las tres cuartas partes de la sangre están formadas por agua, constituye un solvente excelente para los tóxicos solubles en agua, y serán tanto mejor absorbidos cuanto más solubles sean en este medio, es decir, en el plasma sanguíneo.

La solubilidad del agente tóxico en los lípidos también es importante, así como en los glóbulos rojos o eritrocitos. Además de solubilizarse, puede ocurrir una combinación química entre el tóxico y determinados constituyentes sanguíneos, por ejemplo, el monóxido de carbono que representa el tóxico más significativo de este grupo y que forma la carboxihemoglobina. La estabilidad de la combinación va a depender del pH del medio y de la fuerza química de la unión.

## Vía cutánea

La piel está revestida de una película de agua y grasas. Las grasas interrumpen el paso a las sustancias hidrosolubles y favorecen el paso de compuestos con estructuras similares a ellos, como los hidrocarburos alifáticos y aromáticos, y sus derivados halogenados y oxigenados.

Para la penetración por la piel es importante tomar en cuenta la viscosidad y volatilidad del tóxico; un compuesto volátil tendrá menos probabilidad de penetrar porque no ha tenido tiempo de estar en contacto con la piel, y en el caso de sustancias viscosas será a la inversa, pues es difícil eliminarlas de la piel y permanecen durante mayor tiempo en la superficie cutánea.

La entrada, ya sea física o química, va a ser total a nivel de órganos anexos, como el aparato pilosebáceo y los poros, donde la capa hidrolipídica está en déficit.

El agua de las glándulas sudoríparas y la transpiración sirven de vehículo para la penetración a los tóxicos solubles en agua.

Después que un tóxico ha pasado esta primera barrera se establece el contacto con la segunda línea de defensa, representada por las diferentes capas que constituyen la epidermis, y el tóxico puede pasar por difusión inter- y transcelular.

El gel, constituyente esencial de la célula, asegura la solidez y la plasticidad de la piel, algunas sustancias según su composición química, rebasan la barrera lipídica, se infiltran y entran en contacto con el gel, como resultado se originará una alteración en función de la estructura química del tóxico. Existen algunos tóxicos que solo actúan en la superficie precipitando o modificando esta estructura proteica, lo que no excluye que pasen a la sangre por difusión pasiva y absorción por los vasos capilares que se encuentran en la dermis.

## Vía gastrointestinal

Desde el punto de vista de la absorción, esta es una de las vías principales porque los tóxicos pueden ser absorbidos a través de cualquier zona de ella, aunque fundamentalmente a través del intestino delgado por la longitud de su superficie y abundante irrigación sanguínea. Es la vía menos importante para la salud ocupacional, pues cuando una sustancia química entra al organismo, en este caso va a ser debido a malos hábitos higiénicos fundamentalmente, por comer o beber en la zona de trabajo, o sin lavarse las manos o por fumar.

El transporte a través del epitelio es principalmente por difusión y, menos importante, por transportadores.

El grado de absorción de las sustancias, incluso los tóxicos, depende de muchos factores, entre los más importantes están:

- Propiedades fisicoquímicas, especialmente solubilidad, disociación y coeficiente de partición n-octanol/agua.

- Cantidad de alimentos presentes que pueden diluir el producto y disminuir el grado de absorción.
- Tiempo de estadía de las sustancias en cada parte del sistema digestivo.
- Capacidad de absorción del epitelio en esa zona y su pH.
- Flujo sanguíneo.
- Cambios de solubilidad.
- Tamaño de partículas.

Estos factores hacen muy difícil predecir la conducta de una sustancia tóxica en el tracto gastrointestinal y su rango de absorción.

## **Distribución, localización y acumulación**

De forma disuelta o combinada el tóxico va por la sangre hacia todos los tejidos, según su vascularización y permeabilidad tisular.

El organismo puede dividirse en tres grandes zonas de retención:

- Vísceras.
- Piel, músculo y tejido conjuntivo.
- Tejido adiposo.

A las principales vísceras llega cerca de las tres cuartas partes del flujo sanguíneo y al resto del cuerpo, la cuarta restante. Esta irrigación implica mayor número de moléculas tóxicas que llegan a estas vísceras y una saturación más rápida de sus tejidos.

En el organismo existen dos medios que conspiran a favor del tóxico, el agua y los lípidos. El agua constituye el 70 % del peso corporal, y es el solvente que ocupa el primer lugar en la disolución de las sustancias químicas, ya sean biológicas como xenobióticas.

Dado que no existe una sustancia química totalmente insoluble en agua, alguna parte de ella se solubiliza con el plasma sanguíneo, lo transporta y, si su afinidad por los lípidos tisulares es mayor, lo cede a estos.

La constitución lipoproteica de las membranas orgánicas extracelulares permite la penetración por difusión de los tóxicos liposolubles, cualquiera que sea el tamaño de las moléculas, por lo cual se explica la predilección de los solventes y derivados organometálicos por los tejidos abundantes en lípidos. Si se toma en cuenta que la mayor concentración de lípidos en el organismo se encuentra en el sistema nervioso central y en el hígado, se explica la tendencia de estos compuestos a localizarse en ellos.

Los electrólitos penetran según el grado de disociación iónica y, por ejemplo, los compuestos minerales ionizables y solubles en agua prefieren la vía renal y algunos se localizan en él, y actúan sobre este tejido.



El tóxico posee, además de la solubilidad, otras propiedades químicas que lo caracterizan, como la afinidad química, por ejemplo, la del monóxido de carbono con la hemoglobina para formar la carboxihemoglobina; el fluor está ávido por el calcio, con el que se combina y se deposita en los huesos y dientes; el berilio posee elevada afinidad por los fosfatos y compite con el magnesio y el calcio. El plomo circula bajo las formas de fosfato de plomo, sigue el metabolismo del calcio y se acumula en los huesos.

Determinado número de metales como: cadmio, manganeso, plomo, arsénico y selenio tienen tendencia a fijarse sobre los grupos tiol de las proteínas y enzimas que portan grupos sulfidrilos.

Además de todo lo antes expresado y no menos importante, existen otros factores que van a influir en la localización y retención del tóxico, que son:

- La rapidez e intensidad con las cuales el receptor tisular apropiado capta el tóxico.
- El grado de oxidación del elemento.
- El metabolismo del tóxico.

## **Biotransformación**

Si el tóxico no posee la polaridad indispensable para su eliminación, el organismo dispone de los mecanismos para su transformación, estos pueden presentarse de manera aislada o combinada.

La primera vía es de destrucción, basada en procesos metabólicos de degradación (formación de metabolitos) y la segunda vía es de construcción, que se lleva a cabo mediante mecanismos de conjugación.

En algunos casos los metabolitos formados poseen la particularidad de presentar mejor solubilidad en medio acuoso y, por consiguiente, mejora la eliminación por la orina con tendencia a disminuir la toxicidad, aunque otros presentan una toxicidad más elevada.

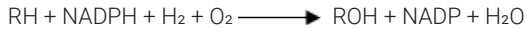
Los mecanismos que rigen esta degradación poseen naturaleza enzimática, microsómica o no microsómica, tanto para sustancias endógenas como exógenas, es decir, que estos mecanismos no son específicos para las sustancias tóxicas, sino que los emplea el organismo en sus procesos bioquímicos normales.

## **Reacciones microsómicas**

El retículo endoplasmático del hígado es el sitio preferencial para la biotransformación de las sustancias químicas y existen distintos tipos de reacciones que se realizan en él.

### *Oxidación microsómica*

Pueden esquematizarse de la manera siguiente:



con la presencia de cit P 450, donde RH es la sustancia química inicial y ROH, la sustancia química oxidada.

Dentro de estas reacciones de oxidación se pueden señalar las siguientes:

- Hidroxilación de compuestos aromáticos como el benceno, que se transforma por esta vía en fenol.
- Hidroxilación alifática, un compuesto alquílico a un alcohol secundario.
- Hidroxilación de compuestos alicíclicos como el hexano al hexanol.
- O: Dealquilación: un éter que se transforma en alcohol y aldehído.
- N: Dealquilación: una amina secundaria en amina primaria y aldehído.
- S: Dealquilación:  $\text{RS-CH}_3 \longrightarrow \text{RSH} + \text{HCHO}$  (aldehído).
- Desulfuración: eliminación de azufre y sustitución por oxígeno paration a paraoxon.
- N: hidroxilación de aminas aromáticas: amina aromática a hidroxilamina.

### *Reducción microsómica*

- Reducción de nitrocompuestos: nitrocompuesto con formación de aminas.
- Reducción de azocompuesto: azocompuestos con formación de aminas.

### *Hidrólisis*

- Ésteres: con formación de ácido y alcohol.
- Amidas: con formación de ácido y amina.
- Ácidos hidroxámicos: con formación de ácido y amina.
- Hidrazida: con formación de ácido y aminas.
- Nitrilos: con formación de ácidos y cianuros.

## **Reacciones no microsómicas**

Se sabe que gran cantidad de transformaciones metabólicas ocurren fuera de sitios microsomales, tanto en tejido hepático como extrahepático.

Existen órganos especializados en la biodescomposición activa que facilitan la entrada o salida del cuerpo, como los pulmones, riñones, tracto gastrointestinal y el plasma.

Otros tejidos no hepáticos con determinada capacidad de biotransformación son: piel, bazo, glándulas endocrinas, músculos, cerebro, retina y placenta. Esta biotransformación cuando ocurre en el intestino usualmente se realiza por la acción de la microflora intestinal.

A nivel subcelular la transformación no microsómica de las sustancias nocivas se realizan en la mitocondria, el citosol y el espacio extracelular (sangre) (Tabla 2.1).

Las sustancias nocivas que se parecen en su estructura química a los bioconstituyentes normales pueden seguir la vía utilizada por ellos.

**Tabla 2.1.** Tipos de biotransformaciones no microsómica

| Tipo de conversión                                | Producto metabólico                       | Enzima involucrada y sitio  |
|---|---|---|
| Alcoholes alifáticos, aromáticos, cíclicos        | Aldehído                                  | Alcohol dehidrogenasa, catalasa (en citoplasma hepática, hígado y riñón)                                  |
| Ácidos carboxílicos                               | Acetil y propionil CoA                    | Dehidrogenasas específicas más ácidos grasos dehidrogenasa oxidasas (en citosol + mitocondrion en hígado) |
| Aldehídos alifáticos y aromáticos                 | Ácidos                                    | Aldehído oxidasa, aldehído dehidrogenasa, xantina oxidasa (en citosol hepático)                           |
| Aminas alifáticos y arilsustituídas               | Aldehído + aminas (deaminación oxidativa) |   |
| Nitroalcanos                                      | Aldehídos + NO <sub>2</sub>               | Nitroalcano oxidasa   |
| Reducción: Cetonas aromáticas y alifáticas        | Alcoholes secundarios                     | Cetonas reductasa (en citoplasma hepático)  |
| Ésteres orgánicos nitrados (dinitroglicoles)      | Nitroglicoles                             | Poliolnitrato reductasa (en el citosol hepático)  |
| Dehidroxilación: -Dihidroxibenceno -Hidroxilamina | Fenoles<br>Aminas                         | Dehidroxilasa (en la flora intestinal)<br>N-deshidroxilasa (en hígado)                                    |
| Ácidos arilarsónicos                              | As +5 a As +3                             |   |
| Hidrólisis: Desesterificación                     | Ácidos y alcoholes                        | Carboxiesterasas, arilesterasas (en hígado y sangre en mitocondria)                                       |
| Deamidación:                                      | Ácido y NH <sub>3</sub>                   | Carbosiámidas, arilamidas (en hígado y riñones)   |

## Procesos metabólicos de conjugación

Las principales características de la biotransformación por conjugación son las siguientes:

- La conjugación sucede después de ocurrir los cambios de oxidación, reducción o hidrólisis.
- Cuando la sustancia nociva posee determinados grupos reactivos (hidroxilo, carboxilo, amino), la conjugación puede ser la primera etapa de biotransformación.

- El tiempo que demora en suceder la conjugación, así como su tipo, dependen de la configuración del compuesto que se metaboliza, especialmente de la estructura de sus grupos funcionales.
- La conjugación representa un proceso de síntesis, lo contrario de la primera fase de la reacción que tiene naturaleza degradativa.
- En pocas excepciones, las reacciones de conjugación disminuyen la toxicidad de las sustancias nocivas, representan un verdadero proceso de detoxificación.
- En la conjugación los metabolitos tienen una naturaleza polar más pronunciada, que favorece la excreción por la orina o la bilis.
- La conjugación es un mecanismo que incluye varias sustancias normales del organismo que sirven de transporte, de activación y excreción de pigmentos biliares como las sales biliares, hormonas y productos de desecho del metabolismo intermediario.
- La conjugación se forma por la adición de los agentes conjugantes al grupo funcional de la molécula de la sustancia nociva.
- Los agentes conjugantes (glucuronil sulfato, aminoácidos, metilo, acetilo) usualmente no se unen directamente, sino a través de la formación intermedia con las enzimas que donan al agente conjugante a la molécula aceptora.

Dentro de las reacciones de conjugación existen: glucuronidación, esterificación con sulfato, metilación, acetilación, conjugación con aminoácidos, conjugación con el glutatión, como las principales.

### *Glucuronidación*

La transferencia del glucuronil se acompaña de la uridíndifosfato transglucoronilasa, que existe en los microsomas de los tejidos, principalmente en el hígado y también en el riñón y la piel.

Los O-eterglucurónidos se forman en gran proporción (de 50 a 80 %) en el caso del fenol, los fenoles mono y sustituidos, así como los naftoles forman los correspondientes  $\beta$ -fenilglucurónidos.

Pequeñas cantidades de  $\beta$ -alquilglucurónido son productos de los alcoholes alifáticos primarios y en gran cantidad, con los alcoholes secundarios o terciarios y halogenados (por ejemplo, ácido monoclórico y el tricloroetanol).

Los alcoholes aromáticos forman el correspondiente alquilfenilcarbinil glucurónido (de 50 a 70 %).

Los ácidos aromáticos mono y polisustituidos dan lugar a los arilglucurónidos sustituidos en proporción variada (del 10 al 60 %).

Los N-glucurónidos se producen (en pequeña proporción) en el caso de las anilinas sustituidas y naftilaminas. Los productos de la glucuronidación indirecta se forman

de los etanos y etilenos clorados, cetonas, alquilbencenos, hidrocarburos policíclicos, bencenos halogenados, éteres aromáticos y compuestos aromáticos nitrados.

La conjugación de estos compuestos requiere la formación de compuestos intermedarios con grupos  $\text{^-OH}$ ,  $\text{^-COOH}$  o  $\text{NH}_2$ .

### *Esterificación con sulfato*

La sulfonación se realiza con la intervención de sulfotransferasas (sulfoquinasas) que están localizadas en el citosol hepático. Esta reacción la efectúan los fenoles no sustituidos, los alcoholes alifáticos y las aminas aromáticas.

### *Metilación*

La reacción es catalizada por la O-metiltransferasas y la amina N-metiltransferasa específicas, que se encuentran en la fracción microsómica o la fracción soluble del hígado, y participa la metionina.

Esta vía de conjugación la siguen las aminas endógenas y heterocíclicas como la piridina, catecolaminas, fenoles trihídricos, O-halofenoles y mercaptanos.

### *Acetilación*

Se cataliza por la transacetilasa y la reacción ocurre en el hígado, bazo y riñones. Esta reacción la realizan aminas aromáticas, ariltioaminas, sulfonamidas.

## **Conjugación con aminoácidos**

En este proceso los aminoácidos, especialmente la glicina, son donados directamente sin formación con la coenzima a la molécula receptora. Los compuestos que siguen esta vía de conjugación que son los ácidos aromáticos (ácido benzoico, ácidos hidroxibenzoicos, ácido cloro y etilbenzoico), requieren previa transformación en derivados de la aroil coenzima A para luego conjugarse. También ocurre esta reacción con el tolueno, xileno, alquilbenceno, estireno cuyo metabolismo forma el ácido aromático intermedario.

## **Conjugación con el glutatión**

Este es un proceso que incluye varias fases:

- Adición primaria del glutatión (GSH) al receptor:



- Desdoblamiento de los residuos de glicina para formar S-cisteinil derivados (RS-cisteinil).
- Acetilación para formar ácidos mercaptúricos (RS-acetilcisteína).

En todos los casos se forman ácidos alquil o arilmercaptúricos, según su receptor primario si es un compuesto alifático (halógeno o nitroalcano) o aromáticos (derivados halogenados del benceno, del nitrobenceno, hidrocarburos policíclicos, aminas aromáticas).

## Eliminación

La eliminación de un tóxico del organismo, tanto biotransformado o no, ocurre como una expulsión pura y simple de regreso al medio externo a través de la:

- Vía renal.
- Vía respiratoria.
- Vía cutánea mucosa.
- Vía gastrointestinal.

Mediante la vía renal se eliminan las sustancias solubles en agua y los productos de su biotransformación. Las sustancias que se disuelven poco en agua, como el plomo, se eliminan por esta vía lentamente.

A través de la vía respiratoria se eliminan partículas y, además, las sustancias volátiles como los alcoholes, éteres, cloroformo, cetonas, estireno, ciclohexano, por solo citar algunos. La eliminación de las partículas dependerá del diámetro y del peso según se explicó en el caso de la absorción por esta vía.

Por medio de la vía cutáneomucosa ocurre la eliminación de sustancias solubles en grasas, que salen por las glándulas sebáceas y también por las mamas, entre ellas se encuentran el alcohol, cloroformo, benceno. Por las glándulas sudoríparas se eliminan el mercurio, cobre, arsénico, sulfuros y otros.

Mediante la vía gastrointestinal se eliminan las sustancias que se disuelven poco o nada en agua, como el plomo, mercurio, manganeso, antimonio y otros. Existen algunas que lo hacen por la saliva como el plomo y el mercurio.

## Capítulo 3

---

# Mecanismos de acción tóxica

El desarrollo tecnológico, el crecimiento demográfico, la industrialización y el uso de nuevos métodos de agricultura tecnificadas son factores que contribuyen a que entren al ambiente de manera continua cantidades crecientes de gran número de sustancias químicas sintéticas y naturales, con interacciones y efectos adversos tanto sobre el ambiente mismo como sobre los seres vivos.

El impetuoso avance de la bioquímica ha permitido una toxicología que estudia porqué vías y fuentes hacen entrada al organismo las sustancias tóxicas, qué eventos tienen lugar una vez dentro, o sea, qué transformaciones experimentan, cuál es su modo de acción, etc.

La rama de la toxicología que da respuesta a estas interrogantes es la bioquímica de los compuestos extraños, estos últimos son ajenos a las vías metabólicas normales del organismo.

Los efectos que desencadenan esos compuestos extraños a nivel celular se tratarán en este capítulo.

Todos los mecanismos profundos de acción tóxica pueden resumirse en dos grupos principales, según su enfoque desde el punto de vista siguiente:

- Alteración de las estructuras proteicas que conducen a la destrucción total de la célula (necrosis).
- Alteración de la estructura de la membrana celular (que originará la salida del contenido celular).
- Afección en las estructuras de los organelos subcelulares (retículo endoplasmático, mitocondrias, ribosomas, lisosomas) que provocarán trastornos en actividades metabólicas, síntesis proteicas, etc.

## Afección de la función celular

- Modificaciones de la permeabilidad de la membrana (que afectan entrada y salida de alimentos, fármacos y excretas de los iones sodio, potasio y calcio).
- Modificaciones de la actividad enzimática por afección de una enzima o sistema de enzimas o por sustancias desproteinizantes que lesionan la estructura proteica de la enzima.
- Modificación de la reproducción celular (mutagénesis, carcinogénesis).

## Toxicidad selectiva

Este concepto alude a las diferentes respuestas de las distintas células a los agentes químicos, y refleja una capacidad del tóxico para actuar de manera selectiva sobre las diferentes células.

El fenómeno de toxicidad selectiva exige al menos dos condiciones básicas:

- Existencia de órganos diana susceptibles al tóxico.
- Presencia de mecanismos que modifiquen las concentraciones del agente en forma activa en la proximidad de los lugares efectores. Estos mecanismos deben modificar la molécula para originar un producto más tóxico o liberarlo de su unión con las proteínas transportadoras.

Además, la cuantía del efecto no solo dependerá del número de receptores afectados, sino de la velocidad o intensidad con que esto ocurra.

Estas dianas pueden ser lugares vitales, cuya alteración por la reacción con el agresor químico conduce a la muerte celular o pueden ser lípidos y proteínas cuya modificación no altera directamente las funciones celulares.

Algunas veces tales receptores están bien definidos, pero usualmente no pasan de ser elementos hipotéticos situados dentro o en la superficie de la célula, o en una molécula de proteína circulante. Ejemplos: los grupos sulfidrilos (SH) de los sistemas enzimáticos son los receptores específicos para los metales pesados, la acetilcolinesterasa es el receptor específico para los organofosforados.

En ocasiones la acción tóxica de un producto se basa en su ocupación por un receptor que fisiológicamente se combina con sustancias endógenas, hormonas o neurotransmisores; por ejemplo, el efecto letal de la d-tubocurarina se debe a la parálisis de los músculos esqueléticos consecuente al bloqueo selectivo de los receptores fisiológicos para la acetilcolina, en la sinapsis o placa neuromuscular.

Con arreglo a la teoría de la toxicidad selectiva, la copulación de un posible tóxico con su respectivo receptor dependerá de las características físico-químicas y estructura molecular del compuesto.

De manera empírica se sabe que en la toxicidad influyen:

- El peso atómico o molecular.
- La valencia de la cual depende la solubilidad de las sales.
- La naturaleza química.

Muchos fenómenos tóxicos se deben a que un agente bloquea los grupos funcionales de las proteínas celulares (grupos aldehído, amino, sulfuro y oligoelementos),



por lo que serán tóxicas todas las sustancias capaces de reaccionar de este modo, ejemplos, metales pesados para los sulfuros.

Las sales de los metales son tanto más tóxicas cuanto más raros son estos en la naturaleza.

En líneas generales y conforme a la estructura molecular la toxicidad aumenta con:

- La insaturación.
- La sustitución de hidrógeno.
- La posición orto confiere distinta actividad que las posiciones para y meta.
- La isomería geométrica (los compuestos simétricos son más tóxicos que los asimétricos).
- Los isómeros ópticos (la actividad biológica corresponde a los levógiros, siendo menores en los dextrógiros y los racémicos).
- Las formas estereoisómeras cis son más tóxicas que las trans.

## Procesos fisiopatológicos de origen tóxico

La acción de un agente tóxico sobre un organismo consiste en una alteración del estado fisiológico o de salud. La amplitud de las materias y el elevado número de sustancias químicas, que bajo tantas formas y de manera continua están en contacto con el hombre, exigen una identidad propia de las nuevas ramas de la Toxicología, especialmente de la Química toxicológica y de la Toxicología clínica. Esta tendrá por objetivos la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las intoxicaciones que, como cualquier enfermedad, pueden manifestarse con curso agudo o crónico, presentando en cada caso diferentes exigencias terapéuticas.

### Irritación

La irritación puede tener diferentes manifestaciones como las dermatitis, conjuntivitis, bronquitis, necrosis, es decir, irritación, inflamación rotura y muerte celular.

Los agentes causantes de este proceso son: gases, vapores, polvos y líquidos (caústicos o ácidos).

### Alteración de la respiración celular

- Anoxia (por disminución de la presión parcial de oxígeno) que puede ser causada por dióxido de carbono, nitrógeno, metano, propano y butano.
- Asfixia que puede ser provocada por:
  - Interferencia del transporte de oxígeno como el bloqueo de la hemoglobina por el monóxido de carbono.
  - Inhibición de la oxidación como ocurre por la inactivación de las enzimas respiratorias citocromooxidasa por el cianuro.

## Trastornos de la conducción nerviosa

Estos trastornos pueden suceder por alteración de la irrigación como en el caso de los fosfolípidos, transmisores químicos y/o enzimas, y se produce en estos:

- Aumento de la conducción nerviosa con manifestaciones de temblores, neuritis y convulsiones como con el plomo, talio, manganeso, bario y fosfatos orgánicos.
- Disminución de la conducción nerviosa con presencia de anestesia y depresión como los hidrocarburos y sus compuestos halogenados.

La depresión del sistema nervioso central también deprime la respiración y la circulación. Pueden quedar secuelas permanentes por desmielinización.

Los trastornos tóxicos de la conducción nerviosa suelen ser:

- Afección de las conexiones con la musculatura lisa por acción, como:
  - Medidores del sistema simpático: fenilaminas, adrenalina, anfetaminas y otros.
  - Medidores del sistema parasimpático: muscarina, atropina, pilocarpina, etc.
- Afección de las conexiones con la musculatura estriada como acción:
  - Excitante: los derivados nicotínicos.
  - Paralizante: curare, cicuta, aconitina.
- Afección de las sinapsis intraganglionares vegetativas como en el caso de la nicotina, cicutina que en pequeñas dosis son excitantes y en grandes dosis paralizantes.
- Afección de la capa de lípidos (vaina de mielina) que envuelven las conducciones y estructuras nerviosas con modificación de su constante dieléctrica, como en el caso de los hidrocarburos, plaguicidas clorados, tetracloruro de carbono, dióxido de carbono que actúan como anestésicos y depresores del sistema nervioso central. Pueden producir vacuolas irreversibles en el tejido nervioso con graves secuelas de parálisis.
- Afección de los mecanismos enzimáticos responsables de la síntesis y destrucción de los mediadores químicos, especialmente los monoaminooxidasa y acetilcolinesterasa (plaguicidas organofosforados y carbámicos).

## Alteración de la función pulmonar

Puede estar dada por:

- Alteración de la permeabilidad alveolar (por edema, fibrosis, enfisema, neumoconiosis, cáncer) provocado por gases, vapores y polvos múltiples, y también por hidrocarburos halogenados y policíclicos.

- Alteración de la tensión superficial (colapso alveolar) causado por grasas, disolventes y detergentes.
- Alteración de los mecanismos de limpieza pulmonar mediante la acción sobre el moco con espesamiento, producida por el dióxido de azufre. También provoca deterioro de los cilios como en el caso del dióxido de azufre y óxidos de nitrógeno.
- Depresión del centro nervioso respiratorio debido a la morfina, algunos hidrocarburos y las toxinas botulínicas.
- Inhibición vagal originada por olores pestilentes como el sulfuro de hidrógeno.
- Tetanización de la musculatura respiratoria por la estricnina.

## **Alteraciones hepáticas**

Dentro de estas se encuentran las alteraciones del metabolismo de los hepatocitos con producción de adiposis, atrofia, ictericia, cirrosis y cáncer; suele estar provocada por alcoholes, tetracloruro de carbono y compuestos orgánicos halogenados, de fósforo o arsénico.

## **Alteraciones hemáticas**

- Afección medular con producción de anemia, citopenia, leucopenia y trombopenia provocadas por benceno, radio, aminas y amidas (sulfamidas, anilina, cloranfenicol).
- Hemólisis como en la arsina y el sulfuro de hidrógeno.
- Alteración de la hemoglobina causada por el monóxido de carbono, cianuro, plomo.
- Alteraciones plasmáticas (desequilibrio ácido-base) por el cloroformo, éter, metanol y ácidos.

## **Alteraciones renales**

Algunos metales y sustancias químicas como el mercurio, plomo, fenoles y lacas pueden provocar nefritis, nefrosis, anuria y uremia ocasionadas por la exposición prolongada a estos.

También se han observado tumores de vejiga provocados por las aminas.

En relación con las alteraciones de la función cardíaca, estas suceden por fluoruros orgánicos e inorgánicos, nicotina.

## Capítulo 4

---

# Factores que modifican la toxicidad

En el medio laboral los trabajadores se exponen frecuentemente a factores químicos, físicos, biológicos y psicosociales, de manera simultánea intervienen además otros factores como hábito de fumar, ingestión de alcohol, padecimientos de enfermedades y tratamientos medicamentosos que alteran la susceptibilidad individual a exposiciones profesionales, y pueden provocar en el sujeto expuesto desde una disminución hasta una multiplicación del efecto tóxico esperado para cada componente independiente. En la mayoría de los casos este riesgo por exposición combinada encierra largos períodos que pueden incluir toda la vida laboral activa del trabajador.

A pesar de que hace varios años se viene trabajando en la confección de una guía metodológica que evalúe los riesgos para la salud, ocasionados por las interacciones, especialistas en la materia concluyen que no debe recomendarse un enfoque único para efectuar evaluaciones por exposiciones múltiples, sin embargo, si se recomiendan guías metodológicas generales según el tipo de mezcla bajo estudio, los efectos tóxicos conocidos de sus componentes, la disponibilidad de los datos acerca de mezclas similares, las interacciones conocidas o previstas entre los componentes y, en general, todos los datos de exposición con que se cuenten. Pero no siempre se dispone de la información suficiente para hacer una evaluación acertada de este riesgo, en la mayoría de los casos, ni siquiera se conocen todos los componentes de la mezcla, los datos toxicológicos sobre sus componentes conocidos son limitados, por lo que el grado de conocimiento e información del especialista acerca de los mecanismos que intervienen en las interacciones de compuestos extraños y los factores internos o externos que pueden influir en la absorción, distribución y transformación de estos –bajo diferentes modalidades del ambiente– cobran trascendental importancia.

El criterio del investigador en el momento de analizar los datos por él obtenidos, su flexibilidad al interpretarlos, teniendo en cuenta cada suposición o limitación en el enfoque que se dé, aumentará la confiabilidad en la evaluación del riesgo y su certera aplicabilidad.

A propósito, se define el término mezcla como cualquier combinación de dos o más sustancias sin importar el origen ni su proximidad temporal o espacial. Pueden ser de variada complejidad y tóxicas de sus constituyentes.

## Tipos de efectos por acción combinada

El efecto adverso provocado por exposición a mezclas de tóxicos depende directamente de la ocurrencia del fenómeno de interacción entre al menos dos contaminantes presentes en el ambiente, por lo que puede producirse:

- Efecto sinérgico o agonista. Cuando el efecto combinado es mayor que el que cada uno de los componentes de la mezcla provoca de manera independiente. Estos pueden ser de dos tipos:
  - Aditivos. Cuando la magnitud del efecto combinado es igual a la suma de los efectos producidos por separado en cada compuesto (adición o suma-ción), o sea, ocurre una simple suma del efecto independiente.
  - Potenciados o más que aditivos. Cuando al menos uno de los componentes de la mezcla potencia o multiplica su efecto por acción combinada.
- Efecto antagónico. Cuando el efecto producido por la interacción de al menos dos agentes tóxicos es menor que el efecto aditivo, uno reduce el efecto del otro.

## Evaluación cuantitativa del efecto por acción combinada

En el momento de hacer una evaluación cuantitativa de los efectos ocasionados por exposición combinada, la elección de una metodología adecuada dependerá de la naturaleza de los agentes en cuestión. Por lo general, se plantea que el principio es el mismo que para exposiciones simples, donde las evaluaciones toxicológicas se refieren al efecto de dosis de agentes únicos sobre animales de experimentación en exposiciones agudas o a largo plazo; en el caso de las interacciones, entonces habrá que tener en cuenta la exposición simultánea a más de un agente, aunque en la actualidad aún limita o dificulta la utilización del procedimiento adecuado en cada caso. No obstante, de forma general, los procedimientos para la cuantificación de los efectos por exposición combinada se han clasificados en dos grandes categorías:

- Procedimiento de la gráfica isobólica. Por medio de esta se inscriben los efectos de una exposición isodinámica o dosis de tratamiento.
- Procedimientos analíticos. Emplean diversas formas de análisis de probit y efecto dosis-respuesta.

Como no siempre estos métodos son de aplicabilidad general, en algunos casos puede utilizarse el análisis de regresión múltiple y el multifactorial.

Las curvas dosis-respuesta o concentración-respuesta constituyen otra forma clásica de analizar las interacciones.

Si el compuesto interactuante desplaza la curva de dosis-respuesta hacia la derecha, existe antagonismo. Si la desplaza hacia la izquierda, representará agonismo (aditivo o potenciado).

# Mecanismos que intervienen en la respuesta por acción combinada

## Interacciones con el ambiente

La exposición de un individuo a ambientes contaminados por mezclas de sustancias químicas implica posibles interacciones fisicoquímicas entre los componentes del medio laboral que pueden hacer más o menos nociva la exposición. La temperatura ambiente y la temperatura y presión de los procesos industriales figuran entre los factores físicos que suelen ser determinantes para el grado de exposición a solventes, metales y otras sustancias en el medio de trabajo.

## Interacción biológica

Para una buena evaluación de exposiciones laborales mixtas es necesario poseer conocimiento suficiente acerca de los mecanismos y tipos de interacciones que ocurren en el organismo expuesto. Por experiencias experimentales en animales o in vitro, así como por observaciones hechas en el hombre, se sabe que en la mayoría de las interacciones biológicas importantes conocidas parece intervenir un número limitado de mecanismos, que han sido bien descritos y demostrados en los estudios farmacológicos relacionados con las interacciones entre medicamentos:

- Interferencia con la absorción. En general, las sustancias tóxicas pueden ingresar al organismo mediante tres vías principales: tracto respiratorio, piel y tracto gastrointestinal. Las dos primeras vías son las más importantes en el medio de trabajo. La absorción, a través de las membranas biológicas, está determinada por determinadas propiedades fisicoquímicas de los compuestos en cuestión y los productos químicos que actúan uno sobre los otros durante la fase de absorción, pueden provocar aumento o reducción en la proporción de la cantidad de sustancia absorbida.
- Interferencia con la distribución. Las sustancias químicas absorbidas se distribuyen entre los distintos tejidos, según un proceso determinado por varios factores:
  - El flujo sanguíneo de cada tejido.
  - La masa de cada uno de ellos.
  - La afinidad específica del tejido por el producto en cuestión.

Los cuerpos químicos se ligan a los tejidos, a las proteínas plasmáticas y a los receptores de una forma reversible, y la relación entre producto libre y ligando en cada uno de esos lugares dependerá de las propiedades del producto químico, así como de la presencia de otras sustancias; un producto químico puede influir sobre la

distribución de otro y, por consiguiente, alterar la concentración del compuesto activo en el punto de acción.

- Alteraciones en la biotransformación. Las sustancias químicas extrañas al ingresar al organismo sufren determinadas biotransformaciones mediante diversos mecanismos (oxidativos, reductivos y conjugadores). De estas biotransformaciones resultan metabolitos de distintas polaridades y por tanto de diferente grado de eliminación y de igual, menor o mayor toxicidad. Numerosos agentes químicos actúan sobre sistemas enzimáticos que intervienen en la biotransformación, provocando efectos de estimulación e inducción o de inhibición de la actividad enzimática.
- Interacciones en el punto receptor. El efecto final de un agente químico puede ser asimismo modificado por otro que compita por el punto receptor o que altere ese receptor.
- Interferencias con la eliminación. Las sustancias químicas se eliminan del organismo mediante su metabolismo y excreción, sobre todo a través de la orina, la bilis y el aire espirado. La excreción renal se considera más significativa y en ella intervienen tres mecanismos principales:
  - Filtración molecular.
  - Reabsorción.
  - Secreción tubular activa.

Pueden producirse interacciones cuando las sustancias químicas excedan la capacidad de transporte tubular, que es un proceso activo, es decir, que consume energía.

Las modificaciones de pH urinario también suelen influir sobre el aclaramiento renal de algunas sustancias químicas. Las bases orgánicas débiles se excretan con mayor rapidez, si se acidifica la orina, y, por el contrario, el aclaramiento de los ácidos orgánicos débiles es mayor con una orina alcalinizada. Este principio se ha utilizado para el tratamiento de los envenenamientos agudos.

## **Interacciones entre agentes químicos y físicos**

Los cambios en las condiciones físicas pueden influir en el efecto que en último término tenga la exposición de agentes químicos.

### *Aumento de la temperatura*

En el medio de trabajo puede repercutir sobre la cantidad de sustancias químicas que penetra, ya que aumenta sus concentraciones en el aire y, además, puede incrementarse el ritmo de ventilación pulmonar que es una causa de mayor absorción.

El aumento de la velocidad circulatoria que acompaña el estrés por calor es otro factor que facilita la absorción, a través de un aumento del flujo de la sangre hacia los capilares alveolares.

Las variaciones de temperatura ambiental pueden influir sobre el equilibrio neurohormonal.

### *Características personales del individuo expuesto*

Las características personales propias, que hacen diferente un individuo de otro, pueden influir mucho en la reacción del hombre a exposiciones breves o prolongadas de uno o varios agentes en el medio de trabajo:

- Factores genéticos. Se considera que algunas variaciones genotípicas son importantes en la higiene ocupacional. Se ha demostrado que una combinación de variación genética y exposición laboral puede influir de manera adversa sobre la salud de los trabajadores, un ejemplo es el grado de sensibilidad diferente ante la exposición de plaguicidas anticolinesterásicas, la mayor sensibilidad en este caso se ha relacionado con la presencia de enzimas que poseen menor capacidad inactivadora, por consiguiente, tales sujetos elevan de forma significativa su riesgo al exponerse a sustancias anticolinesterásicas.
- Estado de salud. Antes de ocupar determinado puesto de trabajo, la persona debe ser sometida a exámenes que aseguren que está apto para desempeñar su empleo, sin el riesgo de acelerar o agravar un proceso de enfermedad ya existente. Es importante que el especialista vinculado con la salud del trabajador tenga un conocimiento de las enfermedades agudas y crónicas de importancia sanitaria, que ocurren con mayor frecuencia entre los trabajadores, con el fin de evaluar posible interacción entre estas enfermedades y las condiciones de exposición propias del lugar de trabajo. Entre las enfermedades más importantes por la frecuencia con que se presentan se encuentran:
  - Enfermedades parasitarias.
  - Enfermedades respiratorias agudas y crónicas.
  - Virosis, especialmente hepatitis.
  - Cáncer.
  - Diabetes sacarina y trastornos reumáticos crónicos.
  - Trastornos mentales y convulsiones.
- Estado nutricional. Una dieta bien equilibrada contribuye a proteger al organismo de forma general contra los efectos nocivos de sustancias tóxicas. En ocasiones estas exposiciones laborales requieren suplementos alimentarios o dietas que se les proporciona al trabajador durante la jornada laboral. Se ha demostrado que la inanición o la malnutrición pueden aumentar la vulnerabilidad a diversos riesgos profesionales, ya que algunas carencias dietéticas en aminoácidos, vitaminas o minerales pueden influir de manera negativa sobre la salud aumentando la toxicidad de compuestos extraños.



- Tratamiento medicamentoso. Algunos medicamentos pueden ser peligrosos cuando se administran en las dosis habituales a trabajadores que, además, están expuestos en su ambiente laboral a agentes químicos farmacológicamente activos. En estudios hechos en animales de experimentación se ha observado la activación del sistema enzimático microsomal y, por consiguiente, la activación de los procesos de biotransformación debido a ciertos medicamentos, como sedantes y anticonvulsivos. Es evidente la necesidad de mantener una observación clínica constante sobre todo trabajador que ingiera medicamentos.
- Consumo de alcohol y hábito de fumar. El hábito de fumar cigarrillos potencia las alteraciones producidas por exposición a polvos. En relación con los efectos combinados producto de las interacciones entre el hábito de fumar y diversos riesgos laborales, se plantea la aparición de cáncer de pulmón e insuficiencia respiratoria temprana en trabajadores expuestos a polvos de algodón, sílice y amianto.



## Capítulo 5

---

# Aspectos generales de la mutagénesis, carcinogénesis, teratogénesis

Con el incremento del uso de sustancias químicas en las últimas décadas, principalmente combustibles y plásticos sintéticos, ha crecido también el riesgo por exposición a estos elementos. La evaluación cuantitativa del impacto sobre la salud se hace muy difícil si se considera que no existe exposición aislada a una sola sustancia química, sino que esta se coinvierte en una exposición simultánea a varios agentes (físicos, químicos, biológicos). Aun así, es posible reconocer rápidamente los efectos agudos sobre el organismo humano y, por tanto, tomar las medidas necesarias para minimizar el riesgo. Sin embargo, los efectos a largo plazo por la exposición a sustancias químicas son más difíciles de describir.

El material genético celular es muy susceptible de sufrir daños debido a la acción de una amplia gama de agentes físicos y químicos en el ambiente. Aunque en el organismo humano es posible encontrar mecanismos de restauración que contrarrestan los efectos nocivos de las sustancias químicas sobre el DNA celular, estos no son efectivos para las lesiones que suceden. Los cambios en el DNA, que resultan permanentes, se copian en el material hereditario de las células hijas, por lo cual se convierten en heredables. Estos cambios llamados mutaciones alteran la secuencia de bases nitrogenadas del material nuclear, tanto en las células somáticas como en las germinales, lo cual conduce a una amplia gama de fenómenos traducidos en alteraciones del estado de salud del individuo.

La acción nociva de las sustancias químicas, sobre el material genético celular, se diferencia significativamente del efecto sobre otros sistemas celulares. Las mutaciones a este nivel se manifiestan como alteraciones de la capacidad reproductiva (abortos espontáneos, infertilidad, defectos al nacer) y cáncer. Como se puede advertir, este tipo de efecto nocivo solo se detecta luego de un período relativamente prolongado, con referencia al momento en que se produjo la exposición. Casi siempre, si no existen reportes de casos similares, hasta que el fenómeno no ocurre, es imposible desviar la atención hacia el posible agente causal, por lo cual este puede permanecer indetectable. En ocasiones, las consecuencias de exposición a mutágenos no son observables hasta la generación posterior y luego de un largo período de latencia, como es el caso de algunos tipos de cáncer.

En años recientes se ha concedido gran importancia al incremento en la ocurrencia de mutaciones somáticas y germinales debido a la exposición a sustancias químicas.

Las mutaciones somáticas, tanto génicas como cromosómicas, no se transmiten a la descendencia del individuo expuesto, sin embargo, un incremento en la frecuencia de estas mutaciones puede contribuir al incremento en la incidencia de otras enfermedades, por ejemplo, el cáncer. En cuanto a la frecuencia de mutaciones germinales, ya sean génicas como cromosómicas, sí contribuyen a la herencia de defectos en los hijos de individuos expuestos a agentes mutagénicos.

## **Mecanismos de acción**

Se ha demostrado que los mutágenos y carcinógenos químicos se unen por enlace covalente o no covalente a las macromoléculas celulares, como DNA, RNA y proteínas. Algunos mutágenos y carcinógenos pueden reaccionar directamente con los ácidos nucleicos, como aldehídos, nitrosaminas, hidracinas, haloésteres, ésteres de ácido fosfórico, epóxidos, etc. Otros como tetracloruro de carbono, cloruro de vinilo, tricloroetileno, benceno, estireno y muchos más, requieren un proceso previo de bioactivación, por lo que se dice que su acción es indirecta.

Existen diferencias entre mutágenos, teratógenos y carcinógenos. Mientras que la carcinogénesis puede ser causada principalmente por sustancias químicas que se unen de forma covalente con el DNA, la mutagénesis y la carcinogénesis pueden, adicionalmente, ocurrir por interacción no covalente. Las mutaciones y malformaciones suelen ser causadas por sustancias que interfieren la replicación del DNA, tales como análogos de base e inhibidores del huso mitótico, aunque las últimas pueden ocurrir de igual modo por efectos que ejercen sustancias químicas, como citotoxinas, inhibidores enzimáticos, en mecanismos que no involucran la replicación del DNA.

## **Métodos de detección de daños genéticos**

La genética toxicológica surge a mediados de los años 60, su mayor auge ocurrió a partir de los años 80. Esta ciencia se sustenta en la utilización de métodos que permiten la detección de efectos nocivos sobre el material hereditario y en organismos con diferentes niveles de organización celular (animales, humanos, bacterias, insectos, plantas). De esta forma muchos tests se han desarrollado con la finalidad de identificar los agentes, tanto en poblaciones humanas como en estudios experimentales.

En su aplicación al campo de la Salud Ocupacional, la genética toxicológica es una herramienta muy necesaria en la prevención de aquellas afecciones que, por tener un efecto a largo plazo, no dejan de ser preocupantes. Los métodos cortos son más usados, que en breve espacio de tiempo permiten obtener una visión general del riesgo por exposición a determinadas sustancias sospechosamente mutagénicas o con efectos desconocidos. Estos métodos se utilizan tanto para evaluar efectos en el individuo como para caracterizar las condiciones de exposición en un ambiente determinado.

## Métodos de detección de daños genéticos en poblaciones con riesgo

El desarrollo de una estrategia para el monitoreo genético en poblaciones con riesgo, radica en el uso de pruebas de laboratorio; su utilidad para la detección de contaminantes ambientales con propiedades mutagénicas se corrobora con su empleo conjunto de estudios epidemiológicos y experimentales.

En el diseño de este tipo de estudios deben ser consideradas condiciones importantes, por ejemplo, los resultados deben ser interpretados en conjunto; las respuestas individuales a una misma exposición pueden diferir de manera sustancial debido a factores intrínsecos como: características metabólicas y variaciones en los mecanismos de replicación y reparación del DNA, estado nutricional, estado de salud, hábitos tóxicos, edad y sexo.

Para realizar una asociación significativa entre un daño genético observado y un agente específico o una exposición ambiental combinada, los grupos deben ser cuidadosamente identificados. Mientras sea posible, debe evaluarse de forma cuantitativa el ambiente para identificar el agente nocivo y determinar su concentración al momento del estudio. Los factores de confusión ambientales y las características individuales intragrupo deben ser controlados, así como se realizará una comparación intergrupos con un grupo control comparable para todas las variables, menos las del factor de interés.

El monitoreo genético humano se utiliza expuesto a mezclas complejas; en estas circunstancias, la reconstrucción de las condiciones ambientales que se debe evaluar resulta imposible o muy dificultosa a niveles experimentales. Los efectos que provocan en el ser humano las interacciones entre diversos agentes no son reproducibles en animales o sistemas *in vitro*. Solo examinando directamente la población expuesta pueden obtenerse datos bien documentados del riesgo genético.

Los métodos más utilizados en la evaluación genética en poblaciones con riesgo son:

- Estudios citogenéticos:
  - Aberraciones cromosómicas.
  - Intercambio entre cromátidas hermanas.
  - Micronúcleos.
- Análisis de la morfología del espermatozoide.

### *Estudios citogenéticos*

**Aberraciones cromosómicas.** El análisis de aberraciones cromosómicas, tanto numéricas como estructurales en linfocitos de sangre periférica, es un método muy utilizado en el monitoreo de poblaciones expuestas para la detección de efectos genotóxicos. Las aberraciones cromosómicas son alteraciones en la estructura del DNA, que se producen por la acción de clastógenos (agentes con capacidad de romper la cadena de DNA); luego de este fenómeno, la estructura del cromosoma queda alterada.

La aparición de aberraciones cromosómicas es directamente proporcional a la capacidad clastogénica del compuesto químico.

El método en cuestión consiste en el cultivo de sangre humana estimulada con un mitógeno capaz de inducir la replicación celular *in vitro*. Al cabo de un período de cultivo de 48 h, se detiene artificialmente la división celular en la etapa de metafase, se realiza el procesamiento hipotónico de las células y se visualizan los cromosomas bajo una tinción adecuada.

Existen varios tipos de aberraciones cromosómicas:

- Estructurales. Deleción (pérdida de un fragmento de cromosoma); duplicación (presencia de un fragmento adicional de cromosoma); inversión (fragmentación de un cromosoma por dos roturas, seguida de una reconstitución invertida); traslocación (transferencia de parte de un cromosoma a otro no homólogo).
- Numéricas. En relación con las aberraciones cromosómicas numéricas, se producen debido a fallos en el proceso de división celular, donde por efecto de disyunción los cromosomas no se separan adecuadamente y pueden perderse o incluirse algunos de ellos en las células hijas, de manera que se altera la fórmula cromosómica normal (humanos:  $2n = 46 XY$ ).

Las aberraciones cromosómicas numéricas se clasifican como:

- Aneuploidia. Cuando el número de cromosomas no es múltiplo exacto de  $n$ , ejemplo, síndrome de Down ( $46 XY + 1$ ).
- Euploidia. Cuando el número de cromosomas es múltiplo exacto de  $n$ .

*Importancia biológica de las aberraciones cromosómicas.* Los daños cromosómicos visibles en una muestra tomada de un individuo expuesto son indicio de la exposición a agentes clastogénicos, y esta observación sugiere que tales alteraciones del material genético en las células analizadas pueden haber sucedido en células de otros tejidos. Estos cambios son el reflejo de los efectos directos ocurridos en el DNA cromosomal, lo cual se traduce en cambios heredables de las sucesivas replicaciones, por lo que estas aberraciones tienen elevada probabilidad de ser transmitidas a las células hijas.

**Intercambio entre cromátidas hermanas.** El entrecruzamiento entre cromátidas hermanas de un cromosoma es un fenómeno que se detecta después de una técnica en la cual el cultivo se deja entre 68 y 72 h, período en que se completan dos ciclos celulares en presencia de BrdU (5-bromo, 2-desoxiuridina), elemento análogo de la timina y susceptible a determinado tipo de tinción reveladora con la cual se destacan, en la estructura del cromosoma, las áreas que han sido intercambiadas. Desde el punto de vista físico, este fenómeno representa la ruptura, el intercambio y el reordenamiento

de fragmentos cromosómicos entre ambas cromátidas de un cromosoma, y también se producen por la acción de agentes clastogénicos.

**Micronúcleos.** Como su nombre lo indica, son pequeños núcleos resultantes de fragmentos cromosómicos acéntricos o cromosomas completos que se pierden del núcleo de la célula hija por efectos de no disyunción. Los agentes que inducen la aparición de micronúcleos pueden ser tanto clastogénicos como inhibidores del huso mitótico, que afectan el mecanismo normal de segregación cromosómica durante la división celular.

Aunque el método de detección de micronúcleos contempla la utilización de médula ósea, es posible también encontrar este efecto en otros tipos de muestras biológicas como orina, esputo y raspado de mucosa oral, en las cuales aparecen células provenientes de vejiga, pulmones y cavidad bucal, respectivamente.

De manera general los métodos citogenéticos son una herramienta muy socorrida para el monitoreo humano expuesto a mutágenos químicos. Aunque la capacidad para realizar un pronóstico exacto, a partir de un hallazgo de efectos citogenéticos por exposición a sustancias químicas, acerca de las posibles consecuencias para la salud del individuo, si puede considerarse como un signo de alerta.

#### *Análisis de la morfología del espermatozoide*

El semen es una fuente importante de información en cualquier evaluación de impacto mutagénico en la exposición humana; en él pueden desarrollarse diferentes métodos para la detección de daños genotóxicos.

Uno de los procedimientos utilizados es el análisis de la morfología del espermatozoide. Se ha encontrado que, en exposición a diferentes tipos de agentes se produce un número elevado de espermatozoides aberrantes con morfologías atípicas. La cabeza del espermatozoide, en cualquier especie animal, presenta una forma definida para cada una de ellas, la que está controlada genéticamente. Cualquier acción genotóxica sobre el DNA de las células primordiales (espermaticitos primarios y espermatogonias) puede ocasionar la degeneración de la línea celular, que, como resultado se obtienen las formas aberrantes.

### **Importancia del monitoreo biológico en genotoxicología**

El monitoreo biológico se utiliza como método de evaluación del daño genotóxico debido a los efectos de la exposición ocupacional. El objetivo del monitoreo es la prevención de efectos tóxicos irreversibles, toda vez que se asumen tales efectos como etapas tempranas de latencia prolongada, previo al desarrollo de la afección.

Existen muchos métodos experimentales para detectar y estimar el riesgo potencial de las sustancias químicas; los cuales permiten conocer el potencial tóxico de un agente, pero no define qué ocurre en la exposición humana. En este aspecto desempeñan

un papel decisivo los estudios epidemiológicos para buscar la incidencia excesiva de algunos problemas de salud como el cáncer, las malformaciones congénitas, los abortos espontáneos. Pero el período de latencia en la aparición de tales trastornos y la complejidad de tipificar el ambiente contaminado, con frecuencia hace imposible completar la información sobre exposiciones pasadas; además, la sobreexposición a sustancias genotóxicas puede ser solo detectada, estudiando poblaciones relativamente grandes. Asimismo, los estudios epidemiológicos describen los eventos en la población una vez aparecidos los efectos, lo que conduce a la utilización de análisis de fluidos biológicos en humanos expuestos a sustancias mutagénicas, como única forma para detectar afecciones en etapas tempranas.



## Capítulo 6

# Aspectos generales de la inmunotoxicología

La inmunotoxicología es un área bastante joven. Hasta hace poco tiempo los inmunotoxicólogos se interesaban mucho por la inmunosupresión, pero poco en los demás aspectos. Varias regulaciones acerca de la evaluación inmunotoxicológica de los nuevos productos farmacéuticos fueron publicadas recientemente, aunque aún no cubren todos los aspectos de manera adecuada, por lo que se puede predecir que ocurrirán evoluciones significativas en los próximos años.

## Efectos inmunotóxicos

Se identifican cuatro categorías de efectos inmunotóxicos, cada una de ellas está asociada con diferentes consecuencias clínicas (riesgos), las cuales necesitan distintas estrategias de evaluación; estas categorías son:

- Inmunosupresión.
- Inmunoestimulación.
- Hipersensibilidad.
- Autoinmunidad.

La inmensa mayoría de las enfermedades de causa desconocida hasta ahora, así como las de tipo degenerativo, son secundarias a procesos autoinmunes (esclerosis en placas).

Un porcentaje muy elevado de las alergias y enfermedades degenerativas (base autoinmune) existentes en nuestro medio son fruto de los daños ocasionados en el sistema inmunológico por tóxicos medioambientales perfectamente identificados y caracterizados.

Todo tóxico es capaz de provocar, si interacciona con el sistema inmunológico de forma suficientemente intensa (concentración) y/o prolongada (tiempo de exposición), daños en el sistema inmunológico que llevarán al desarrollo (inmediato o mediato) de trastornos en la homeostasis y, por tanto, en la salud del individuo, de forma clínica y de manera analítica.

Los daños que tales tóxicos provocan en el sistema inmunitario pueden ser:

- Absolutamente inespecíficos. Ligados a cuadros clínicos variables e indefinidos (lupus eritematoso sistémico de origen medicamentoso o tóxico en general).
- Extremadamente específicos. Hasta el punto de ser absolutamente característicos de la exposición a ese tóxico, delimitando entonces un síndrome clínico o analítico altamente definido y constante (saturnismo o intoxicación por plomo).



## Datos y verificaciones experimentales más importantes de la inmunotoxicología. Estresantes inmunológicos

Fuentes potenciales y frecuentes de los diversos estresantes inmunológicos para los humanos, en mayor o menor medida, son las siguientes: las contaminaciones ambientales, ocupacionales y "sociales"; las condiciones y hábitos de vida, y las intervenciones terapéuticas.

Los estresantes inmunológicos se definen como aquellos estímulos externos que potencialmente pueden generar respuestas celulares y reacciones metabólicas del sistema inmunológico. Tienen diferentes orígenes, por lo que se denominan estresantes químicos, físicos, biológicos, mentales y nutricionales.

Entre los xenobióticos que poseen actividad inmunotóxica se citan los siguientes:

- Metales como: Pb, Cd, Hg, Cr, Be, As.
- Organotinas utilizadas como: estabilizantes de plásticos, biocidas de maderas y papel como: Di-N-butilestaño, Di-N-octilestaño y los derivados del dietilestaño.
- Insecticidas organoclorados.
- Insecticidas organofosforados.
- Insecticidas carbamatos.
- Insecticidas piretroides y diversos herbicidas como la atrazina y la triazina.
- Hidrocarburos aromáticos halogenados.
- Hidrocarburos poliaromáticos: benzo(a)pireno, 7, 12 diemtilbenzo(a) antraceno.
- Solventes orgánicos: benceno, tolueno, etc.; nitrosaminas, nitrosamidas y compuestos N-nitrosos.
- Micotoxinas como las ochratoxinas y los trichothecenos.
- Drogas de abuso: opiáceos, cannabis, etcétera.

## Intoxicación medicamentosa

**Efectos inmunológicos adversos de los fármacos y de otras sustancias químicas.** Algunas drogas que se han eliminado del mercado por su acción inmunotóxica son:

- Althesin. Anestésico intravenoso, provocaba hipersensibilidad reactiva e 1/1000 de origen pseudoalérgico. Se eliminó en 1984.
- L-soxicans. Droga antiinflamatoria no esteroidea, provocaba trastornos dérmicos e incluso hemólisis. Se eliminó en 1985.
- Nomifensine. Antidepresivo, causó anemia hemolítica en 50 pacientes, así como hemólisis.
- Practolol. Betabloqueador cardioselectivo, causaba enfermedad escleroderma-like o síndrome "oculocutáneo". Fue retirado en 1975.

- Zimeldina. Antidepresivo. Entre el 1 y 2 % de los enfermos tratados con este medicamento, experimentaba reacciones febriles, dolor muscular y aumento de las transaminasas séricas.
- Zomepirae. Antiinflamatorio no esteroide. Su administración provocaba en algunos pacientes reacciones de hipersensibilidad, en ocasiones letal, así como urticaria, prurito, hipotensión, *rash* máculopapular, fiebre, linfadenopatías e incluso *shock* anafiláctico.

Se han descrito propiedades inmunotóxicas en todas y cada una de los medicamentos de los grupos siguientes:

- Antibióticos, antivirales, antimicóticos y antiparasitarios; tranquilizantes, antisicóticos, antiepilépticos, antiparkinsonianos y anestésicos.
- Antihipertensivos, antianginosos y antiarrítmicos, medicamentos gastrointestinales, antidiabéticos, antitiroideos y hormonas sexuales, incluso los contraceptivos orales.
- Antialérgicos, broncodilatadores.
- Anticoagulantes, expansores del plasma.
- Factores de la coagulación e inhibidores de la agregación plaquetaria.
- Antiinflamatorios no esteroideos, corticosteroides, antiartríticos y medicamentos para la gota.
- Medicamentos inmunosupresoras e inmunomoduladoras como las antitumorales y los medicamentos para evitar el rechazo de trasplantes.

## **Sustancias químicas con propiedades inmunotóxicas**

Constituidas por metales pesados, pesticidas, hidrocarburos alifáticos y aromáticos, alcoholes, fenoles y derivados, contaminantes del aire que incluyen los gases producidos por diferentes motores, dióxido de nitrógeno, ozono, ácido sulfúrico y en los aditivos y preservativos de alimentos.

## Capítulo 7

---

# Monitoreo biológico

La exposición ambiental profesional a sustancias nocivas puede condicionar la aparición de determinados cambios significativos en la fisiología normal del organismo cuando no se toman a tiempo las medidas de seguridad adecuadas debido a un puesto de trabajo donde existe riesgo.

Para el caso particular de la detección de efectos biológicos precoces se ha propuesto la definición de monitoreo biológico de efectos, que es la medición de un cambio bioquímico reversible causado por la absorción de una sustancia nociva, cuyo grado no alcance la magnitud de aquellos cambios asociados con un conocido efecto anormal irreversible. El de exposición comprende, tanto las mediciones que se realicen para determinar los niveles de exposición ambiental, como las relativas a la detección de los primeros cambios bioquímicos reversibles ocurridos en el organismo de los sujetos expuestos. Tiene como propósito contribuir a prevenir efectos de salud inducidos por la exposición a las sustancias químicas, estableciendo de esta manera las bases para la evaluación de la entrada de los agentes tóxicos al organismo y del riesgo relativo.

## Monitoreo biológico de exposición

Puede contribuir en gran medida a establecer criterios de prevención de enfermedades profesionales causadas por factores químicos del ambiente laboral. Puede definirse como la medición o evaluación repetitiva y/o sistemática de agentes químicos, sus metabolitos o productos de su acción en tejidos, secreciones, excreciones, aire exhalado o cualquier combinación de estos, para evaluar la exposición o riesgo a la salud, adoptando en la comparación una referencia apropiada (American Conference of Governmental Industrial Hygienists [ACGIH], National Institute of Occupational and Safety Health [NIOSH], Occupational Safety and Health Administration [OSHA]).

Las definiciones de monitoreo biológico y vigilancia de salud son componentes separados de un proceso continuo, que va desde la identificación y cuantificación de los agentes nocivos y sus metabolitos en el organismo hasta la detección de una enfermedad temprana.

## Biomarcadores

El término biomarcador abarca las mediciones que puedan reflejar la interacción entre el sistema biológico humano y un agente potencialmente nocivo, ya sea, químico, físico o biológico.

Existen 3 clases de biomarcadores químicos: de exposición, de efecto y de susceptibilidad.

**Biomarcador de exposición.** Sustancias exógenas o sus metabolitos, o los productos de interacción entre el agente externo y algunas moléculas blancas o células que se miden dentro de un compartimiento en el organismo; reflejan la distribución de la sustancia química o de sus metabolitos a través del organismo. Intenta estimar la dosis interna sobre la base del conocimiento, del destino de la sustancia química en el organismo, pero en dependencia de esta y del parámetro biológico analizado. El término dosis interna puede cubrir diferentes conceptos: el que puede significar la cantidad de sustancia química recientemente absorbida o durante los días precedentes o meses, si esta tiene una vida media biológica larga; también significa la cantidad de sustancia química almacenada en uno o varios compartimientos corporales, o en todo el cuerpo.

**Biomarcadores de efecto.** Son la medida de una alteración bioquímica, fisiológica, del compartimiento o cualquier otra en un organismo que, según la magnitud, puede ser reconocido como asociado a una alteración establecida o posible de la salud o enfermedad. Existen distintos tipos: hematológicos, de nefrotoxicidad, de hepatotoxicidad, de inmunotoxicidad, toxicidad pulmonar, del desarrollo y la reproducción, de neurotoxicidad, entre otros. Para utilizarlos se requieren conocimientos del mecanismo de acción de la sustancia química en estudio; entre ellos, por ejemplo, se encuentran la determinación de la enzima de colinesterasa (neurotoxicidad), para el caso de la exposición a plaguicidas organofosforados y algunos carbamatos, y la determinación del ácido delta aminolevulínico dehidrasa en eritrocitos y la zincprotoporfirina (hematológicos), ambos para la exposición al plomo.

**Biomarcadores de susceptibilidad.** Indican la capacidad inherente o adquirida de un organismo para responder a un reto de exposición a una sustancia química externa. Pueden reflejar los factores genéticos o adquiridos que influyen en la respuesta a la exposición. Estos biomarcadores están influidos por factores externos como la edad, la dieta y el estado de salud, por ejemplo, entre los genéticos se encuentran los fenotipos aciladores (en el caso de aminas aromáticas), la inducibilidad de la arilhidrocarbono hidroxilasa para hidrocarburos policíclicos aromáticos y la deficiencia del IgA para los irritantes respiratorios. Los adquiridos (antígenos-anticuerpos específicos) se aplican en el caso de polvos de algodón y el tolueno disocianato, entre otros.

## Medios biológicos de análisis

Se prefiere analizar los medios donde se puedan obtener las muestras de manera más fácil, invadiendo el organismo lo menos posible. Se elige el medio en el que se encuentre la especie química relevante más fácil de analizar. Los medios más comúnmente analizados son la orina, la sangre y el cabello.

**Orina.** En este medio se encuentran los xenobióticos y/o sus productos de excreción que sean solubles en agua. El muestreo es muy sencillo, no requiere de procedimientos invasivos ni de personal especializado; como la orina es una solución acuosa homogénea es muy fácil estimar la recuperación del analizando. Los cambios en el flujo y la composición de la orina influyen sobre la concentración de las sustancias en este medio y, por lo tanto, los resultados se deben corregir según estos factores.

**Sangre.** Está en equilibrio con todos los órganos del cuerpo y, por lo que es el medio que mejor refleja la exposición de los diferentes órganos en un momento dado. El factor que más afecta la representatividad de los resultados del muestreo de sangre es la distribución del tóxico entre el plasma y las células, que puede variar con el período de exposición y el lapso transcurrido desde que sucedió.

Como se verá más adelante, la distribución depende de las propiedades fisicoquímicas del compuesto. Los liposolubles normalmente se encuentran en las células y los compuestos ionizados en el plasma. En cada uno de estos compartimentos el compuesto se puede encontrar libre o asociado a diferentes ligandos como proteínas, cloruros, glutatión.

El muestreo de la sangre requiere entrenamiento especializado y se deben tener los cuidados siguientes:

- No contaminar la muestra con la aguja o con el recipiente.
- Seleccionar procedimientos de muestreo y preparación que no afecten los resultados, por ejemplo, si se usa EDTA como anticoagulante, no se podrá hacer la determinación del nivel de plomo plasmático. La concentración de plomo que se determine en una muestra preparada en esta forma será un valor más alto que el real, debido a que el EDTA redistribuye el ión al provocar su emigración de las células al plasma.
- Hacer la determinación del hematócrito para estimar la recuperación del analizando.

Se pueden seleccionar otros medios biológicos para tomar muestras, como: aire exhalado (en la determinación de alcohol etílico), células exfoliadas de la piel, uñas, sudor, saliva, hueso y leche materna. El análisis de leche materna se utiliza principalmente para estimar exposiciones de infantes, más que para estimar concentraciones corporales en la madre.

**Valores de referencia.** Como indica la definición de monitoreo biológico, se deben comparar los valores contra una referencia apropiada, por lo que se requiere el valor de referencia, el cual se define como el nivel del biomarcador en la población general que no está expuesta ocupacionalmente. Existen algunas sustancias químicas que se encuentran en el organismo de personas no expuestas laboralmente, adquiridas por

la contaminación de los alimentos, las aguas y el aire ambiental, como en el caso del plomo debido al consumo de alimentos enlatados, cuyos recipientes contienen este compuesto, o la utilización de tetraetilo de plomo como antidetonante en la gasolina; en el caso del arsénico esto ocurre por la contaminación de aguas y suelos debido a su presencia natural junto con otros minerales como el oro. También existen otros biomarcadores, por ejemplo, enzimas u otras sustancias que subsisten como parte integrante de procesos bioquímicos del organismo, entre ellos el ácido delta levulínico y la colinesterasa.

Los niveles de acción biológica son valores permisibles en medios biológicos, que se establecen como orientación de hasta dónde un valor hallado está en cantidades que no provoque enfermedad o daño. La ACGIH y la DFG publican anualmente listas de estándares de sustancias químicas o de sus metabolitos, utilizados en el monitoreo biológico y para las cuales existe suficiente información sobre la toxicodinámica y toxicocinética, como para poder establecer estos valores. Se establecen para jornadas de 8 h diarias, durante 5 días a la semana, y si se van a utilizar en diferentes tiempos de jornada, este valor puede ser extrapolado, pero siempre teniendo en cuenta las propiedades toxicocinéticas y toxicodinámicas de la sustancia química.

El proceso de evaluación de los riesgos a la salud humana asociados con la exposición a sustancias químicas es multifacético, y en general, los biomarcadores tienen diferentes usos, como:

- Confirmación y evaluación de la exposición.
- Determinación de causa-efecto y dosis-efecto en la evaluación del riesgo.
- Diagnósticos preclínico y clínico de intoxicaciones.
- Vigilancia epidemiológica.
- Determinación de hipersensibilidad individual inherente o adquirida.

En la evaluación de la exposición los biomarcadores sirven para:

- Determinar la exposición individual y grupal.
- Es un complemento del monitoreo ambiental.
- Evalúa la exposición de diversas fuentes.
- Estima lo acumulado en el organismo.
- Verifica la efectividad de medidas y medios de protección individual.

Los biomarcadores son medios auxiliares de diagnósticos y como tal contribuyen a:

- La confirmación del diagnóstico de intoxicación.
- La evaluación de la efectividad de un tratamiento.
- La evaluación del pronóstico en casos individuales.

No son todas las sustancias químicas de exposición que se les conoce el bioindicador o la sustancia existente en los medios biológicos, pues existen dificultades que no permiten su amplio conocimiento, como:

- Selectividad analítica.
- Medios biológicos empleados.
- Límite de detección.
- Especificidad del efecto medido relacionado con el riesgo a la salud.
- Variabilidad de los niveles biológicos.
- Relación costo-beneficio en el empleo de los biomarcadores.



## Capítulo 8

# Riesgo por exposición a metales, solventes y plaguicidas

Los metales presentan más o menos comportamientos generales, pues la mayoría no sufre biotransformaciones con la formación de otro compuesto de molécula distinta, por lo que su concentración en sangre u orina constituye casi siempre un indicador muy válido de exposición presente o pasada; además, poseen una vida media biológica más larga antes de su eliminación.

En la tabla 8.1 se presenta la evaluación del resultado de algunos biomarcadores en el caso de los metales, según Elinder *et al.*

**Tabla 8.1.** Evaluación del resultado de algunos biomarcadores

| Metal                | Medio biológico | Evaluación de la exposición | Evaluación del efecto a la salud |
|----------------------|-----------------|-----------------------------|----------------------------------|
| Aluminio             | Orina           | ++                          | ?                                |
| Antimonio            | Sangre          | +                           | ?                                |
| Arsénico inorgánico  | Orina           | ++                          | ++                               |
| Cadmio               | Sangre/orina    | +++                         | +++                              |
| Cobalto              | Orina           | ++                          | ?                                |
| Cromo                | Orina           | ++                          | ?                                |
| Estaño               | Sangre/orina    | ?                           | ?                                |
| Manganeso inorgánico | Sangre/orina    | -                           | ?                                |
| Manganeso orgánico   | Orina           | ++                          | ?                                |
| Metilmercurio        | Sangre          | +++                         | +++                              |
| Mercurio metal       | Sangre/orina    | +++                         | +++                              |
| Níquel               | Sangre/orina    | ++                          | ?                                |
| Plomo inorgánico     | Sangre          | +++                         | +++                              |
| Plomo orgánico       | Orina           | +                           | ++                               |
| Selenio              | Sangre/orina    | ?                           | ?                                |
| Vanadio              | Sangre/orina    | +                           | ?                                |

Leyenda: -: No hay relación. +: Alguna información o relación débil. ++: Existe relación. +++: Relación bien establecida, empleada en forma rutinaria. ?: Relación desconocida.

Fuente: WHO,1994.



# Metales

## *Aluminio*

El aluminio se utiliza ampliamente en la metalurgia, se emplea como sulfato en el tratamiento de aguas residuales y el óxido en abrasivos. Se han encontrado concentraciones elevadas de este metal en la sangre y la orina de fundidores, en los que producen polvo de aluminio, sulfato de aluminio y corundum, así como en los vinculados con su producción electrolítica. Es un elemento común que está presente en la dieta a bajos niveles, en la ingestión diaria de la comida y en la bebida, se ha estimado de 1 a 30 mg/día.

**Vía de entrada, distribución, biotransformación y eliminación.** Se han observado niveles elevados de aluminio en la sangre y la orina después de la exposición ocupacional a sus diferentes compuestos, lo cual indica que la absorción por inhalación es importante, aunque en algunos reportes se considera el tamaño de los aerosoles para estimar la absorción. En general existen pocos datos cuantitativos. El aluminio se une a la proteína plasmática, especialmente la transferrina y la albúmina, y una parte permanece ultrafiltrable, quelada fundamentalmente con el citrato. Se estima que la cantidad total de aluminio en el organismo es de 30 a 330 mg; la mayoría se acumula en los huesos y también en los pulmones. La mayor parte del aluminio absorbido se excreta por la orina y en menor cantidad por las heces.

Los humos de óxidos de aluminio tienen una vida media de 8 h cuando ocurre una sola exposición, se ha notado que en fundidores con exposición menor que 1 año, la vida media es próximo a los 9 días, mientras que en exposición mayor que 10 años es de 6 meses o más. En los expuestos a escamas de aluminio, la vida media urinaria es de 5 a 7 semanas, independientemente del tiempo de exposición precedente, lo cual indica que el aluminio se almacena en distintos compartimientos del organismo. En autopsias realizadas se ha observado que su concentración en el cerebro es 20 veces más elevada que el nivel considerado como normal. En personas con enfermedades renales crónicas la eliminación se encuentra disminuida y, por tanto, puede existir una acumulación en el organismo.

**Monitoreo biológico.** La determinación de aluminio en la orina se considera específica y suficientemente sensible, mientras en suero hasta el momento no hay mucha experiencia.

**Toma de muestra y conservación.** Debido a que los tiempos de excreción dependen del tiempo de exposición, la muestra puede tomarse al comienzo de la semana de trabajo, antes o después del día de trabajo; se debe analizar en cada caso el tiempo de exposición del trabajador.

Se recoge la orina de una sola micción en frascos de polietileno, previamente lavados durante 12 h con ácido nítrico al 5 %. Pueden refrigerarse a 4 °C si no se va a procesar de inmediato, no es necesario utilizar preservativo. El polvo en el lugar del procesamiento de la muestra es una de las fuentes mayores de contaminación.

**Valores de referencia:**

- Aluminio en la orina:
  - < 50 µg/g de creatinina.
  - < 3 µg/L.

**Niveles de acción biológica:**

- Aluminio en la orina:
  - <150 µg/g de creatinina.
  - 160 µg/L.

*Arsénico*

El arsénico es un elemento que está presente en el ambiente, los suelos y las aguas; puede existir en forma de compuestos orgánicos o inorgánicos. En la naturaleza se encuentra unido a muchos minerales, por ejemplo, el oro. En la vida cotidiana el hombre puede absorber el arsénico mediante varias vías, una de ellas a través del cigarro contaminado y otra, por el aire ambiental, ya que en las áreas urbanas suelen existir concentraciones de 0,002 a 0,3 µg/m<sup>3</sup>.

El agua de beber contiene de forma ordinaria algunos microgramos de arsénico por litro, debido al contenido de este metal en suelos, que más tarde contaminan las aguas. Los vinos y las aguas minerales también pueden contener elevadas concentraciones de arsénico.

En los peces marinos se han encontrado concentraciones de arsénico por encima de 5 mg/kg de peso húmedo y en algunos crustáceos alcanza varias decenas de miligramos por kilogramo, usualmente en forma de arsénico orgánico. También existen compuestos orgánicos de arsénico que se utilizan como plaguicidas, entre ellos el MSMA (nombre genérico del plaguicida), que se emplea como herbicida.

**Vía de entrada, distribución, biotransformación y eliminación.** Por la diferencia existente entre el arsénico orgánico e inorgánico se estudiarán ambos por separado.

*Arsénico inorgánico.* Existe en forma trivalente (As<sup>+3</sup>) y pentavalente (As<sup>+5</sup>), ambas formas se absorben con facilidad después de la ingestión. La absorción cutánea no posee gran importancia, es de menor cuantía. El arsénico se une rápidamente a los eritrocitos y luego se deposita en hígado, riñones, músculos, huesos, piel y pelo.

El As<sup>+3</sup> se une ávidamente al grupo sulfidrilo e interfiere con numerosas enzimas, entre las que se incluyen las involucradas en la respiración celular, el metabolismo del

glutación y la reparación del ADN; este enlace justifica su presencia en las uñas y el pelo. El  $As^{+5}$  y la arsina se convierten en  $As^{+3}$  in vivo.

La mayoría del  $As^{+3}$  que se absorbe, se metaboliza en ácido dimetilarsínico y monometilarsínico, y se excreta por la orina con una vida media de 10 h. La orina es la principal vía de eliminación. El arsénico tiene elevada afinidad por la piel y diariamente se pierden entre 0,1 y 0,2  $\mu g$  a través de la descamación de la piel normal, también el cabello es otra vía de eliminación.

*Arsénico orgánico.* Penetra al organismo fundamentalmente mediante la vía digestiva (pescado contaminado). Se excreta sin cambio por la orina del 70 al 80 % en una semana. Hasta el momento no se conocen datos acerca de su distribución en el hombre.

**Monitoreo biológico.** En fundidores se ha demostrado una relación lineal entre la concentración de arsénico en el aire de la zona de trabajo y la excreción de arsénico y sus metabolitos en la orina. La determinación de arsénico total en la orina es útil para confirmar la exposición reciente, tanto por vía digestiva por productos marinos (arsénico orgánico), como el arsénico inorgánico. En el caso de exposición al arsénico inorgánico se puede determinar el ácido dimetilarsínico y monometilarsínico en la orina. En la exposición al arsénico trióxido, la muestra de orina representa la exposición de los últimos días.

Los niveles de arsénico en la sangre pueden indicar exposición, pero solo durante un período breve después de la absorción, ya que este se elimina rápidamente en el hombre. Este valor no se correlaciona de manera satisfactoria con el daño ni con la exposición, por lo que no es válido como indicador.

El cabello y las uñas pueden ser útiles para detectar la absorción por vía digestiva, pero en la salud ocupacional se utilizan poco, debido a que ambos medios reciben contaminación externa, y en el procedimiento analítico es muy difícil detectar solo la concentración interna.

**Toma de la muestra y conservación.** Se toma la muestra de orina al finalizar la semana y la jornada de trabajo; se colecta en frascos de polietileno, previamente lavados con solución de ácido nítrico al 20 % durante 12 h. No se necesita preservante, pero el frasco debe llenarse por completo para prevenir la oxidación del  $As^{+3}$  y  $As^{+5}$ . Se debe mantener en refrigeración a 4 °C y analizarse preferentemente dentro de pocas horas, si es necesario mantenerlo más tiempo, debe almacenarse en congelación.

Se ha reportado que la muestra de orina tiene una pérdida de arsénico del 15 % debido al depósito o adsorción de las paredes durante 3 días a temperatura ambiente. Se prohíbe comer alimentos marinos 48 h antes de tomar la muestra.

**Valores de referencia:**

- Arsénico inorgánico en la orina (final de la semana):
  - 10-50  $\mu g/L$ .

- <35 µg/L.
- 10 µg/g de creatinina.
- <20 µg/g de creatinina.
- Arsénico total en la orina:
  - <40 µg/g de creatinina.
  - <100 µg/g de creatinina.
  - <150 µg/g de creatinina.
- Arsénico en la sangre:
  - 1,5-2,5 µg/L.
  - 0,2 mg/L.
- Arsénico en el cabello:
  - <1 mg/kg.
  - <1 µg/g peso seco.

#### **Niveles de acción biológica:**

- Arsénico inorgánico en la orina:
  - 100-300 µg/L.
  - <130 µg/g de creatinina.
  - Threshold limit value (TLV):<50 µg/m<sup>3</sup>.
  - 50 µg/g de creatinina.
- Arsénico total en la orina:
  - <100 µg/L.
  - 600 µg/L.

#### *Cadmio*

En la naturaleza existe en bajas concentraciones junto con el zinc en forma de depósitos de sulfuros, pero la actividad humana ha provocado la contaminación con cadmio en todos los continentes. En áreas remotas (no habitadas) se ha encontrado una concentración de cadmio en el aire menor que 1 ng/m<sup>3</sup>. En el agua de océanos abiertos la concentración varía entre 0,02 y 0,1 µg/L. En los suelos y las rocas la concentración tiene un rango amplio, en los suelos puede estar entre 0,1 y 1 mg/kg. En ocasiones se han encontrado concentraciones en vegetales, frutas y granos entre 0,01 y 0,1 mg/kg.

La ingestión diaria en la dieta va a estar en dependencia de los hábitos alimentarios de cada persona. Para los fumadores existe una fuente adicional, pues se inhala por un solo cigarrillo de 0,1 a 0,2 µg de cadmio.

**Vía de entrada, distribución, biotransformación y eliminación.** La piel no es una vía de entrada importante. El hombre absorbe del 3 al 7 % del cadmio ingerido. Después de la inhalación de cadmio respirable la absorción es considerablemente más elevada,

en el rango del 10 al 60 %. Una vez en el organismo se transporta por la sangre al hígado, donde se sintetiza la metalotioneína, proteína que se liga al cadmio y al zinc. Esta proteína sirve como detoxificante que enlaza el cadmio, y se prevé que los iones libres puedan alterar la función normal celular, lo cual es la causa de la pronunciada acumulación de cadmio en el hígado y los riñones; estos órganos juntos contienen la mitad de la carga corporal de cadmio.

La concentración en la corteza renal es cerca de 10 veces mayor que la del hígado y cerca de 10 000 veces más elevada que la de la sangre total. Los riñones se consideran el órgano crítico y se estima que el 10 % de la población humana sufrirá daños en ellos, debido a concentraciones en la corteza renal por encima de 180 mg/kg. El tiempo de vida media es de 20 años, aunque algunos reportan de 8 a 14 años.

**Monitoreo biológico.** En relación con las propiedades acumulativas del cadmio y especialmente en el órgano crítico, es de vital importancia la vigilancia en la población de riesgo y la evaluación de los niveles de exposición aceptables. En trabajadores recientemente expuestos, la concentración de cadmio en la sangre se incrementa de forma lineal hasta alcanzar un nivel máximo después de 4 meses. El cadmio en la sangre indica la exposición en evolución. Al comienzo del período de exposición la influencia de la carga corporal es mínima, pero esta se incrementa con la acumulación del metal en los tejidos.

El cadmio en la orina está influenciado por la carga corporal. Durante la exposición prolongada la concentración en este medio se incrementa lentamente, en proporción con la cantidad acumulada en el organismo.

La excreción de cadmio es proporcional a la concentración de este en los riñones. Existe una relación estrecha entre el cadmio en la orina y la prevalencia de daños tubulares renales. Una concentración en la orina de 5 µg/g de creatinina corresponde a una concentración de cadmio en los riñones aproximadamente de 150 mg/kg. En niveles de este metal en la orina (5 a 10 µg/g de creatinina) la prevalencia de daños tubulares es del 5 al 20 %. El nivel biológico de cadmio se ve afectado por el hábito de fumar, el envejecimiento (debido a la acumulación en el organismo) y el sexo.

En la población general y en trabajadores moderadamente expuestos al cadmio, la excreción urinaria, cuando se toma el valor promedio del grupo, es un verdadero indicador de la carga corporal y se correlaciona mejor con el tiempo de exposición que el cadmio en la sangre.

La determinación de cadmio en la orina no es apropiada para indicar la carga corporal, incluso se pueden ver casos en que la intensidad de la exposición sea tan elevada que la fracción de cadmio en la orina, en equilibrio con la carga corporal, se convierte en algo de poca importancia en comparación con el que se absorbe.

Después de una exposición prolongada la capacidad de almacenamiento de los riñones rebasa las posibilidades, ya que el metal no puede retenerse en lo adelante

en ese órgano, se excreta rápidamente cuando la capacidad de los riñones para reabsorber y/o almacenar el metal está comprometida por lesiones renales, debido al mismo cadmio. Esta última situación se asocia con un incremento de la eliminación del metal en la orina y un decrecimiento gradual de su concentración en los riñones; en estas condiciones la influencia de la absorción reciente de cadmio en la orina puede ser mayor que la carga corporal.

La determinación de metalotioneína en la orina suministra una información similar a la explicada del cadmio en la orina de trabajadores. La determinación de  $\beta 2$  microglobulina en la orina se utiliza como biomarcador de efecto; esta es una proteína de bajo peso molecular y su excreción puede estar inducida por el cadmio. En un estudio de 42 trabajadores expuestos, se observó un incremento de 30 veces la  $\beta 2$  microglobulina, comparado con cinco veces en el caso de la albúmina, la transferrina y la IgG.

**Toma de la muestra y conservación.** La toma de la muestra se realiza en cualquier momento, debido a que el cadmio se acumula en el organismo.

**Valores de referencia:**

- Cadmio en la sangre de fumadores:
  - $<0,5 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ .
  - $4\text{-}5 \mu\text{g}/\text{L}$ .
- Cadmio en la sangre de no fumadores:
  - $0,2\text{-}0,8 \mu\text{g}/\text{L}$ .
  - $0,13\text{-}0,91 \mu\text{g}/\text{L}$ .
- Cadmio en la orina de no fumadores:
  - $<2 \mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina.
  - $0,1\text{-}0,7 \mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina.
  - $0,21\text{-}1,13 \mu\text{g}/\text{L}$ .
- $\beta 2$  microglobulina en la orina:  $100 \mu\text{g}/\text{L}$ .

**Niveles de acción biológica:**

- Cadmio en la orina:
  - $10 \mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina.
  - $5 \mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina.
- Cadmio en la sangre:
  - $1 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ .
  - $10 \mu\text{g}/\text{L}$ .

*Cobalto*

Es un metal que se encuentra en la minería y la refinera, así como en numerosos procesos industriales, la producción y el empleo de metal carburo; es esencial para

los humanos como parte de la molécula de vitamina B12, también se requiere como cofactor en:

- La conversión del ácido metilmalónico o ácido succínico.
- La síntesis de la metionina.
- La producción de derivados de metionina en el metabolismo de la purina y la síntesis de folato.

La deficiencia de cobalto conduce al metabolismo anormal de los lípidos, la anemia megaloblástica y a la neuropatía.

La concentración en suelo es de 1 a 40 µg/kg y su ingestión diaria en los alimentos es de 5 a 45 µg/día. La exposición ocupacional ocurre durante la producción de metales pesados de cobalto, tungsteno y carburo, algunas veces en combinación con otros metales raros, como el titanio y el tantalio. La exposición no ocupacional se debe a implantes quirúrgicos y prótesis dentales, así como al contacto con objetos metálicos tales como joyería.

**Vía de entrada, distribución, biotransformación y eliminación.** La absorción de cobalto por la comida es del 30 al 40 %, también se inhala en forma de humos y aerosoles de compuestos solubles, así como por polvos que lo contienen. Aproximadamente el 30 % de cobalto inorgánico inhalado se absorbe en los pulmones y su concentración en sangre crece con rapidez. La absorción dérmica de cobalto metal y sus sales es mínima.

La mayor parte de cobalto absorbido se elimina rápidamente por la orina; algunos datos indican que una pequeña fracción de cobalto absorbido permanece en el organismo durante meses.

En el plasma, el cobalto se une fundamentalmente a una proteína: la α<sub>2</sub> macroglobulina y la albúmina. Existe una carga corporal de cobalto de 1,1 mg: el 43 % en músculos y el 14 % en huesos. La mayor cantidad de cobalto se excreta entre las primeras 24 y 48 h.

**Monitoreo biológico.** Los niveles de cobalto en sangre y orina se ven aumentados en la exposición ocupacional y esencialmente en la orina. La excreción de cobalto indica ante todo la exposición durante el período justo antes del tiempo de muestreo. Se ha demostrado que hay un incremento continuo en los niveles urinarios de cobalto durante la semana de trabajo. Si se compara la concentración de cobalto en la orina, antes y después de la jornada diaria de trabajo, es posible obtener información de la intensidad de la exposición.

La eliminación urinaria es rápida, así como el intercambio con los almacenes corporales, por lo que su determinación en este fluido refleja exposición reciente. El incremento de cobalto en la orina, según la exposición, es mayor que en la sangre, por lo que se recomienda su utilización.

La exposición a concentraciones de 2,5 a 105  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , en la industria de metales pesados, se correlaciona bien con la concentración en la orina al final de la jornada laboral del día lunes. Después de 4 semanas de vacaciones los valores retornan a los de referencia, por lo cual se piensa que hay alguna acumulación cuando se trabaja de forma continua.

**Toma de muestra y conservación.** Las muestras de orina deben colectarse al comienzo del primer día de trabajo de la semana, como un índice de la exposición previa y al final de la primera jornada para evaluar la exposición en el día. También se hará al final de la última jornada de la semana para evaluar la exposición semanal.

El recipiente de la toma de la muestra debe ser de polipropileno, lavado con ácido y abierto el tiempo mínimo requerido para la recolección. Se debe acidificar la orina con ácido nítrico (10 ml/L) y almacenar a 4 °C no más de una semana, o a -20 °C si se requiere más tiempo.

**Valor de referencia:**

- Cobalto en la orina: <2  $\mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina.

**Niveles de acción biológica:**

- Cobalto en la orina:
  - 30  $\mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina.
  - 15  $\mu\text{g}/\text{L}$  (final de la última jornada semanal).
- Cobalto en la sangre: 1  $\mu\text{g}/\text{L}$  (final de la última jornada semanal).

*Cromo*

El cromo existe en el medio ambiente de forma elemental y en estados de oxidación +3 y +6. Los efectos de los dos estados de oxidación son diferentes, por lo que se consideran de forma individual. La forma trivalente es un nutriente esencial para el hombre (en cantidades de 50 a 200  $\mu\text{g}/\text{día}$ ) y poseen gran importancia en el mantenimiento del metabolismo normal de la glucosa.

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Los compuestos de cromo pueden absorberse a través de las vías respiratorias o la piel. Los compuestos de  $\text{Cr}^{+6}$  solubles en agua se absorben mucho más fácil que las formas insolubles de  $\text{Cr}^{+3}$ . El cromo inhalado es atrapado por el tejido pulmonar, si se encuentra en forma de pequeñas partículas dentro del rango respirable (entre 1 y 5  $\mu$ ).

Los cromatos solubles ( $\text{Cr}^{+6}$ ) se absorben con rapidez a través del epitelio alveolar, de los bronquios pasan a la circulación, donde una parte se acumula preferencialmente en los eritrocitos y otra parte se excreta a través de los riñones. Las formas insolubles pueden permanecer en los pulmones durante más tiempo. Las partículas mayores que 5 micra (según su estado de oxidación) se mueven hacia la laringe por acción ciliar y se convierten en parte de la ingestión dietética.



La absorción intestinal de  $\text{Cr}^{+6}$  es entre 3 y 5 veces mayor que el  $\text{Cr}^{+3}$ , aunque parte del  $\text{Cr}^{+6}$  se reduce a  $\text{Cr}^{+3}$  por el jugo gástrico. Dentro de la célula, el  $\text{Cr}^{+6}$  se convierte en  $\text{Cr}^{+3}$ , que se enlaza ávidamente a las proteínas y los ácidos nucleicos. El cromo, una vez absorbido, es casi excretado por la orina, a diario se eliminan de 0,5 a 1,5  $\mu\text{g}$ , que es más o menos igual a la cantidad absorbida en una dieta promedio. Durante el ejercicio hay un aumento de la excreción de cromo en la orina hasta de 5 veces a las 2 h después de terminado este. El tiempo de vida media fluctúa entre 15 y 40 h.

**Monitoreo biológico.** Se ha encontrado que el cromo en la orina se correlaciona con la concentración en el aire cuando ocurre exposición reciente a compuestos de  $\text{Cr}^{+6}$ , y su determinación puede ser útil. También se utiliza para conocer la exposición durante la jornada y determinar su incremento, al tomar una muestra de orina al comienzo de la jornada laboral y otra al final.

El nivel de cromo en sangre no expresa su contenido total en los tejidos, excepto después de una carga de glucosa que induce inmediatamente un incremento en el plasma y en el nivel de orina. El  $\text{Cr}^{+6}$  se incorpora a los eritrocitos, por lo que el monitoreo de cromo en ese medio puede ser un indicador útil de exposición a  $\text{Cr}^{+6}$ , pero no al  $\text{Cr}^{+3}$ .

**Toma de la muestra y conservación.** La muestra de orina debe tomarse al final de la jornada y al final de la semana de trabajo, o como en el caso ya descrito, antes y después de la jornada laboral. Se debe coleccionar en frasco de polietileno y transportarse en frío. Se guarda a 4 °C o en congelación, si no se va a analizar en el momento.

**Valores de referencia:**

- Cromo en suero y plasma:
  - 0,2-70  $\mu\text{g}/\text{L}$ .
  - 0,1  $\mu\text{g}/\text{L}$ .
- Cromo en suero: 0,052-0,156  $\mu\text{g}/\text{L}$ .
- Cromo en eritrocitos: 5-54  $\mu\text{g}/\text{L}$ .
- Cromo en la orina:
  - <1  $\mu\text{g}/\text{día}$ .
  - 1,8-11  $\mu\text{g}/\text{L}$ .
  - <5  $\mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina.
  - 0,1-0,5  $\mu\text{g}/\text{L}$ .
  - 0,104-0,52  $\mu\text{g}/\text{L}$ .
  - 0,092-0,46  $\mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina.

Los valores fluctúan según el método analítico y su control de calidad.

**Niveles de acción biológica:**

- Cromo en la orina:
  - 30  $\mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina.
  - 10  $\mu\text{g}/\text{g}$  de creatinina (incremento durante la jornada) ( $\text{Cr}^{+6}$ ).

- 30 µg/g de creatinina (final de la última jornada de la semana) (Cr<sup>+6</sup>).
- 50 µg/L.

## Manganeso

Es un elemento traza importante en el organismo del hombre, necesario para la formación del tejido conectivo y de los huesos, así como para el crecimiento, el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos, el desarrollo embriogénico del oído interno y la función reproductiva; su requerimiento diario se estima en cerca de 3 mg.

Existen compuestos orgánicos de manganeso, entre ellos el antidetonante que se utiliza en la gasolina, como el metilciclopentadienil manganeso tricarbonilo, el fungicida maneb y el catalizador y agente secante, manganeso estearato.

El óxido de manganeso (+4) es el más importante desde el punto de vista de su acción tóxica, aunque en la literatura no se reporta en muchos casos el compuesto de manganeso que causa el efecto descrito, por lo que no se harán diferenciaciones y se estudiará el manganeso en general.

**Vía de entrada, distribución, biotransformación y eliminación.** La vía de absorción principal es la respiratoria, aunque se sabe poco de este mecanismo. Se piensa que el manganeso se transporta lenta y continuamente de los pulmones a la sangre. La absorción a través de la piel parece ser importante para el manganeso inorgánico, aunque los compuestos orgánicos pueden absorberse por esta vía, entre ellos el metilciclopentadienil manganeso tricarbonilo.

El manganeso se transporta en la sangre unido a la β-1-globulina, más fácil que a la transferrina, y se distribuye a través del cuerpo humano. Su contenido en eritrocitos es cinco veces mayor que en el plasma. Se concentra en tejidos ricos en mitocondrias y la concentración más elevada se encuentra en el hígado, el páncreas y el intestino delgado. Cerca del 43 % del total acumulado en el cuerpo se encuentra en los huesos; puede atravesar la barrera hematoencefálica y la placenta.

La biotransformación del manganeso parece estar unida al metabolismo del hierro; su vida media es de 30 h, pero en trabajadores expuestos durante mucho tiempo es de 15 h, del 95 al 98 % del manganeso absorbido se elimina a través de la bilis por las heces fecales y del 1 al 3 % se elimina por la orina.

**Monitoreo biológico.** Puede emplearse la determinación de manganeso en heces fecales, pues esta es su principal vía de eliminación y representa tanto el manganeso reabsorbido en el tracto gastrointestinal, como el manganeso eliminado activamente por el organismo, pero no existe una correlación significativa entre exposición y concentración fecal. Algunos autores consideran que valores por encima de 6 mg/100 g de heces son un signo de exposición ocupacional.

Las concentraciones de manganeso en sangre no han demostrado correlaciones significativas con la exposición al metal, aunque algunos autores lo consideran

de algún valor en la intoxicación crónica y otros estiman que es útil para evaluar grupos, pero no individuos aislados.

El indicador de exposición más utilizado es la determinación de manganeso en la orina, aunque se recomienda después del tratamiento con quelantes (ácido etilendiamino tetracético [EDTA]). Los niveles encontrados no se correlacionan con el grado de toxicidad. Esta determinación tiene el riesgo de que aparezcan resultados falso-positivos y falso-negativos, debido a factores asociados al control de la calidad en el análisis de laboratorio y también a enfermedades o estados biológicos no asociados.

Los niveles normales de excreción de manganeso por la orina muestran grandes diferencias entre los investigadores que han realizado estos estudios, debido posiblemente a diferencias en el método analítico utilizado para su determinación. Los niveles de manganeso en sangre total, medidos por espectrofotometría, son cerca de 10 veces más elevados que los obtenidos por activación neutrónica y absorción atómica. El contenido de manganeso en heces fecales difiere mucho de persona a persona, por lo que debe utilizarse en evaluaciones de grupos y no de individuos.

Los estudios realizados en otros medios, como el cabello, son contradictorios y algunos mantienen que el manganeso en este medio depende de su pigmento y del contenido de melanina. Hasta el momento no se ha encontrado una asociación directa entre la concentración de manganeso en materiales biológicos y la gravedad de la intoxicación, tampoco existen evidencias de que un medio sea mejor que otro para el monitoreo biológico.

Tomando en consideración lo antes expuesto, algunos autores proponen el monitoreo biológico con reservas y como valores relativos e indican la realización de un examen neurológico periódico como método preventivo del "manganesismo" crónico.

**Toma de muestra y conservación.** La muestra de orina debe tomarse directamente en un frasco plástico o de vidrio. Para mayor precisión se recomienda la recolección de la orina de 24 h. La muestra debe guardarse en congelación hasta su utilización.

La muestra de sangre se toma luego de limpiar bien la zona de la punción, con alcohol etílico al 70 %. Se debe usar sal potásica del EDTA como anticoagulante. Las agujas de acero para realizar la punción pueden aumentar en el 10 % el nivel de manganeso.

**Valores de referencia:**

- Manganeso en sangre total:
  - < 20 µg/L.
  - 9 µg/L.
  - 12,2 µg/L.
  - 40 µg/L.
  - <20 µg/L.
- Manganeso en la orina:
  - <3 µg/L.

- 1 µg/g de creatinina.
  - <3 µg/g de creatinina.
  - 20 µg/L.
  - 0,65 µg/L.
  - <10 µg/L.
- Manganeseo en las heces fecales:
- 1,6 mg/100 g.
  - 4,1 mg/24 h.

**Niveles de acción biológica:**

- Manganeseo en la orina:
- 40 µg/L (tentativo).
  - 50 µg/g de creatinina.
  - 80 µg/g de creatinina.
  - 50 µg/L.
- Manganeseo en la sangre:
- 1 µg/100 mL.

*Mercurio*

El mercurio se encuentra en diferentes estados físicos que tienen propiedades químicas intrínsecas y requieren una evaluación toxicológica independiente.

**Vía de entrada, distribución, biotransformación y eliminación.** *Mercurio metálico.* El 80 % de la absorción de los vapores de mercurio metálico se efectúa fundamentalmente a través de las vías respiratorias. El mercurio metálico líquido se absorbe mal por el tubo digestivo (probablemente no llegue al 0,01 % de la dosis ingerida). En forma líquida puede absorberse por la piel, pero no se conoce con exactitud en qué proporción.

El mercurio metálico se oxida a mercurio (+2) en los eritrocitos, aunque parte de él continúa disuelta en la sangre con tiempo suficiente para que se transporte hasta el cerebro y la placenta, que es donde se acumula debido a su elevada solubilidad en grasas y a su elevada difusibilidad, también se acumula en los riñones. Otros órganos y tejidos muestran la presencia de mercurio, pero en menor cantidad, como la piel, el cabello, el hígado, las glándulas salivales, los testículos y los intestinos. Los pulmones quedan libres rápidamente del mercurio, no así los demás órganos. La acumulación ocurre durante más tiempo en el cerebro, los riñones y los testículos. La vida media varía de pocos días a varios meses.

La eliminación es mayor por la orina y las heces, y se excreta en su mayor parte dentro de los 60 días después de la exposición. Existen otras vías de eliminación como la respiratoria, el sudor, la saliva y el cabello, pero son de menor importancia en la salud ocupacional.

**Compuestos inorgánicos de mercurio.** El mercurio inorgánico inhalado se deposita en el tracto respiratorio y se absorbe a una velocidad que depende del tamaño de la partícula. Al pasar a la sangre se distribuye en la misma proporción entre el plasma y los eritrocitos, se une a proteínas plasmáticas y a grupos sulfhidrilos.

La distribución en el organismo se realiza de forma variable, según la dosis y el tiempo de exposición. Gran parte del mercurio inorgánico absorbido queda depositado en los riñones y el resto va hacia otros órganos que sirven de depósito, como el hígado, el tracto gastrointestinal, la piel, el bazo y los testículos. La afinidad del mercurio por el riñón se debe a la presencia de una proteína con bajo peso molecular -la metalotio-neína- que tiende a unirse de forma activa a este metal.

Las sales inorgánicas se diferencian del mercurio metálico en que prácticamente no atraviesan la barrera cerebral. Pueden ocurrir varias biotransformaciones como la reducción del  $Hg^{+2}$  a mercurio metálico y la metilación. La eliminación de mercurio inorgánico ocurre sobre todo por las heces fecales y, en segundo lugar, por la orina. La vida media se ha determinado en 42 días para el 80 % de lo absorbido, pero no se ha determinado el tiempo para el 20 % restante (probablemente sean años).

**Compuestos orgánicos de mercurio.** Pueden entrar fácilmente al organismo por las vías respiratoria, digestiva y dérmica. Cuando están presentes en los alimentos y el agua, se absorbe casi en su totalidad por la vía digestiva; toda vez absorbidos se concentran en los eritrocitos (90 %). Se unen por medio de los grupos sulfhidrilos a otras sustancias orgánicas, como los aminoácidos, la peptina, la cistina y el glutatión.

Por su solubilidad en las grasas, los compuestos orgánicos de mercurio atraviesan las membranas biológicas y pasan fácilmente la barrera hematoencefálica y la placenta. Se acumulan en el cerebro y mantienen una concentración elevada en sangre. En el caso del metilmercurio la mayor parte se concentra en el hígado y el cerebro (50 y 10 %, respectivamente).

Gran cantidad de mercurio orgánico absorbido sufre una desmetilación y se transforma en un compuesto inorgánico, que da origen a elevada concentración en los riñones y el hígado. Este proceso es más fácil en el caso de los alcoxialquimercuriales y los arilmercuriales, pero en el caso del metilmercurio este compuesto es muy estable y resistente a la biotransformación.

La eliminación fundamental es por las heces fecales; en relación con el metilmercurio, el 90 % se elimina por esta vía. La vida media de los compuestos orgánicos se ha calculado de 100 a 190 días. En general, los compuestos mercuriales no tienen bien establecida la vida media biológica; la duración media de la eliminación de mercurio quizás no represente un indicador fidedigno de la acumulación mercurial en órganos concretos, ya que la velocidad con que se elimina parece variar de un órgano a otro. Según lo señalado, la concentración de mercurio en el cerebro de un individuo puede

llegar hasta los 10 años de haber cesado la exposición, lo cual sugiere que este órgano no sigue la misma cinética de eliminación que el conjunto del organismo.

**Monitoreo biológico.** La mayor parte de las formas de mercurio se elimina por la orina y las heces. En la exposición prolongada al vapor de mercurio la excreción urinaria es ligeramente mayor que la fecal; son frecuentes las grandes fluctuaciones individuales de la excreción diaria de mercurio, incluso en las mismas condiciones de exposición. No se dispone de datos que muestren que ni aun en exposición en ambientes pequeños, las concentraciones de mercurio en la orina sean buenos indicadores de la exposición individual. Con el metilmercurio la concentración por la orina no es apropiada, debido a su eliminación casi completa por las heces.

Las determinaciones de mercurio en la sangre y la orina se utilizan para evaluar la exposición a vapor de mercurio metálico, y no existen indicios de que puedan utilizarse para otras formas. En estudios de ambiente laboral se ha demostrado que a nivel de grupo existe una relación casi lineal entre la concentración urinaria y la concentración atmosférica media de mercurio, ponderada en el tiempo. Hay reportes que recomiendan la introducción del análisis de mutación de células somáticas en el examen médico periódico de trabajadores expuestos a vapores de mercurio; sobre la base de lo antes expuesto puede decirse que:

- La determinación de mercurio en la sangre no es útil en compuestos inorgánicos.
- La determinación de mercurio en la sangre es útil en el caso de compuestos alquimercuriales, pues se ha encontrado correlación entre esta y la exposición reciente.
- El nivel de mercurio en la orina es importante para evaluar la exposición reciente y constante, y no parece ser útil para evaluar la exposición prolongada.
- La orina no es confiable para evaluar la exposición al metilmercurio.
- Las muestras de cabello se utilizan cada vez más para determinar en la población general la exposición a metilmercurio en la dieta, pero no se recomiendan para la evaluación ocupacional a vapores de mercurio.

**Toma de muestra y conservación.** *Mercurio en la sangre.* La muestra debe tomarse al final de la jornada y de la semana de trabajo, para su colección es necesario que la piel esté bien limpia, se recomienda utilizar agua y jabón, luego algodón impregnado con alcohol etílico al 70 %. La sangre se debe coleccionar en frascos de vidrio o polietileno, previamente lavados con ácido nítrico al 5 % sumergido durante 24 h. Se utilizará como anticoagulante solución al 10 % de sal sódica o potásica de EDTA. La sangre puede almacenarse bajo congelación.

*Mercurio en la orina.* El paciente debe cambiarse de ropa de trabajo y lavarse las manos con agua y jabón antes de coleccionar la muestra, y eliminará las primeras gotas

de orina. La muestra debe tomarse directamente en frasco de vidrio o polietileno, previamente lavado con ácido nítrico al 5% sumergido durante 24 h. Con objetivos de mayor precisión, se recomienda recolectar la orina de 24 h (si esto no es posible, puede tomarse la muestra de una micción y se aconseja efectuar la corrección de la dilución, ya sea por gravedad específica o por la creatinina). La muestra puede guardarse en refrigeración a 4 °C durante 5 días. En casos de personas que padecen diabetes, el análisis debe realizarse inmediatamente por el método de absorción atómica, pues el mercurio suele reducirse y perderse por evaporación en las técnicas analíticas que utilizan digestión de la muestra.

**Valores de referencia.** En el organismo de personas no expuestas ocupacionalmente las concentraciones de mercurio encontradas en los adultos son las siguientes:

- Mercurio en la sangre:
  - 5 µg/L.
  - <2 µg/dL.
  - 1 µg/dL.
  - <1 µg/100 mL.
- Mercurio en la orina:
  - 0,5 µg/L.
  - 16 µg/L.
  - <10 µg/L.
  - <5 µg/g de creatinina.
- Mercurio en el cabello: 5 µg/g.

### **Niveles de acción biológica:**

#### 1. Mercurio en la sangre:

- Para compuestos inorgánicos:
  - 3 µg/100 mL.
  - 2 µg/100 mL.
- Para mercurio inorgánico total:
  - 10 µg/L (final de la última jornada de semana).
- Para metilmercurio:
  - 10 µg/100 mL (aparecen signos precoces de intoxicación a los 20 µg/100 mL).

#### 2. Mercurio en la orina:

- Para mercurio metálico e inorgánico:
  - 30 µg/g de creatinina.
  - 100 µg/g de creatinina.
- Para mercurio inorgánico total:
  - 35 µg/g de creatinina (antes de comienzo de la jornada).

## Níquel

El níquel es un metal ubicuo que existe en los suelos en concentraciones de entre 3 y 1 000 mg/kg, en el agua de 2 a 10 µg/L y en la atmósfera –en áreas remotas– la concentración es menos de 0,1 a 3 mg/m<sup>3</sup>. En las minas se encuentra en forma de sulfuro de níquel y de lateritas.

Los compuestos de níquel como el carbonato, el sulfuro y el óxido son insolubles en agua, mientras que el cloruro, el sulfato y el nitrato son solubles. Existe también un compuesto orgánico: el carbonato de níquel que es un líquido incoloro volátil; su descomposición ocurre a temperaturas por encima de 50 °C.

**Vía de entrada, distribución, biotransformación y eliminación.** El níquel puede entrar al organismo por la vía inhalatoria o la piel. También penetra por la vía digestiva a mediante los alimentos y forma parte del organismo en concentraciones del 3 al 23 % del peso corporal. Cuando penetra por la vía inhalatoria, los compuestos solubles y el carbonilo de níquel se absorben fácil después de la inhalación.

Se distribuye a través del organismo y aun al feto, independientemente de la vía de entrada. El níquel<sup>+2</sup> soluble entra a los organelos extracelulares. En sangre total puede alcanzar una concentración de 13,8 µg/100 mL, en el plasma (4,7 µg/100 mL) y en suero hasta 12 µg/100 mL.

Se transporta en el plasma unido a un tripéptido N-terminal de albúmina y a otras proteínas como la α-2-macroglobulina. La fracción ultrafiltrable con bajo peso molecular es del 40 % en el hombre, e incluye el níquel unido a los aminoácidos, especialmente histidina y ácidos pépticos. En los riñones, los ligandos incluyen fragmentos acídicos de glucosaminoglicano.

El carbonilo de níquel se ha encontrado en mayor concentración en los pulmones. El níquel insoluble puede acumularse en el tracto gastrointestinal, y en órganos y tejidos varía de forma sustancial en diferentes estados patológicos. En personas que sufren reumatismo, el contenido de níquel en los eritrocitos y el plasma es más elevado que en personas que no lo padecen; asimismo, aumenta en personas que padecen tumores malignos.

Este metal que entra al organismo mediante la dieta, se elimina por las heces y en el 10 % por la orina. El níquel absorbido que no se acumula en el tejido, se excreta por la orina. La eliminación máxima ocurre en los primeros 3 días; en menor grado se excreta por el sudor y la bilis. El tiempo de vida media para los compuestos insolubles del níquel es de 30 a 50 horas.

**Monitoreo biológico.** Algunos autores han demostrado que la concentración de níquel en el plasma y la orina es un indicador de exposición reciente a sus compuestos solubles. En estudios realizados los niveles del plasma y de la orina fueron más



elevados en las muestras tomadas al final de la jornada laboral, y existió una buena correlación con la concentración en el aire.

Se ha recomendado el níquel en plasma como un indicador mejor que en la orina, porque fluctúa menos, aunque en general para los propósitos de vigilancia ocupacional es recomendable la orina, por ser menos engorrosa la toma de la muestra. Si la exposición es a polvo de níquel, aleaciones o compuestos poco solubles o insolubles de níquel, su concentración en la orina manifiesta la influencia combinada de exposiciones recientes y la acumulación en un período prolongado.

Para efectuar una evaluación correcta de la concentración de níquel en líquidos corporales, se requieren un conocimiento adecuado de las fuentes, las vías y la duración de la exposición, además de las propiedades fisicoquímicas del compuesto de níquel que se evalúa.

Debido a que este metal se elimina por la orina durante varios días, la muestra de una sola micción indicará la exposición reciente a níquel soluble. Una muestra tomada después de la jornada laboral reflejará la exposición durante el día de trabajo y la muestra tomada antes de la jornada puede incrementarse durante la semana de trabajo y disminuir otra vez, luego del fin de semana de descanso.

**Toma de muestra y conservación.** La muestra de orina se debe tomar de acuerdo con el momento de exposición que se quiera evaluar, según se ha explicado antes, aunque se puede orientar la toma de la muestra al final de la jornada laboral en los cuarto a sexto días de labor. Se recogen las muestras en frascos de polietileno, se transporta en recipientes con hielo y se conserva a 4 °C o en congelación (-18 °C), si se va a guardar por más tiempo.

**Valores de referencia:**

- Níquel en la orina de 24 h:
  - 0,7-5,2 µg/L.
  - 0,5-6,4 µg/L.
- Níquel en la orina (una sola micción):
  - 0,5-6,1 µg/L.
  - 0,5-8,8 µg/L (1,024 sp/g).
  - <5 µg/L (1,018 sp/g).
  - 0,4-6,0 µg/g de creatinina.
- En el suero:
  - 0,1-0,6 µg/L.
  - <0,05-1,0 µg/L.
- En el plasma:
  - 0,2-0,4 µg/dL.
  - <1 µg/dL.

- En sangre total:
  - <0,05-1,05 µg/L.

#### **Niveles de acción biológica:**

- Níquel en la orina:
  - 70 µg/g de creatinina.
  - 150 µg/L.
  - 30 µg/g de creatinina (compuestos solubles).
  - 70 µg/L (1,018 sp/g) (gravedad específica).
- Níquel en el plasma:
  - 10 µg/100 mL.
  - 0,7 µg/dL.
  - 1 µg/100 mL (compuestos solubles).

#### *Plomo*

Existe en estado natural en depósitos minerales; sus compuestos pueden encontrarse en formas inorgánicas y orgánicas y entre estas últimas, los compuestos alquílicos de plomo. Existen diferencias entre los compuestos orgánicos e inorgánicos en cuanto a la toxicocinética, por lo que se estudiarán por separado.

**Vía de entrada, distribución, biotransformación y eliminación.** Compuestos inorgánicos de plomo. La inhalación y la ingestión son las principales vías de entrada de estos compuestos al organismo. Aproximadamente el 40 % de los humos inhalados de óxido de plomo se absorbe a través del tracto respiratorio, esta absorción depende del tamaño de la partícula y de la solubilidad del compuesto. Del 5 al 10 % de plomo ingerido se absorbe en el tracto gastrointestinal. Las deficiencias de hierro y calcio y las dietas abundantes en grasas pueden incrementar la absorción gastrointestinal de plomo.

El plomo se une fundamentalmente a los eritrocitos y la fracción que se une al plasma se distribuye al cerebro, hígado, riñones, piel y músculo esquelético. El hueso es el mayor depósito y se incorpora en este de la misma forma que el calcio. En los huesos densos el plomo se moviliza lentamente, con el tiempo esta movilización se incrementa de forma gradual.

Dentro de la célula el plomo se une al grupo sulfidrido e interfiere en numerosas enzimas celulares, entre las que se incluyen aquellas que participan en la síntesis del hemo. Este enlace es importante para el mecanismo que explica la existencia de plomo en el cabello y las uñas. El plomo también se une a la membrana mitocondrial e interfiere con la síntesis de la proteína y el ácido nucleico.

La excreción es lenta, primeramente, a través de los riñones; otras vías de eliminación son las heces fecales, el sudor y la exfoliación epidérmica. La vida media del plomo es larga (de 5 a 10 años) varía con la intensidad y duración de la exposición y

la carga corporal acumulada. Las enfermedades de los huesos como la osteoporosis y las fracturas pueden incrementar la liberación de plomo almacenado y provocar aumento del nivel de plomo en la sangre.

*Compuestos alquílicos de plomo.* El tetraetilo y el tetrametilo de plomo son compuestos alquílicos que se producen en la industria en cantidades importantes. Hasta el momento no se tiene una información amplia de la absorción de los alquilos de plomo en el tracto gastrointestinal. Se sugiere que los tetralquilos podrían convertirse en trialquilos en secreciones gástricas ácidas, y se espera que los compuestos trialquílicos se absorban fácilmente en el tracto gastrointestinal. De la dosis inhalada, el tetraetilo se absorbe aproximadamente el 37 % y el tetrametilo, 51 %. La absorción dérmica es una vía significativa de exposición, pues ambos compuestos se absorben de forma rápida, aunque el tetrametilo es más lento que el tetraetilo; una vez absorbidos, se transportan rápidamente por la sangre y se distribuyen en todo el organismo.

A diferencia de los compuestos inorgánicos de plomo, los alquilos se transportan en mayor fracción en el plasma, sin embargo, el trimetilo de plomo atraviesa rápidamente la membrana de eritrocitos humanos intactos *in vitro* y forma complejos con el glutatión eritrocitario.

En experimentos realizados una hora después de la inhalación de tetraetilo de plomo, el 50 % del compuesto marcado se encontraba en el hígado, el 5 % en los riñones y el resto disperso por todo el organismo.

Los compuestos de tetralquilo sufren dealquilación oxidativa a trialquilos de plomo poco después de su absorción, por lo que se consideran las verdaderas formas tóxicas de dichos compuestos. La excreción de los tetralquilos puede ocurrir en los pulmones (del 20 al 40 %) durante las 48 h siguientes a la exposición. La excreción por la orina es mayor para el tetraetilo de plomo que para el tetrametilo, y puede excretarse en forma de trietilo (10 %) y de plomo inorgánico. Otra vía de excreción es a través de las heces fecales. El tiempo de vida media del plomo alquílico se piensa que sea de 300 a 500 días.

**Monitoreo biológico.** La concentración de plomo en sangre es el indicador biológico más apropiado para utilizarse en las evaluaciones de exposición al plomo inorgánico, tanto en la población laboral como en la población general. Es un indicador de equilibrio entre la cantidad de metal absorbida, la que se transporta por la sangre y la que se deposita en los tejidos, además, es un buen indicador de exposición reciente, siempre que esta haya sido estable, ya que puede modificarse con exposiciones eventuales a elevadas concentraciones.

El plomo en la orina es menos recomendado para monitoreo en la exposición al plomo inorgánico, pues no parece existir buena correlación entre la concentración en la orina y la concentración en la sangre. Se considera útil para los compuestos orgánicos de plomo (tetraetilo y tetrametilo), estos se filtran fácilmente por los riñones, también

se aconseja la determinación de plomo en la orina como un indicador para evaluar la efectividad del tratamiento con quelantes en los intoxicados.

El ácido deltaamino levulínico en la orina (ALA-O) es uno de los indicadores más útiles para el diagnóstico precoz de la intoxicación por plomo. El aumento de su excreción en la orina empieza cuando la concentración de plomo en sangre alcanza niveles de 40 µg/dL; es útil, por tanto, cuando las concentraciones de plomo están por encima de este nivel y para exposiciones recientes, ya que retorna rápidamente a niveles normales cuando cesa la exposición.

La determinación cuantitativa de coproporfirina en la orina, aunque es un método de baja sensibilidad y especificidad, se emplea mucho en la práctica y sus resultados se consideran tan buenos como los obtenidos por la determinación de ALA-O. Puede incrementarse en casos de porfiria cutánea tardía, enfermedades hepáticas, anemias hemolíticas, enfermedades sanguíneas malignas, enfermedades infecciosas y consumo de alcohol.

La determinación de la actividad de la enzima ácido deltaaminolevulínico dehidrasa (ALA-D) es el método más indicado para el diagnóstico preclínico precoz, y es muy sensible para detectar casos subclínicos. Su sensibilidad es satisfactoria hasta concentraciones de plomo en la sangre de 60 µg/dL, y no es útil para el diagnóstico en etapas clínicas de la intoxicación. Se emplea para averiguar la exposición en un pasado reciente, puesto que la enzima permanece inhibida durante un tiempo, después que la exposición ha cesado.

La determinación de protoporfirinas eritrocitarias es un indicador excelente de la exposición prolongada; es útil después de un mes de exposición y refleja la carga total corporal. Este indicador puede estar elevado en casos de anemia ferropénica, al igual que el ALA-O y las coproporfirinas en los casos de porfirias.

La zincprotoporfirina (ZPP) se considera un buen indicador para la detección precoz, este valor va a estar directamente relacionado con el valor de plomo en la sangre que la persona haya tenido en un tiempo, y oscila entre 120 y 130 días antes, que es la vida media del eritrocito, pues la protoporfirina se acumula en este en forma de complejo con el zinc.

El biomarcador pirimidine-5'-nucleotidasa (P5N) puede emplearse como valor diagnóstico para la intoxicación y es sensible a partir de valores de plomo en la sangre de 60 µg/dL.

**Toma de las muestras y conservación.** *Plomo en la sangre.* La muestra debe tomarse con material de cristal, previamente lavado con solución de ácido nítrico al 5 %, sumergido durante 24 h. El momento de la toma de la muestra no es importante. Se guarda en refrigeración a 4 °C durante 3 días o en congelación durante una semana.

*Plomo en la orina.* Se debe recoger preferentemente la orina de 24 h y guardarla en frascos de polietileno, previamente descontaminados con ácido nítrico al 5 %, sumergidos durante 24 h. Se guardan en refrigeración a 4 °C durante 3 días.

*Ácido deltaaminolevulínico en la orina.* La muestra se puede tomar cualquier día de la semana (en frasco de vidrio o polietileno), al menos después de 15 días de exposición. El análisis se realiza el mismo día de la toma de la muestra.

*Ácido deltaaminolevulínico dehidrasa en eritrocitos.* Se toma la muestra de sangre en ayunas y se comienza a analizar antes de que pasen 2 horas.

*Coproporfirina urinaria.* Se debe tomar preferentemente al final de la jornada laboral y guardarla en frasco de polietileno o de vidrio ámbar.

*Protoporfirina libre eritrocitaria y zinc protoporfirina.* La muestra debe tomarse, al menos, después de un mes de trabajo y conservarla en congelación durante 15 días.

**Valores de referencia:**

- Plomo en la sangre (µg/dL):
  - 10-20.
  - <35.
  - <30.
- Plomo en la orina:
  - <80 µg/dL.
  - <50 µg/g de creatinina.
  - <600 µg/24 h.
- ALA-O:
  - <4,5 mg/g de creatinina (población urbana).
  - <2 mg/g de creatinina (población rural).
- Protoporfirina libre eritrocitaria:
  - <75 µg/100 mL hematíes.
  - 30-60 µg/100 mL hematíes.
- Zinc protoporfirina:
  - <40 µg/100 mL.
  - <2,5 µg/g de Hb.
- Coproporfirina en la orina:
  - <100 µg/g de creatinina.

**Niveles de acción biológica:**

- Plomo en la sangre (µg/dL):
  - Hombre adulto: 60.
  - Mujer en edad fértil: 40.
  - Hombre: 70.
  - Mujer: 45.
- Plomo en la orina:
  - 50 µg/g de creatinina.

- 150 µg/g de creatinina (la OMS, 1980, recomienda no utilizar este indicador para fines de vigilancia para plomo inorgánico, pero señala este valor).
- <600 µg/24 h después de la aplicación de quelantes (índice de alta acumulación).
- 800 µg/g creatinina (después de la aplicación del quelante EDTA cálcico).
- 1 000 µg/24 h (después de la aplicación del quelante EDTA cálcico).
- Plomo en la orina para plomo tetraetilto:
  - 100 µg/g de creatinina.
- ALA-O en la orina:
  - 10 mg/g de creatinina.
  - 5 mg/g de creatinina.
- Protoporfirina libre eritrocitaria:
  - 300 µg/100 mL de hematíes.
  - Zinc protoporfirina (ZPP).
  - 12,5 µg/g de Hb.
  - 150 µg/100 mL.
  - 40 µg/100 mL.
  - 3 µg/g Hb.
  - 20 µg/g Hb.
- Coproporfirina:
  - 200 µg/g de creatinina.

### Vanadio

El vanadio puede entrar al organismo por la vía respiratoria, una vez absorbido pasa fácilmente al torrente sanguíneo. En un experimento a largo plazo de inhalación en conejos, el vanadio se detectó en los pulmones, el hígado y los riñones. La retención de partículas de polvo en el pulmón fue ligera, lo cual sugiere que la absorción fue rápida. Puede acumularse ligeramente en los huesos.

La ingestión diaria de vanadio mediante la dieta varía de 107 a 136 µg; en general, hay una carga corporal promedio de 25 mg; por la orina se eliminan diariamente cerca de 18 mg (5 veces más que por las heces fecales). La excreción renal es rápida (del 61 % en 24 h). El tiempo de vida media es de 20 a 40 h.

**Monitoreo biológico.** La determinación de vanadio en la orina puede realizarse para evaluar la exposición reciente, ya que se ha visto que existe correlación entre este valor y su nivel de exposición y duración.

**Toma de muestra y conservación.** En este aspecto no hay indicaciones precisas, la muestra de orina puede tomarse al final o al comienzo de la jornada laboral. En todos los casos se seguirán las instrucciones para la toma de la muestra que indique el método analítico.

**Valores de referencia:**

- Vanadio en la orina:
  - <1 µg/g de creatinina.
  - 8 µg/24 h.
  - <2 µg/g de creatinina.

**Niveles de acción biológica:**

- Vanadio pentóxido en la orina:
  - 50 µg/g de creatinina (final de última jornada de la semana).

## Plaguicidas

Los plaguicidas se definen como toda sustancia o mezcla, cualquiera que sea su composición química y sus características físicas, capaz de matar, destruir o repeler insectos, hongos, roedores, bacterias, nematodos, virus, animales depredadores, algunas aves, malas hierbas o prevenir su presencia, modificar sus daños, abatir su incidencia y en general, evitar y combatir toda clase de plagas que atacan al hombre, a los animales y a los vegetales (OMS, 1980).

Los plaguicidas se emplean preparados con un contenido determinado de un ingrediente activo (el compuesto químico puro) más otros constituyentes, lo que se conoce como formulado. La formulación de plaguicidas es el arte de preparar y presentar un producto para su uso o aplicación, sea de forma directa o mediante su dilución posterior (casi siempre con agua), con el cumplimiento de exigencias y especificaciones.

Los formulados pueden ser de distintos tipos, entre ellos se encuentran:

- Sólidos: polvo para espolvoreo, polvos solubles, polvos humedecibles, granulados y microencapsulados.
- Líquidos: líquidos solubles, emulsionables y dispersiones coloidales (flowables).
- Otros: gaseosas, aerosoles, fumígenos, tiras insecticidas, preparados inyectables, etc.

Dentro de los otros componentes que contienen estos formulados se encuentran:

- Inertes:
  - Cargas minerales como caolín, silicatos, zeolita, etc.
  - Disolventes como ciclohexanona, naftas, etc.
- Coadyuvantes: emulsionantes, humectantes, sinérgicos, estabilizantes, adherentes, fluidificantes, etcetera.

Las impurezas que contienen los plaguicidas son un factor de consideración porque afectan en algunos casos su toxicidad. Estas impurezas pueden deberse a que las

materias primas con las que se produce el plaguicida las contienen o que la impureza es debida a la tecnología de producción empleada, con resultados no deseados e inevitables y la formación de productos secundarios, ejemplo, los S-alquil isómeros en la producción de organofosforotioatos y organofosforoditioatos, la etilendiourea en la producción de los etilen-bis-ditiocarbamatos, la formación de N-nitroso alquilaminas en la elaboración de trifluralina, el  $\beta$ -carbaril en la producción de carbaril y otros. En la mayoría de los casos estas impurezas son las que les dan las propiedades tóxicas a estos productos y serán eliminadas según los adelantos tecnológicos que se introduzcan en su producción.

Desde el punto de vista de la salud, es importante el ingrediente activo, pero también los componentes que se adicionan, estos pueden modificar su toxicidad como en el caso de los polvos (silicatos y zeolita) y de los líquidos (naftas y ciclohexanona).

En cuanto a su empleo, los plaguicidas se clasifican en fungicidas, insecticidas, herbicidas, acaricida, rodenticidas, nematocidas, fumigantes, reguladores de crecimiento y otros. La clasificación según su tipo químico es la siguiente:

- Organofosforados.
- Organoclorados.
- Carbamatos.
- Tiocarbamatos y ditiocarbamatos.
- Piretroides.
- Triazinas.
- Compuestos orgánicos del estaño.
- Compuestos orgánicos del mercurio.
- Compuestos orgánicos del arsénico.
- Derivados del ácido fenoxiacético.
- Derivados del piridilo.
- Derivados del cloronitrofenol.

Esta es la clasificación más importante para evaluar un plaguicida desde el punto de vista tóxico para el ser humano que, según su estructura química, será su mecanismo de acción.

Pueden existir otros grupos químicos, se han mencionado los fundamentales. Un mismo plaguicida puede pertenecer a dos tipos distintos de plaguicidas, de acuerdo con su estructura química; además, hay otros plaguicidas que no se consideran pertenecientes a un tipo específico, y que a la hora de evaluar su toxicidad no pueden ser enmarcados dentro de ellos, sino que deben analizarse de forma individual.

En la tabla 8.2 se presenta la clasificación de los plaguicidas según su toxicidad aguda y sobre la base de los datos de dosis letal media oral y dérmica.



**Tabla 8.2.** Clasificación de toxicidad oral y dérmica

| Clase | Denominación                     | DL50 (mg/kg de peso corporal) |        |         |           |
|-------|----------------------------------|-------------------------------|--------|---------|-----------|
|       |                                  | Oral                          |        | Dérmica |           |
|       |                                  | Líquido                       | Sólido | Sólido  | Líquido   |
| Ia    | Sumamente peligroso o tóxico     | <20                           | <5     | <10     | <40       |
| Ib    | Altamente peligroso o tóxico     | <5                            | 5-50   | 10-100  | 40-400    |
| II    | Moderadamente peligroso o tóxico |                               | <10    | <40     | 400-4 000 |
| III   | Ligeramente peligroso o tóxico   | >2 000                        | > 500  | >1 000  | >4 000    |

Fuente: OMS, 1981

Nota: los términos sólido-líquido se refieren al estado físico del producto formulado, o del ingrediente activo.

Esta clasificación es tradicional para evaluar la posibilidad de intoxicación letal o no, sobre todo por vía digestiva, también se puede evaluar su toxicidad aguda por la penetración a través de la piel (cuando se compara con la dosis letal media dérmica). Estos valores se emplean en el campo de la salud ocupacional como orientación, aunque no quiere decir que un producto que por su toxicidad aguda desciende a la clase 4 (ligeramente tóxico), no tenga acciones nocivas a largo plazo para el trabajador, que puedan provocar efectos mutagénicos, carcinogénicos u otros que requieran tomar medidas especiales con el que lo utiliza.

Los plaguicidas se llaman con los nombres comunes para facilitar su denominación y no emplear los nombres químicos largos y engorrosos. La International Standard Organization (ISO) propone las denominaciones oficiales a los plaguicidas como, por ejemplo, malathion, parathion, paraquat y otros; además, existen los nombres de los formulados dados por los productores, y con estos, se relaciona el que los manipula, tanto en la agricultura como en cualquier otro uso; un mismo ingrediente activo puede tener más de un nombre de formulados, según el productor.

A continuación, se desarrollan en particular algunos aspectos de los plaguicidas, de acuerdo con su tipo químico. No se tratarán los plaguicidas biológicos u otros.

### Organofosforados

En este grupo pueden distinguirse 10 subgrupos principales, según su estructura química:

- Fosfato: Ejemplo, el diclorvos, el mevinfos y el clorfenvinfos.

- O-alkilfosforotioato, con 2 variantes en su estructura química:
  - Ometoato, metil-S-demeton y vamidotion.
  - Cumafos, diacinnon, fenclorfos, fenitrothion, fention, paration, metil-paration y temefos.
- Fosforoditioato: Dimetoato, disulfoton, etion, malation, fentoato y formotion.
- S-alkilfosforotioato: Profenofos y trifenofos.
- A-alkilfosforoditioato: Protiofos y sulprofos.
- Fosforamidato: Fenamifos y cruformato.
- Fosforotriamidato: Triamifos.
- Fosforotioamidato: Metamidofos y isofenfos.
- Fosfonato: Triclorfon y butonato.
- Fosfonotionato: EPN (nombre genérico), leptofos y triclornat.

Estas diferentes estructuras químicas tienen influencia en el grado o nivel de la toxicidad del producto, aumentan o disminuyen la competencia con el sustrato según su estructura, para inhibir en mayor o menor grado la actividad de la enzima colinesterasa, aunque no cambia esencialmente su mecanismo de acción.

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Los plaguicidas organofosforados ingresan en el organismo por vía dérmica, respiratoria, ocular y por ingestión. Cuando el ingrediente activo se mezcla con disolventes orgánicos, se facilita la absorción del producto a través de la piel. Los plaguicidas organofosforados más conocidos, excepto el diclorvos, tienen baja presión de vapor, por lo que será menor la posibilidad de intoxicación por vía inhalatoria.

La vida media de los organofosforados y sus productos de biotransformación en el organismo es relativamente corta. Su biotransformación se hace mediante enzimas oxidasas, hidrolasas y transferasas, principalmente hepáticas.

El malation, como otros fosforotioatos, requiere activación metabólica para que se manifiesten sus efectos tóxicos agudos, esta se produce debido a la oxidación del azufre por las enzimas microsomales, con la formación del malaaxon. Más tarde, las principales reacciones de detoxificación ocurren como consecuencia de la hidrólisis de los enlaces carboxiéster, la dealquilación inespecífica de una carboxilasa tipo B del éster fosfato y la ruptura del enlace P-S por la fosfatasa. El metilparation se oxida y degrada los microsomas hepáticos. La degradación oxidativa provoca la formación de p-nitrofenol y ácido dimetilfosforotioico (Tabla 8.3).

La eliminación es rápida por la orina y en menor cantidad por las heces y el aire espirado; su máxima excreción se alcanza a los 2 días y luego disminuye rápidamente.

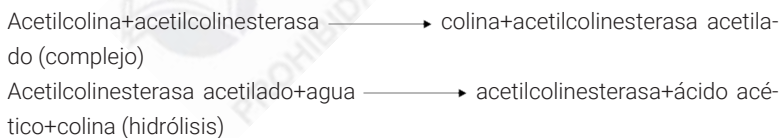
**Tabla 8.3.** Relación de algunos metabolitos formados

| Plaguicida    | Metabolito  |
|---------------|---|
| Clorpirifos   | 3,5,6-tricloro-2-piridinol                        |
| Diclorvos     | Dimetilfosfonato<br>2,2-diclorovinil metilfosfato |
| Fenclorfos    | 2,4,5-triclorofenil                               |
| Fenitroton    | 3-metiol-4-nitrofenol                             |
| Metilparation | p-nitrofenol                                      |
| Temefos       | Tiodifenol  |

**Mecanismo de acción.** Los organofosforados actúan bloqueando la enzima acetilcolinesterasa. Esta inhibición provoca acumulación de acetilcolina en la membrana posináptica, la cual es incapaz de retornar a su estado original. Según la parte del sistema nervioso donde la sinapsis se mantiene en ese estado de estimulación permanente, los síntomas pueden ser nicotínicos y muscarínicos, que, de acuerdo con la estructura química, se acentuará su acción sobre uno u otro síntoma.

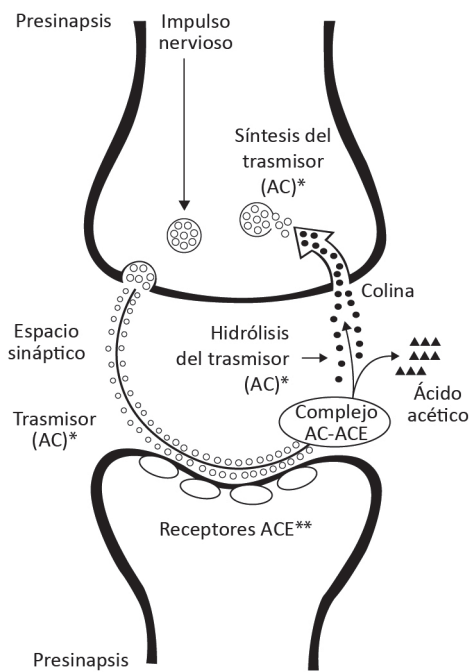
En el proceso normal, la acetilcolinesterasa provoca la inactivación de la acetilcolina y, por lo tanto, se interrumpe la trasmisión del impulso nervioso. La acción de la acetilcolina es muy corta, pues la acetilcolinesterasa hidroliza rápido la acetilcolina para convertirla en ácido acético y colina, esta última puede ser reutilizada en la síntesis de la acetilcolina, según se observa en la figura 8.1.

El proceso bioquímico normal que ocurre es el siguiente:



Los compuestos organofosforados compiten con la acetilcolina por la acetilcolinesterasa y forman con la enzima una unión que da lugar a la enzima fosforilada, la cual es relativamente estable. Las colinesterasas pueden ser de dos tipos:

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



\*: AC: acetilcolina.

\*\* : ACE: enzima acetilcolinesterasa.

Fuente: Henao, S., Corey, G. (1991). Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas. México: ECO/OPS/OMS, (Serie Vigilancia 11).

**Fig. 8.1.** Proceso fisiológico neuromuscular durante la estimulación.

**Monitoreo biológico.** El monitoreo biológico, en el caso de los compuestos organofosforados, puede realizarse mediante la determinación de la actividad de la enzima colinesterasa y de la medición en sangre o en la orina de los metabolitos formados. A continuación, se evalúa cada uno de ellos.

*Colinesterasa.* Las colinesterasas pueden presentar variaciones interindividuales hasta del 15 % en personas no expuestas a inhibidores de estas enzimas, por lo que es necesario conocer el valor previo a la exposición de cada individuo, es decir, el valor preempleo, para comparar los resultados de las determinaciones de colinesterasa después de la exposición contra este valor.

Lo ideal es realizar esta determinación, al menos en dos ocasiones, previo a la exposición, en eritrocitos y en plasma, o en caso de no ser posible en sangre total. El intervalo mejor entre las dos determinaciones es de 3 a 14 días. Si la diferencia entre

estos dos análisis es mayor que el 20 %, se recomienda hacer una tercera determinación y promediar los dos valores más próximos.

Debido a las dificultades reales que presenta la realización del análisis preempleo, se acostumbra a comparar los valores del trabajador con el rango obtenido en personas sanas y no expuestas desde el punto de vista ocupacional (media y desviación estándar), aunque es conveniente considerar que una depresión significativa del nivel enzimático individual puede ocurrir sin exceder los límites normales de la población no expuesta, por lo que siempre se prefiere hacer el análisis preempleo para conocer el valor individual.

La afinidad de los compuestos que inhiben las colinesterasas por el sistema enzimático en eritrocitos, plasma y sistema nervioso es diferente, como resultado va a existir un grado desigual de inhibición entre estos sistemas. Por esta razón el grado de inhibición de la enzima en sangre total no posee gran valor predictivo en la inhibición de la acetilcolinesterasa en el sistema nervioso, tanto en magnitud como en duración, ni dará indicios de la severidad de los cambios funcionales provocados por la inhibición de la acetilcolinesterasa en los nervios o en otros sistemas del cuerpo, o sea, puede ocurrir neurotoxicidad retardada, aun con resultados normales de acetilcolinesterasa en sangre total.

Se recomienda hacer determinaciones en eritrocitos y en plasma. La depresión de la colinesterasa eritrocitaria tiene mayor importancia que la del plasma, pues esta última indica exposición, pero no quiere decir que se separe al trabajador de su puesto de trabajo, mientras que en el caso de los eritrocitos se ha comprobado que la correlación entre toxicidad e inhibición es mayor.

En exposición ocupacional diaria a plaguicidas organofosforados, la actividad de la enzima se reduce lentamente sin que se observen síntomas, que pueden aparecer cuando la reducción de la actividad es mayor que el 50 %, pues es de gran valor la determinación de la actividad de la enzima con la frecuencia establecida en cada caso.

A la hora de evaluar los valores detectados se debe tener en cuenta que estos pueden ser modificados por muchos factores, como algunas enfermedades y otras sustancias químicas, entre ellas algunos medicamentos (Tabla 8.4). Otros factores han suscitado discrepancias entre los autores (edad, sexo, raza, estado nutricional, temperatura y variaciones estacionales), los cuales pueden modificar también la actividad enzimática.

En algunos individuos pueden existir valores normalmente bajos de la colinesterasa plasmática, posiblemente por alteraciones genéticas, los cuales se han comprobado en el 3 % de los caucásicos y en menos del 1 % en personas de la raza negra.

Las enfermedades o condiciones y tratamientos que modifican los niveles de la actividad de la colinesterasa plasmática son:

- Con disminución de la actividad:

- Enfermedad o condición: anemias crónicas, carcinoma, desnutrición, diálisis renal, enfermedades crónicas debilitantes, enfermedades del colágeno, enfermedades hepáticas (hepatitis aguda, cáncer), epilepsia, fiebre reumática, hiperpirexia, infarto de miocardio, infecciones agudas, mixedema, quemaduras, síndrome de *shock* tóxico, tetáno, tuberculosis, uremia.
  - Tratamiento: anticonceptivos orales, derivación cardiopulmonar, ciclofosfamina, clorpromacina, corticoides, drogas anticáncer, estrógenos, fisostigmina, inhibidores de la monoaminoxidasa, neostigmina, plasmaféresis, propanidid, propranolol y betabloqueadores, yoduro de ecotiopate.
  - Otros tratamientos: rayos X.
- Con aumento de la actividad:
- Enfermedad o condición: alcoholismo, artritis, asma bronquial, bocio nodular, bocio nodular, diabetes, esquizofrenia, estado de ansiedad, hiperlipemia, hipertensión esencial, nefrosis, obesidad, psoriasis, tirotoxicosis.

*Otros indicadores.* También existe la posibilidad de determinar los plaguicidas organofosforados en la sangre, aunque tiene poco valor porque se hidrolizan rápidamente. La medición de productos de biotransformación de los plaguicidas en la orina tiene sus limitaciones, su análisis aislado no evalúa la magnitud de la exposición; lo ideal es efectuarla junto con el análisis de la actividad de la acetilcolinesterasa.

**Toma de la muestra y conservación.** Idealmente, a los trabajadores con elevado riesgo se les debe realizar el análisis de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa cada 8 o 15 días, sin embargo, si existieran dificultades para cumplir con esta recomendación, la frecuencia del control puede disminuirse siempre que no sea inferior a un análisis cada tres meses. Siempre se debe considerar que en los 15 días antes, el trabajador haya estado en contacto con plaguicidas organofosforados, lo cual es válido para exposiciones en fábricas productoras de plaguicidas.

En las aplicaciones agrícolas y del área sanitaria se recomienda efectuar el análisis en las épocas con mayor empleo de los plaguicidas organofosforados. Cuando la exposición sea de riesgo moderado, el análisis podrá cumplirse cada 6 meses, siempre que los trabajadores hayan estado expuestos a estos plaguicidas en los últimos 15 días anteriores a la toma de la muestra. Para la determinación de p-nitrofenol en la orina, la muestra debe tomarse al final de la jornada de trabajo con metilparation.

La muestra se tomará cuando el trabajador se haya bañado y cambiado de ropa. La zona de la punción intravenosa o capilar, según se utilice, se lavará previamente con agua y jabón y luego se limpiará con algodón impregnado en alcohol al 70 %. Según el método analítico para la determinación de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, la muestra se mantendrá en frío y se realizará el análisis antes de las 2 h de haberse tomado.

**Niveles de acción biológica.** Actividad de la colinesterasa:

- En caso de conocer el valor preempleo:
  - El 30 % se considera el valor de inhibición crítico para separar al trabajador de su puesto de trabajo.
  - El 70 % del valor base (en eritrocitos).
- Para el p-nitrofenol en la orina, metabolito del paration metílico se reporta el valor de:
  - 0,5 mg/L.
  - 0,5 mg/g de creatinina (final de la jornada).

**Valores de referencia.** El valor de referencia de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa va a depender del método analítico empleado, del sustrato, de la temperatura y del tiempo de incubación (Tabla 8.4).

**Tabla 8.4.** Valores normales de la actividad de la enzima colinesterásica en hombres

| Técnica                                       | Sustrato   | Temperatura (°C) | Muestra        | Valores de referencia                    | Unidad |
|---|--|------------------|----------------|--|--------|
| Electrométrica (Michel)                       | Cloruro o bromuro de acetil colina                   | 25               | Eritrocitos    | 0,766+0,007 (1957)<br>0,838+0,100 (1978) | pH/h   |
|   |  |                  | Plasma         | 0,953+0,012 (1957)                       |        |
| Espectro-fotométrica (Behringer 405 nm)       | Yoduro de butirilcolina                              | 25               | Suero o plasma | 3,5-8,5 (1983)                           | U/L    |
|   |  | 30               |                | 4,3-10,5 (1983)<br>5,4-13,2 (1983)       |        |
|   |  | 37               |                |  |        |
| Espectro-fotométrica (colorímetro EQM 440 nm) | Yoduro de acetilcolina<br>Yoduro de butiriltiocolina | 21-40            | Eritrocitos    | 1,79-5,22                                | U/mL   |
|   |  |                  | Plasma         | 20,5-32,9 (1989)                         | U/g Hb |
|   |  |                  |                | 1,91-4,03                                | U/mL   |
| Espectro-fotométrica (Merck 405 nm)           | Yoduro de Sbutiriltiocolina                          | 25               | Suero o Plasma | 2,3-7,4 (1976)                           | KU/L   |

| Técnica                                     | Sustrato                     | Temperatura (°C) | Muestra        | Valores de referencia | Unidad             |
|---|------------------------------|------------------|----------------|-----------------------|--------------------|
| Espectro-fotométrica (Voss y Schsse 420 nm) | Yoduro de propionitio-colina | 37               | Eritrocitos    | 0,33 (promedio)       | μM SH/10 μL/10 min |
|   |                              |                  | Plasma         | 0,25 (promedio)       |                    |
| Papeles reactivos (Pharmachim)              |                              | 24-45            | Plasma o suero | 2,3-3,5               | U/mL               |

**Lista de organofosforados:** Acephate, amidithion, amiton, azinphos-ethyl, azinphos-methyl, azothoate, bromophos, bromophos-ethyl, butonate, chlorfenvinphos, chlorpyriphos, cholrpyriphos-methyl, coumaphos, crotoxyphos, crufomate, demeton-S-methyl, diazinon, dichlofenthion, dichlorvos, dicrotophos, dimethoate, dioxathion, disulfoton, EPN, ethion, fenamiphos, fenchlorphos, fenitrothion, fensulfothion, fenthion, fonofos, formothion, fosthietan, heptenophos, idofenphos, isofenphos, leptophos, malathion, mecarbam, menazon, mephoslan, methamidophos, methidathion, mevinphos, monocrotophos, morphothion, naled, omethoate, oxydemeton-methyl, parathion, parathion-methyl, phenthoate, phorate, phosalone, phosmet, phosphamidon, phosfalan, phoxim, profenofos, prothiofos, prothoate, pyrimphos-ethyl, pyrimphos-methyl, pyrazophos, sulfotep, sulprofos, temephos, TEPP, tetrachlorvinphos, thiometon, thionazin, triamiphos, triazophos, trichlorfon, trichlornat, trifenofos, vamidothion.

### Carbamatos

Existen cuatro tipos de carbamatos, de acuerdo con su estructura química y su actividad biológica:

- Insecticidas: endiocarb, carbaril, carbofuran, isoproacarb, pirimicarb, propozur, metiocarb, diozcarb, aldicarb, metonil y oxamil.
- Herbicidas: asulam, terbucarb y clorprofam.
- Herbicida e inhibidor de la germinación: profam.
- Fungicida: benomil, carbendazim, dietofencarb y propamocarb.

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Penetran a través de la piel y las vías digestivas, respiratorias y oculares; no se acumulan en el organismo. El primer paso en la biotransformación de los carbamatos es la hidrólisis hacia el ácido carbámico, que se descompone en CO<sub>2</sub> y en la amina correspondiente; además de la hidrólisis ocurre la oxidación que incluye hidroxilación del anillo aromático, O-dealquilación, N-metil-hidroxilación, oxidación de las cadenas alifáticas laterales y sulfoxidación a la



correspondiente sulfona. La conjugación conduce a la formación de O y N-glucurónidos, sulfatos y derivados mercaptúricos.

Existe poca información acerca de la distribución de los carbamatos en el organismo, se han reportado residuos en el hígado, los riñones, el cerebro, las grasas y los músculos. La vida media en ratas es de 3 a 8 h. La eliminación se realiza principalmente por la vía urinaria.

**Mecanismo de acción.** Los compuestos carbámicos, con estructura que pertenece a insecticidas, son inhibidores activos de la colinesterasa, aunque esta inhibición es transitoria (durante algunas horas); entre ellos se encuentran: carbaril, carbofuran, pirimicarb y propoxur. Los herbicidas y fungicidas carbámicos no son inhibidores de la colinesterasa.

La recuperación rápida de la actividad colinesterásica, que se observa en las intoxicaciones por estos compuestos carbámicos, puede inducir a confusiones en el manejo clínico de los intoxicados cuando han transcurrido varias horas entre el inicio de los síntomas y el momento de la atención médica, en que pueden encontrarse niveles normales de la enzima. Recientemente se han notificado algunos casos de neurotoxicidad retardada que pudieran deberse a la exposición a carbamatos.

**Monitoreo biológico.** No se recomienda la determinación de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa para detectar sobreexposición inminente, aunque resulta más eficaz la determinación del metabolito en la orina, lo que sucede en algunos carbamatos; entre ellos se encuentran:

- Carbaril: 1-naftol (libre y conjugado).
- Propoxur: 2-ísopropoxifenol.
- Benomil: metil-5-hidroxi-2-benzimidazol carbamato (5-HBC).

**Toma de la muestra.** Cuando se realiza la determinación del metabolito de carbaril, se debe tomar la muestra al final de la jornada de trabajo.

**Valores de referencia:**

- 1-naftol en la orina:
  - 1,5-4 mg/g de creatinina.

**Niveles de acción biológica:**

- Actividad de la colinesterasa:
  - El 30 % se considera el valor de inhibición crítico para separar al trabajador de su puesto de trabajo cuando se conoce el valor preempleo.
  - El 70 % del valor base (en eritrocitos).
- Para el 1-naftol en la orina:
  - 10 mg/g de creatinina.

**Lista de carbamatos:** Aldicarb, aminocarb, bendiocarb, benomyl, carbaryl, carben-dazim, carbofuran, chlorprofam, ethiofencarb, methiocarb, metomyl, oxamyl, pirimicarb, propham, propoxur, thiodicarb, thiophanate-methyl.

### *Organoclorados*

Según su estructura química, se han propuesto varias clasificaciones de estos compuestos, una de ellas es:

- Aromáticos clorados: DDT, dicofol, metoxiclor y clorobencilato.
- Cicloalcanos clorados: hexaclorociclohexano.
- Ciclodienos clorados: aldrín, dieldrín, endrín, endosulfan, clordano y mirex.
- Terpenos clorados: canfeclor.

La velocidad de absorción y su toxicidad dependen de la estructura química y de los solventes, surfactantes y otros compuestos químicos usados en la formulación. La propiedad principal de estos compuestos es su solubilidad en grasas, por lo que tienden a acumularse en el organismo y permanecer durante largos períodos.

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Los plaguicidas organoclorados pueden ingresar en el organismo por inhalación, por la vía digestiva o por contacto con la piel. La absorción de grandes dosis se facilita cuando estos plaguicidas se encuentran disueltos en grasa animal o vegetal. Su penetración por vía dérmica varía de un organoclorado a otro, por ejemplo, el DDT se absorbe por la piel intacta, aun cuando esté disuelto en solución aceitosa, mientras que aldrin, endrin, dieldrin y heptacloro penetran con mayor rapidez y proporción; una vez absorbidos pasan a la sangre y se distribuyen por todo el organismo. Las concentraciones de estos compuestos se encuentran en los elementos grasos y proteicos de la sangre y otros tejidos ricos en grasas, especialmente en el tejido adiposo; también se pueden encontrar diferentes concentraciones en el hígado, los riñones y otros órganos, según la dosis absorbida.

Los plaguicidas organoclorados son poco solubles en agua, cuando ocurre una exposición súbita, la sangre se sobresatura con los plaguicidas inalterados, el hígado metaboliza una parte de estos plaguicidas y la grasa secuestra parte de los compuestos inalterados y algunos de sus metabolitos. En primera instancia, la acumulación de estos plaguicidas en el tejido adiposo impide que lleguen a sitios críticos del sistema nervioso, sin embargo, cuando sucede una movilización súbita de la grasa, como puede ocurrir en situaciones de tensión o enfermedad, estos productos también se movilizan y llegan a la sangre en concentraciones suficientes para causar signos de intoxicación aguda.

La cantidad almacenada de un plaguicida organoclorado permanecerá constante mientras la exposición sea invariable. En el hombre, el tiempo necesario para alcanzar

el equilibrio suele ser de un año; si la exposición al plaguicida cesa, la cantidad que se ha depositado en los tejidos disminuye lenta y gradualmente.

Los organoclorados se biotransforman lentamente en el hígado, donde sufren un proceso de degradación o transformación metabólica que se cataliza por enzimas de la fracción microsomal del retículo endoplasmático hepático. Este proceso cumple una función importante en la duración de la acción tóxica porque favorece su eliminación por la orina. Se eliminan lentamente mediante las heces y la orina, como inalterados o transformados.

**Monitoreo biológico.** Los indicadores más usados en la evaluación de la exposición a plaguicidas organoclorados son los niveles de estos compuestos y de sus productos de biotransformación en la sangre. También se ha propuesto la determinación de algunos en la orina, como el DDT, el endrín y el hexaclorociclohexano. A pesar de que estos plaguicidas no tienen una función biológica en el organismo, su presencia es nociva, las concentraciones encontradas pueden ser considerables y provienen de la exposición repetida a través de los alimentos, el agua y el aire. Los niveles de concentración de los plaguicidas organoclorados en la sangre se correlacionan con su exposición.

El lindano en la sangre parece que refleja una exposición reciente; su tiempo de vida media es alrededor de 20 h. El DDA es el producto de excreción urinaria más importante del DDT (en personas expuestas ocupacionalmente), se cree que su concentración en la orina indica una exposición reciente al DDT. Bajo condiciones de campo hay un intervalo promedio de 10,1 h antes que la excreción de DDA alcance el máximo, después de comenzar la exposición al DDT.

Se ha sugerido que el análisis de dieldrín en la orina podría ser adecuado para un monitoreo de absorción, sin embargo, los datos son insuficientes para establecer su concentración, que corresponde a un nivel de absorción peligroso. El endrín se metaboliza más rápido que el dieldrín y se elimina por la orina como anti-12 hidroxindrín, conjugado con el ácido glucurónico.

Algunos autores han sugerido la determinación urinaria de ácido D-glucárido para detectar exposición a compuestos organoclorados, debido a que con frecuencia son inductores potentes de las enzimas microsomales, aunque la sensibilidad y especificidad de esta prueba es baja.

**Toma de la muestra y conservación.** *Sangre.* Para la recolección de la muestra de sangre es necesario que la piel del paciente esté bien limpia, por lo que se recomienda lavar bien con agua y jabón la zona de la punción y luego limpiar con algodón impregnado en alcohol al 70 %.

La cristalería que se utilice, incluida la jeringuilla hipodérmica, debe enjuagarse previamente con n-hexano destilado y añadir 0,1 mL de cloruro de sodio al 10 %, como

conservador. Las muestras deben mantenerse en congelación y procesarse antes de las 72 h. En el caso del endrín la muestra se tomará al final de la jornada de trabajo.

*Orina.* La orina debe colectarse en un frasco de vidrio, enjuagado previamente con n-hexano destilado. Para garantizar mayor precisión se recomienda la recolección de la orina de 24 h. Las muestras permanecerán en congelación hasta su procesamiento; con el endrín, la muestra se tomará al final de la jornada de trabajo.

**Valores de referencia.** Se han reportado los valores siguientes:

- DDT total:
  - Sangre: 0,008-0,336 mg/L.
  - Orina: 0,008-0,019 mg de DDA/L.
- Hexaclorociclohexano (HCH) (gamma y beta):
  - Sangre: 0,0008-0,28 mg/L.
  - Orina: 0,005-2,67 mg de pentaclorofenol/L.
- Heptacloro y su epóxido:
  - Sangre: 0,00034-0,095 mg/L.
  - Orina: 0,001-0,024 mg/L.
- Dieldrín:
  - Sangre: <0,001 mg/L.

**Niveles de acción biológica:**

- Clordano en la sangre: 6 µg/L.
- Dieldrín en la sangre: 5 µg/L.
- Endrín en la sangre: 5 µg/dL.
- Anti-12-hidroxiendrín en la orina: 130 mg/g de creatinina.
- Lindano en la sangre: 2 µg/dL.
- Lindano en el suero: 20-30 µg/L.

**Lista de organoclorados:** DDT, aldrín, dieldrín, endosulfan, lindano, hexaclorociclohexano y endrín.

### *Tiocarbamatos*

Pueden absorberse por las vías digestiva y respiratoria, por la piel y las membranas mucosas.

La biotransformación ocurre mediante 2 vías: una por la sulfoxidación y conjugación con el glutatión y más tarde la producción de ácido mercaptúrico, y la otra vía por oxidación del azufre a sulfóxido que se oxida a sulfona o se hidroxila. Se elimina rápido por la orina y el aire espirado.

**Lista de tiocarbamatos:** Butilato, EPTC, tiobencarb, molinate, protiocarb, cartap y triallate.

## *Ditiocarbamatos*

Pueden distinguirse seis grupos principales que tienen comportamientos diferentes:

- Tiuram disulfuro que contiene grupos S-S (disulfiram y dtiuram).
- Etilenbisditiocarbamatos (EBDC) (zineb, mancoceb y maneb).
- Metilditiocarbamatos (metam sodio).
- Dimetilditiocarbamatos (ziram).
- Dietilditiocarbamatos (sulfallate).
- Propilenbis diditiocarbamatos (propineb).

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Entran al organismo por las vías inhalatoria y digestiva. Los EBDC se absorben poco por la piel. La biotransformación del dimetil y del dietilditiocarbamato es directa y se forma el ácido dialquiltiocarbámico como un ácido libre o conjugado con el S-glucurónido. También puede formarse disulfuro de carbono, formaldehído, sulfato y dialquilamina.

Los EBDC tienen una descomposición metabólica compleja que da como resultado la formación de disulfuro de carbono, etilendiamina, etilenbistiuram disulfuros, sulfuro de hidrógeno, etilenbistiocianato y etilentiourea.

Los EBDC y sus metabolitos (bisulfuro de carbono y etilentiourea) se distribuyen a través de la sangre, luego de la absorción en algunos órganos y tejidos como el hígado, los riñones, el cerebro y especialmente las glándulas tiroideas. No se acumulan porque su metabolismo es rápido. La etilentiourea se absorbe rápido y se elimina a través del tracto gastrointestinal. Los ditiocarbamatos se eliminan mediante las heces fecales y la orina.

**Monitoreo biológico.** Algunos autores han propuesto la determinación en la orina de etilenbistiourea y etilentiourea para el análisis de maneb. En el caso del zineb hay excreción urinaria de sulfuro de etilentiourea y etilenbisisocianato. La etilentiourea urinaria se considera el mejor indicador; el bisulfuro de carbono en la sangre y la orina tienen datos limitados y se encuentran en pequeñas cantidades en la orina.

**Toma de la muestra y conservación.** La muestra se tomará al final de la jornada de trabajo y al final de la semana o del período de exposición. Se coleccionará en recipiente de color ámbar, se congelará a -20 °C y se analizará tan pronto sea posible.

**Lista de ditiocarbamatos:** Ferbam, mancozeb, maneb, metam-sódico, metiram, nabam, propineb, thiram, zineb y ziram.

## *Triazinas*

Se usan fundamentalmente como herbicidas.

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Se han realizado estudios en animales y se reporta que la simazina, luego de su administración intragástrica no se

acumula sin cambio en el organismo; se transforma a N-dealquilación y se produce una oxidación de la cadena N-alquímica. Se excreta por la orina y las heces a los 4 días, conjugada con el glutatión. En el hombre, la prometrina se excreta por las heces y la orina en forma de metabolitos de hidroxipropazina.

**Monitoreo biológico.** En estudios realizados en animales se ha reportado la determinación de atrazina en la saliva y el plasma.

**Lista de triazinas:** Atrazina, ametrina, prometrina y simazina.

### *Derivados del piridilo*

Los plaguicidas son una de las familias de productos químicos más utilizadas por el hombre, principalmente para combatir plagas por su acción sobre las cosechas o como vectores de enfermedades transmisibles. Los derivados del piridilo se utilizan con estos objetivos, y existen dos compuestos que son el paraquat y el diquat.

### *Paraquat*

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** El paraquat puede penetrar por la vía digestiva e inhalatoria y también por la piel, especialmente si está dañada. Al absorberse el paraquat, se distribuye mediante el torrente sanguíneo casi en todos los órganos y tejidos, pero no se almacena en ninguno de ellos. El pulmón lo acumula de forma selectiva en una concentración mayor que en otros tejidos, por un proceso energía-dependiente.

El efecto tóxico del paraquat es consecuencia de la biotransformación, de la reacción de oxidación-reducción que provoca disminución del NADPH celular y la generación de formas potencialmente tóxicas del oxígeno, como el radical superóxido. Su eliminación ocurre a través de los riñones.

**Monitoreo biológico.** Se propone medir los niveles de paraquat en la orina después de una sobreexposición de la piel.

### *Diquat*

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Se absorbe por las vías digestivas e inhalatoria y muy poco a través de la piel. El diquat muestra alguna preferencia por los riñones, no así por los pulmones.

Según su ruta de entrada y la especie animal en la que se han realizado los estudios, se biotransforma menos del 20 % de la dosis absorbida. La microflora intestinal parece ser la responsable del metabolismo del diquat. El metabolito principal es el diquat monopiridona y de menos importancia el diquat dipiridona; sus metabolitos son considerablemente menos tóxicos que el producto original. La vía de excreción fundamental es la urinaria, aunque también puede ser excretado por las heces fecales.

## *Piretroides*

Se distinguen 2 clases de piretroides a partir de estudios electrofisiológicos, síntomas de toxicidad y tipos de enlaces:

- Piretroides que no contienen grupo alfaciano como aletrina, fenotrina, permectrina, tetrametrina, cismetrina y bioresmetrina.
- Piretroides que contienen grupo alfaciano sobre el alcohol 3-fenoxibencilo, como deltametrina, cipermetrina, fenvalerate y fenpropanato.

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Penetran por la vía respiratoria o la piel, según el tipo de formulación, sobre todo en los trabajadores que manipulan la solución concentrada. Debido a que son compuestos viscosos y de baja volatilidad, la absorción por la piel es rápida, alrededor del 5 % de la parte que entra en contacto por esa vía. En el caso de la cipermetrina se recupera el 2 % en los fluidos después de 3 días.

La ruta principal de biotransformación de la permectrina, la cipermetrina, la deltametrina y el fenvalerate es la ruptura de la unión del éster para formar un metabolito ácido y el 3-fenoxibenzil alcohol, para formar el ácido 3-fenoxibenzoico (3PBA), y por la oxidación de la posición 4 del grupo fenoxi puede llevar a la formación del ácido 4-hidroxi-3 fenoxibenzoico (4OH3PBA).

En estudios reportados en animales se ha comprobado que se distribuye ampliamente y se excreta con rapidez, pero la pequeña porción que entra en las grasas y el cerebro persiste durante varios días después de la exposición.

La eliminación se comporta de la forma siguiente:

- Permetrina: en dos voluntarios se reportó la excreción (muestras de 24 h) del ácido 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetil ciclopropano carboxílico (CI2CA) entre el 18 y el 39 % de las dosis administradas durante las primeras 12 h. No se ha indicado el tiempo de vida media.
- Cipermetrina: en cuatro voluntarios se administró una sola dosis de una mezcla 1:1 cis/trans cipermetrina, en rango de 0,25 a 1,5 mg; transcurrido 24 h, habían excretado el 49 % de la cis-cipermetrina y el 78 % de la trans, en forma de cis/trans CI2CA; la proporción es independiente de la dosis, así como los resultados sugieren que la cipermetrina no se acumula.
- Deltametrina: en un estudio realizado en voluntarios con deltametrina marcada con <sup>14</sup>C se recuperó totalmente la radioactividad por la orina y del 64 al 77 % por las heces de la dosis inicial, en el transcurso de las 96 h.
- Fenvalerate: en animales se ha observado una eliminación rápida por las heces fecales, en forma no metabolizada, y por la orina en trazas.
- Aletrinas: se elimina rápido por la orina como ácido crisantemo dicarboxílico y aletrólona. También se elimina por las heces fecales.

- Resmetrinas: en experimentos con animales se ha comprobado que se eliminan lentamente a través de la orina y las heces fecales, y sus reacciones metabólicas provocan la ruptura del éster, oxidación a alcohol, aldehído y ácido carboxílico y reacción de conjugación.

#### **Monitoreo biológico:**

- Cipermetrina y permetrina: Para evaluar la exposición se recomienda la determinación de Cl2CA, 3-PBA y 4OH3PBA en la orina.
- Deltametrina: Se propone la determinación de ácido 3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico (Br2CA) y del 3PBA. La deltametrina en la orina se recomienda en casos de exposición alta.
- Fenvalerato: Se recomienda la determinación en la orina para los casos de exposición alta.
- Ciflutrina: El biomarcador más apropiado es el ácido fluorofenoxidenoico.

**Toma de la muestra y conservación.** Se debe recoger la orina de 24 h al final de la última jornada de trabajo de la semana. La muestra se congelará y almacenará en un recipiente plástico, previamente lavado según indique el método.

Las muestras de cipermetrina y permetrina no necesitan preservativos; la deltametrina y el fenvalerato requieren la adición de 1 mL de ácido clorhídrico para 100 mL de orina y almacenarse en congelación de 0 a 4 oC.

**Lista de piretroides que contienen 3-fenoxibencil o alfaciano-3-fenoxibencil alcohol, que pueden metabolizarse a 3-PB:** Acrinathrin, cycloprothrin, lambdacyhalothrin, cypermethrin, alfacipermethrin, zetacypermethrin, cyphenothrin, deltamethrin, esfenvalerate, fenpropathrin, fenvalerate, flucythrinate, taufluvalinate, permethrin, phenothrin y tialomethrin.

#### *Derivados*

*Derivados orgánicos del arsénico.* Entre estos compuestos se encuentra el MSMA (ver acápite de arsénico orgánico).

*Derivados orgánicos del mercurio.* El acetato de fenilmercurio, cloruro de 2-metoximetilmercurio, dicianamida de metilmercurio y otros (ver acápite de mercurio orgánico).

*Derivados del ácido fenoxiacético.* Dentro de este grupo se encuentran el 2,4-D-ésteres y aminas y el MCPA.

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Estos derivados se absorben a través de la vía respiratoria, el tracto gastrointestinal y la piel. Se excretan por la orina sin metabolizar dentro de las 24 a 72 h después de cesar la exposición.



## Solventes

Se denomina cualquier sustancia química, casi siempre un líquido, que disuelve otra sustancia. Como estos compuestos son muy volátiles, la vía de exposición más importante es la inhalatoria; su solubilidad en grasas es una de las propiedades más importantes, aunque existen diferencias entre ellos.

Sus propiedades tóxicas tienden a ser similares dentro de un mismo grupo. Los solventes pueden dividirse en familias de acuerdo con la estructura química y los grupos funcionales; según la estructura química se dividen en: alifáticos, alicíclicos y aromáticos. Los grupos funcionales incluyen halógenos, alcoholes, cetonas, glicoles, ésteres, éteres, ácidos carboxílicos, aminas y amidas. En la tabla 8.5 aparecen los principales solventes industriales.

**Tabla 8.5.** Principales solventes industriales

| Estructura  | Nombres                      | Grupos funcionales   | Nombres  |
|-------------|------------------------------|--|--|
| Alifáticos  | Pentano<br>Hexano<br>Heptano | Alcoholes<br><br>Cetonas<br>Ésteres<br>Éteres<br>Aminas<br>Halogenados | Alcohol etílico,<br>alcohol metílico, alcohol isopropílico,<br>alcohol butílico<br>Acetona<br>Metiletilcetona<br>Metilisobutilcetona<br>Éter etílico<br>Metilamina<br>Etilendiamina<br>Tricloroetileno carbón tetracloruro<br>Cloroformo |
| Alicíclicos | Ciclohexanona                | Alcoholes Cetonas  | Ciclohexanol<br>Ciclohexanona  |
| Aromáticos  | Benceno                      | Fenoles  | Fenol,<br>cresol,<br>tolueno,<br>xileno,<br>estireno   |

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** La vía de entrada fundamental es la respiratoria, casi siempre son líquidos volátiles y pasan bien a través de la membrana alveolocapilar por su solubilidad en grasas. La penetración en la piel va a estar condicionada por dos factores: la solubilidad en grasas y en agua, y la volatilidad; los solventes solubles (en grasas y agua) se absorben más fácil por esta vía. Los que presentan elevada volatilidad van a ser menos absorbidos, tienden enseguida a evaporarse de la piel y no alcanzan el proceso de penetración.

Los solventes se distribuyen en el tejido adiposo, el sistema nervioso y en el hígado. La distribución está condicionada por la velocidad de difusión, la solubilidad en grasas y el gradiente de concentración, en el compartimiento del organismo donde se encuentren.

Los compuestos alifáticos de 5 a 7 carbonos, muy volátiles (alicíclicos y aromáticos) atraviesan fácilmente la membrana alveolar, llegan al torrente sanguíneo y se transportan en minutos al sistema nervioso central. Los homólogos de cadena larga pueden pasar la membrana alveolar, pero no tan rápido y su efecto es más bien local. Los aromáticos se absorben en mayor medida en el torrente sanguíneo que los alifáticos (62 y 50 %, respectivamente). Las personas obesas acumularán mayor cantidad de solventes con el transcurso del tiempo y excretarán estos a una velocidad más lenta que los no obesos, después que cesa la exposición.

La biotransformación de los solventes varía entre ellos y será tratada en cada caso. El alcohol etílico después de una ingestión excesiva inhibe la biotransformación de los solventes, aunque puede existir una inducción en el caso de sujetos que ingieren alcohol de manera regular. Los analgésicos pueden desempeñar una función importante de interferencia en el metabolismo de los solventes.

La eliminación ocurre mediante la exhalación del producto sin biotransformación (en mayor medida en los compuestos volátiles) y los metabolitos por la orina; también puede ocurrir la combinación de ambos. En los solventes con elevado peso molecular, la excreción ocurre a través de las heces fecales.

La vida media biológica también varía entre ellos, desde unos pocos minutos hasta varios días, aunque la bioacumulación no es importante en estos compuestos.

**Monitoreo biológico.** Los solventes poseen propiedades que hacen el monitoreo poco útil y práctico, debido a que tienden a ser absorbidos y excretado de forma rápida y los niveles biológicos cambian con el transcurso del tiempo; no obstante, se proponen algunos biomarcadores que analizan el tiempo de la toma de la muestra, considerado óptimo para ese solvente en particular, con respecto a la exposición. Por ejemplo, una muestra de sangre (tomada inmediatamente después de la exposición) refleja el valor más alto de la exposición; otra muestra tomada entre 15 y 30 min después de terminada la exposición expresará la exposición en unas pocas horas precedentes, mientras que una muestra tomada entre 16 y 20 h después de la exposición (antes de la siguiente jornada), mostrará la exposición media del día anterior. Si la exposición no fue constante en las 8 h de trabajo, se verá afectada la validez de muestra biológica.

### *Acetona*

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** La acetona puede penetrar en el organismo mediante la vía respiratoria y la piel dañada. La concentración en sangre va aumentando hasta alcanzar un estado de balance dinámico. Entre el 40 y el 70 %

de la dosis absorbida se biotransforma por oxidación hasta dióxido de carbono. Se elimina el 50 % como dióxido de carbono y el 20 % como acetona sin biotransformar, ambos mediante el aire espirado; por la orina se elimina cerca del 1 %.

La vida media de la acetona en el aire alveolar es de 4 h, y en sangre venosa y arterial de 6 a 4 h, respectivamente. La concentración más elevada de acetona en la orina se encuentra entre 3 y 3,5 h después de la exposición.

**Monitoreo biológico.** En la orina y la sangre existen valores normales de acetona de formación endógena que aumentan en los casos de cetoacidosis por diabetes o ayunos. Cuando la exposición excede la concentración de 300 p.p.m., la concentración de acetona en la orina al comienzo del segundo día de trabajo no disminuye hasta los valores de base, por lo que puede ser útil esta determinación.

Para evaluar la exposición durante la jornada laboral se ha propuesto la determinación de acetona en la sangre, la orina y el aire alveolar.

**Toma de la muestra.** Las muestras de sangre y orina se deben tomar durante la jornada laboral.

**Valores de referencia:**

- Acetona en la orina: <2 mg/g de creatinina.
- Acetona en la sangre: <2 mg/dL.

**Niveles de acción biológica:**

- Acetona en la orina:
  - 20 mg/g de creatinina.
  - 30 mg/g de creatinine.
  - 50 mg/L (al final de jornada).
- Acetona en la sangre:
  - 2 mg/dL.
  - 5 mg/100 mL.
- Acetona en el aire alveolar:
  - 53 mg/m.

*Alcohol metílico (metanol)*

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** La vía de entrada fundamental es la inhalación de los vapores. En el organismo se retiene cerca del 58 % de la cantidad inhalada. El metanol es un componente natural de la sangre, la orina y el aire espirado, formado probablemente por la actividad de la microflora intestinal u otros procesos metabólicos.

El metanol se oxida en dos etapas, mediante el alcohol dehidrogenasa, con la formación de formaldehído y ácido fórmico. Una parte de este ácido fórmico se oxida a dióxido de carbono, que se elimina por el aire exhalado.

Cuando la exposición es estable, la excreción urinaria de metanol (sin biotransformar) alcanza su máximo al final de la exposición y luego decrece de forma exponencial, con una vida media biológica de 1,5 a 2 h, a las 12 h de haber cesado la exposición vuelve a niveles normales.

El ácido fórmico también se excreta por la orina, con un tiempo de vida media mayor que 5 h y con tendencia a acumularse durante la semana de trabajo.

**Monitoreo biológico.** Cuando la exposición es más o menos constante durante la jornada laboral, la concentración de metanol en la orina (al final de la jornada laboral) se correlaciona con la intensidad de la exposición. Cuando la concentración de metanol cambia durante la jornada laboral, es preferible medir esta durante toda la jornada para estimar el metanol absorbido por el organismo.

Aunque algunos autores han propuesto determinar el ácido fórmico en sangre y orina, debido a las altas concentraciones de base que existen en el organismo, este análisis no ofrece ventajas sobre la determinación de metanol. Otros proponen la determinación del ácido fórmico en la orina al final de la semana laboral.

**Toma de la muestra.** Para la determinación de metanol en la orina, la muestra se toma al final de la jornada de trabajo, y para el ácido fórmico en la orina, al comienzo de la última jornada de trabajo.

**Valores de referencia:**

- Metanol en la orina:
  - 0,3-2,6 mg/L.
  - <2,5 mg/g de creatinina.
- Ácido fórmico en la orina:
  - 5,50 mg/g de creatinina.

**Niveles de acción biológica:**

- Metanol en la orina:
  - 15 mg/L (final de la jornada).
  - 15 mg L.
  - 7 mg/g de creatinina.
  - 25 mg/g de creatinina.
- Ácido fórmico en la orina:
  - 80 mg/g de creatinina.

*Benceno*

Como solvente industrial general su utilización es limitada debido a su toxicidad, pero se emplea aún en el análisis químico y en la manufactura.

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** La absorción del benceno ocurre fundamentalmente por inhalación de vapores y en segundo lugar por la piel en contacto

con la forma líquida, aunque se ha observado que la vía dérmica es la principal vía de entrada entre las personas que laboran en garajes con exposición a la gasolina.

El benceno se oxida a benceno óxido en el hígado mediante el citocromo P450, dependiente de monooxigenasas. Después de esta reacción inicial se forman varios metabolitos secundarios por vía enzimática y no enzimática, como el ácido t,t-mucónico, fenol y quinol; se excreta por la orina como conjugado con el ácido glucurónico y el sulfúrico; se metaboliza a hidroxifenoles. En trabajadores expuestos al tolueno y benceno, la biotransformación disminuye.

Según la grasa corporal y el ejercicio físico, del 10 al 50 % se elimina sin cambio por el aire exhalado. El benceno posee una vida media de 12 h. El ácido t,t-mucónico en la orina tiene un tiempo de vida media de 6 h.

**Monitoreo biológico.** Durante décadas la determinación de fenoles (libres y conjugados) en la orina ha sido el biomarcador más utilizado para determinar elevadas concentraciones de benceno; sin embargo, la alta variabilidad de la excreción urinaria del fenol sin exposición ocupacional, debido presumiblemente a constituyentes de los alimentos, hace este análisis poco sensible a niveles de exposición menores que  $10 \text{ cm}^3/\text{m}^3$ ; las personas expuestas no pueden ser identificadas entre las no expuestas. La determinación de fenol puede ser útil antes y después de la exposición, lo que puede dar un indicio de esta, durante la jornada laboral. El consumo de alcohol acelera la eliminación del benceno en el aire exhalado y de fenol por la orina.

La medición de benceno en la sangre no se utiliza mucho para medir la exposición, ya que existe un equilibrio entre esta y el aire espirado. Algunos autores la proponen como un método útil de monitoreo para medir bajas concentraciones de benceno en el aire, e igualmente se ha probado que son adecuadas las determinaciones de benceno, ácido mercaptúrico y ácido t,t-mucónico en la orina. Se prefiere la determinación de ácido t,t-mucónico debido a la facilidad de medición.

**Toma de la muestra.** La muestra de orina para las determinaciones de ácido t,t-mucónico y ácido s-fenilmercaptúrico deben ser tomadas al final de la jornada de trabajo.

**Valores de referencia:**

- Fenol en la orina:
  - <20 mg/L.
  - <20 mg/g de creatinina.
- Benceno en el aire espirado:
  - <0,03 p.p.m.
- Benceno en la sangre:
  - <5  $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$ .
- Fenol total en la orina:
  - 50 mg/L.
  - 45 mg/g de creatinina.

- Ácido t,t'-mucónico en la orina:
  - 1,4 mg/g de creatinina.
- Ácido s-fenilmercaptúrico en la orina:
  - 25 µg/g de creatinina (fin de la jornada).

### *Ciclohexano*

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** El ciclohexano penetra por la vía respiratoria, la vía cutánea es menos importante. Aproximadamente el 70 % del ciclohexano que se inhala se absorbe y excreta sin cambio por la orina y el aire exhalado, y como ciclohexanol por la orina.

**Monitoreo biológico.** Se puede determinar ciclohexano en el aire espirado y ciclohexanol en la sangre como una medida directa, relacionada con el nivel en el medio ambiente laboral; se determina en la orina ciclohexanol como una medida indirecta de la concentración en el aire. Se ha reportado que a una concentración promedio ponderada de 300 p.p.m. de ciclohexano en el aire, corresponde una concentración de ciclohexanol en la orina de 3,2 a 5,5 mg/L.

**Toma de la muestra.** Las muestras de aire exhalado y sangre deben tomarse durante la jornada laboral y la de orina se tomará en las últimas 4 h de la jornada.

#### **Niveles de acción biológica:**

- Ciclohexanol en la orina:
  - 3,2 mg/g de creatinina.
  - 3,2-5,5 mg/L.
- Ciclohexanol en la sangre:
  - 46-52 µg/dL.
  - 45 µg/dL.
- Ciclohexano en el aire espirado:
  - 780 880 mg/m.
  - 220 p.p.m.

### *Cloruro de metileno (diclorometano)*

La exposición ocurre cuando se utiliza como solvente.

**Vía de entrada, distribución, biotransformación y eliminación.** La principal vía de absorción es la inhalación de forma rápida, se alcanza un equilibrio entre el nivel sanguíneo y los niveles de aire alveolar después de 2 a 4 h de exposición; la retención pulmonar es del 70 al 75 %. El contacto de la piel con el cloruro de metileno líquido lleva a la absorción por esa vía; al inicio se distribuye en la sangre y en el compartimiento vascular; en exposición prolongada se distribuye al tejido adiposo.

Entre el 25 y 34 % de cloruro de metileno retenido por la inhalación se biotransforma en monóxido de carbono por oxidación mediante el citocromo P450. El cloruro de

metileno restante se biotransforma en ácido fórmico y dióxido de carbono por enzimas en el citosol y la conjugación con el glutatión.

El monóxido de carbono y la carboxihemoglobina se liberan más lento en la exposición al cloruro de metileno que en la exposición al monóxido de carbono. El tiempo de vida media de eliminación es de 7 a 10 h. Después de 8 h de exposición, el nivel de carboxihemoglobina continúa su aumento hasta 2 h después de finalizada esta. En el aire espirado se elimina rápido de la sangre, lo que ocurre en varias fases y con un tiempo de vida media de 30 min y de 15 a 20 h.

**Monitoreo biológico.** Se recomiendan las determinaciones de carboxihemoglobina y de cloruro de metileno (diclorometano) en sangre. La producción endógena, los hábitos de fumar y la exposición ambiental pueden afectar la interpretación del resultado de carboxihemoglobina en valores por debajo del 5 %.

**Toma de la muestra y conservación.** La muestra para la determinación de carboxihemoglobina en la sangre se toma de 2 a 4 h después de haber cesado la exposición, sin permitir fumar durante ese tiempo.

Para la determinación de cloruro de metileno en la sangre se toma la muestra al final de la jornada laboral, que muestra la exposición durante las últimas 2 a 3 h. Cuando se toma la muestra en períodos más largos, después que la exposición cesó, expresa la salida de cloruro de metileno acumulado en grasas y es un indicador más integrador de la dosis absorbida por un período mayor.

**Valores de referencia:**

- Carboxihemoglobina en sangre:
  - <1 %.

**Niveles de acción biológica:**

- Diclorometano en sangre total (al final de la jornada laboral):
  - 0,08 mg/100 mL.
  - 1 mg/ L.
  - 0,05 mg/100 mL.
  - 0,1 mg/100 mL.
- Carboxihemoglobina (al final de la jornada laboral o final de la exposición):
  - <3 % (no fumadores).
  - 5 %.
  - 2 % (concentración tentativa máxima, permisible para no fumadores).
- Diclorometano en el aire exhalado:
  - 15 p.p.m.
- Diclorometano en la orina: 0,3 mg/L (final de la jornada).

## Estireno

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Su principal vía de entrada en el organismo es la respiratoria y en menor grado por la piel intacta; se distribuye y deposita en las zonas grasas. Del 42 al 90 % del aire inhalado se retiene en los pulmones y menos del 5 % de estireno se elimina sin cambio por el aire espirado.

El estireno se oxida a óxido de estireno y luego a estirenglicol, el cual se oxida a ácido mandélico, que luego a su vez, se oxida a ácido fenilgloxílico, cuya excreción ocurre por la orina.

La vida media biológica del ácido fenilgloxílico en la orina es mayor que la del ácido mandélico y está en correspondencia con la intensidad de la exposición. La vida media biológica del ácido mandélico es de 6 a 9 h.

**Monitoreo biológico.** Se han propuesto varios indicadores, tales como estireno en el aire espirado, estireno en la sangre, ácido mandélico en la orina, ácido fenilgloxílico en la orina y ácido hipúrico también en la orina. Al evaluar cada uno de ellos se puede decir que se ha encontrado gran diferencia individual en los valores del aire espirado, por tanto, se limita la utilidad de este parámetro.

La concentración de estireno en la sangre se incrementa no solo por el aumento de la exposición, sino también por la intensidad del ejercicio, por lo que no existe buena correlación entre aire alveolar y concentración en la sangre. Durante la jornada normal de trabajo la concentración de ácido mandélico en la orina se incrementa de forma progresiva para alcanzar el máximo al final del período de exposición.

Parece ser que el ácido mandélico en la orina, colectado al final de la jornada laboral, es un método sensible para estimar la intensidad de la exposición a estireno. El ácido fenilgloxílico también es un índice muy sensible de exposición. El ácido hipúrico en la orina no es un indicador sensible, el estireno solo se transforma en pequeña cantidad de ácido hipúrico. También se ha reportado aumento de aductos de ADN en exposición al estireno.

En conclusión, para evaluar la intensidad de exposición a estireno se pueden determinar los ácidos mandélico y fenilgloxílico en la orina.

**Toma de la muestra y conservación.** La inestabilidad de las muestras dificulta la determinación de ambos ácidos, por eso se recomienda su congelación inmediata; las muestras deben tomarse al final de la jornada de trabajo.

### Valores de referencia:

- Ácido mandélico: <0,005 g/g de creatinina.

### Niveles de acción biológica:

- Ácido mandélico en la orina:
  - 800 mg/g de creatinina.



- 0,7 g/g de creatinina (final de la jornada).
- 1 g/g de creatinina.
- 300 mg/g de creatinina (antes del turno siguiente).
- Ácido fenilgloxiílico en la orina:
  - 240 mg/g de creatinina.
  - 240 mg/g de creatinina (final de la jornada).
  - 350 mg/g de creatinina.
  - 100 mg/g de creatinina (antes del turno siguiente).
- Estireno en la sangre venosa:
  - 0,55 mg/L (final del turno).
  - 0,02 mg/L (antes del turno siguiente).

### *Fenol*

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Se absorbe fácilmente tanto por vía inhalatoria, como a través de la piel. La biotransformación del fenol incluye la fijación con proteínas, la oxidación del anillo aromático y su destrucción hasta dióxido de carbono en el 10 %, así como la formación de hidroquinona en el 10 % y de pirocatecol en el 1 %.

El fenol y los difenoles que no se biotransforman se conjugan con los ácidos sulfúricos y glucurónico y se excretan por la orina en esa forma en el 80 % de la cantidad que entra al organismo. El fenol se elimina rápido dentro de las 16 h, casi en su totalidad, como fenol conjugado.

**Monitoreo biológico.** Como una medida de la exposición se determinan los fenoles totales en la orina. Existe gran variabilidad individual en la excreción de fenol y en personas no expuesta ocupacionalmente, puede llegar a excretarse en concentraciones cercanas a las de trabajadores expuestos debido a constituyentes o aditivos de los alimentos (benzoatos), por lo que este biomarcador se considera de poca utilidad en la salud ocupacional.

**Toma de la muestra.** La muestra debe tomarse al final de la jornada laboral.

**Valores de referencia:**

- Fenoles totales en la orina: <20 mg/g de creatinina.

**Niveles de acción biológica:**

- Fenoles totales en la orina:
  - 250 mg/g de creatinina.
  - 250 mg/g de creatinina (final de la jornada).

## *N*-hexano

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** El *n*-hexano se absorbe rápido a través de los pulmones y se distribuye por el organismo; su absorción dérmica es limitada. Se biotransforma por oxidación a varios compuestos: 2,5-hexanodiona, 2,5-dimetilfurano,  $\gamma$ -valerolactona y pequeñas cantidades de 2-hexanol, todos presentes en forma conjugada junto con alguna parte de 2,5-hexanodiona y 2,5-dimetilfurano libres.

Buena parte de *n*-hexano se excreta sin cambio por el aire exhalado, y otra parte se excreta como metabolitos por la orina (se estima que el 15 % de lo absorbido). El tolueno interfiere en la biotransformación del *n*-hexano en ratas, lo cual sugiere que esta sea la causa de la disminución de excreción de los metabolitos cuando él se encuentra presente.

**Monitoreo biológico.** La concentración de *n*-hexano en la orina (al final de la jornada de trabajo) se correlaciona mucho con la concentración promedio contenida del *n*-hexano en el aire, aunque se reporta que 2 h después de cesar su exposición se reduce a trazas.

La 2,5-hexanodiona se ha detectado en la orina después de la exposición a concentraciones promedio contenidas en el aire con más de 53 mg/m<sup>3</sup>, y ha mostrado buena correlación con esta. Se ha especulado que el *n*-hexano se produce en el organismo por la peroxidación lipídica; se ha encontrado la 2,5-hexanodiona en la orina en concentraciones de 0,25 a 0,65 mg/L en personas aparentemente no expuestas a *n*-hexano.

Se recomienda la determinación de 2,5-hexanodiona en la orina o *n*-hexano en el aire exhalado para realizar el monitoreo.

**Toma de la muestra.** La muestra de aire exhalado se toma durante la jornada laboral y la de orina después de finalizar la jornada.

### **Valores de referencia:**

- 2,5-hexanodiona en la orina: 0,1-0,8 mg/L.

### **Niveles de acción biológica:**

- 2-hexanol en la orina: 0,2 mg/g de creatinina.
- 2,5-hexanodiona en la orina:
  - 0,4 mg/L.
  - 5 mg/g de creatinina (final de la jornada).
  - 2 mg/g de creatinina (final de la primera jornada laboral).
  - 4 mg/g de creatinina (final de la semana de trabajo).
- *N*-hexano en la sangre:
  - 15  $\mu$ g/100 mL.
- *N*-hexano en el aire espirado:

- 40 p.p.m. (final).
- 50 p.p.m.

### *Tolueno*

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Se absorbe del 40 al 60 % de tolueno inhalado y una cantidad significativa penetra por la piel (si está en contacto con la forma líquida del tolueno). Del 60 al 80 % de tolueno absorbido se biotransforma a ácido benzoico por oxidación del radical metilo que se convierte en carboxílico. El ácido benzoico se combina con la glicina para formar el ácido hipúrico, y una pequeña cantidad se combina con el ácido glucurónico.

La presencia de benceno junto con el tolueno provoca una interferencia en la biotransformación de cada uno de ellos en el hígado. La excreción de ácido hipúrico se reduce por la presencia de benceno. El 20 % de tolueno se excreta sin cambios por el aire exhalado y esta concentración disminuye rápidamente en los primeros 10 min después de cesar la exposición.

El ácido hipúrico se elimina rápido por la orina, dentro de las 24 h de terminada la exposición, no obstante, en una exposición repetida de 8 h, con intervalo de no exposición de 16 h, puede haber determinada acumulación durante la semana laboral. Después del descanso de fin de semana la concentración vuelve a los valores de antes a la exposición.

**Monitoreo biológico.** La relación entre concentración de tolueno en el aire alveolar y en la sangre arterial es lineal y muy correlacionada, por tanto, si se mide la concentración en el aire espirado, se puede estimar la concentración de tolueno en la sangre arterial.

El ácido hipúrico es un componente normal de la orina producido por alimentos que contienen ácido benzoico o benzoatos. Debido a los diferentes ritmos de absorción y metabolismo del tolueno según los individuos, y a la variabilidad de la ingestión de ácido benzoico o benzoatos con los alimentos que provoca la eliminación de ácido hipúrico, existe escasa correlación entre la excreción de ácido hipúrico y el nivel de exposición al tolueno en la evaluación individual, pero puede ser utilizado para evaluar en conjunto grupos expuestos.

Este indicador es válido para niveles de tolueno por encima de 375 mg/m<sup>3</sup>. La determinación de o-cresol en la orina también se ha propuesto como un parámetro sensible y específico.

**Toma de la muestra.** La muestra de sangre debe tomarse al final de la jornada de trabajo, el aire espirado durante la jornada y la muestra de orina al final de la jornada laboral.

**Valores de referencia:**

- Ácido hipúrico en la orina:
  - <1 g/L.

- 1,5 g/g de creatinina.
- O-cresol en la orina:
  - <0,3 mg/g de creatinina.

**Niveles de acción biológica:**

- Ácido hipúrico en la orina:
  - 2,5 g/g de creatinina (últimas 4 h de la jornada).
  - 2,5 g/g de creatinina.
- O-cresol en la orina:
  - 1 mg/g de creatinina.
- Tolueno en la sangre venosa:
  - 0,03 mg/L (final de la jornada).
  - 1 mg/L.
- Tolueno en el aire espirado: 20 p.p.m.

*Tricloroetileno*

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** La vía de entrada más importante es la respiratoria, por la inhalación de los vapores, pero también es importante la vía dérmica; se distribuye rápido y se acumula en el tejido adiposo, es muy soluble en las grasas y pasa fácilmente la barrera placentaria.

El tricloroetileno se biotransforma en el hígado, se piensa que con la formación de un epóxido que hace un enlace covalente con las proteínas; también se ha propuesto un modelo alternativo con una migración de cloruro en el tricloroetileno oxigenado, y más tarde, puede ocurrir una oxidación a ácido tricloroacético o una reducción a tricloroetanol. Este tricloroetanol se conjuga rápido con el ácido glucurónico para formar el glucurónido respectivo. El ácido tricloroacético se une a la proteína plasmática y su concentración en plasma será el doble que en sangre total.

La biotransformación del tricloroetileno disminuye cuando se ingiere alcohol etílico, y se elimina sin cambio a través de los pulmones cerca del 10 % de la cantidad inhalada; del 30 al 50 % se excreta por la orina como tricloroetanol y del 10 al 30 % como ácido tricloroacético, también por esta vía.

En los períodos en que el trabajador no se expone, el tricloroetileno se elimina lentamente. Se ha comprobado que la vida media en la excreción urinaria de los dos metabolitos es de 41 h.

**Monitoreo biológico.** La determinación de tricloroetanol en la orina parece ser más sensible que la determinación de tricloroetileno en el aire exhalado. La excreción de ácido tricloroacético puede utilizarse para evaluar la exposición del día precedente. Se prefiere la determinación en la sangre porque disminuye la variación individual; se

utiliza también la determinación en la orina de ambos compuestos: tricloroetanol y tricloroacético en un método analítico que mide a ambos a la vez.

Cuando la concentración en el ambiente laboral es constante, las variaciones interindividuales en la orina disminuyen y se emplea como un índice de intensidad de la exposición, especialmente cuando la muestra de orina se colecta al final de la última jornada laboral de la semana de trabajo.

Si las concentraciones ambientales no son constantes, se prefiere medir por separado los 2 metabolitos en la orina, pues concentraciones elevadas de tricloroetanol indican exposición reciente, mientras que las concentraciones altas de ácido tricloroacético indican exposición a largo plazo, en elevadas concentraciones.

La concentración de tricloroetileno en el aire alveolar y en la sangre, inmediatamente después de la exposición indican que esta es reciente, mientras que varias horas después indican la exposición promedio del día anterior.

**Toma de la muestra.** La muestra de ácido tricloroacético en la orina debe tomarse al final de la semana de trabajo, así como para determinar en conjunto ácido tricloroacético y tricloroetanol se toma al final de la última jornada de la semana de trabajo. Para la determinación de tricloroetanol libre en la sangre se toma también al final de la última jornada de la semana de trabajo; la muestra de aire espirado de tricloroetileno se toma antes de comenzar la última jornada de la semana de trabajo.

**Niveles de acción biológica:**

- Tricloroetanol libre en la sangre:
  - 4 mg/L (final de la última jornada de la semana).
- Tricloroetanol en el plasma: 0,23 mg/dL.
- Tricloroetileno en la sangre: 0,6 mg/dL.
- Tricloroetanol en la orina: 125 mg/g de creatinina.
- Tricloroacético en la orina:
  - 100 mg/L.
  - 75 mg/g de creatinina.
- 100 mg/g de creatinina (final de la semana).
- Tricloroacético y tricloroetanol en la orina:
  - 300 mg/L.
  - 300 mg/g de creatinina (final de la última jornada).
- Tricloroetileno en aire exhalado:
  - 0,5 p.p.m.
  - 12 p.p.m. (durante la exposición).
  - <0,5 p.p.m. (16 h después de la exposición).

## Xilenos

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** Existen 3 isómeros de xileno: orto, meta y para; penetran fundamentalmente por las vías respiratorias; la absorción pulmonar es semejante para todos los isómeros (del 60 al 70 %). El xileno líquido se absorbe por la piel intacta (de 2 a 2,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ ). Se ha calculado que aproximadamente el 95 % de xileno absorbido en el hombre se biotransforma y solo del 3 al 6 % se excreta sin cambios por el aire espirado.

El xileno se biotransforma con la formación de ácido metilbenzoico, luego se combina con la glicina para formar el ácido metilhipúrico que representa más del 95 % de la fracción metabolizada. La eliminación a través de los pulmones y la orina es rápida, en los pulmones ocurre durante las tres primeras horas y por la orina, durante las 18 h después de haber cesado la exposición.

**Monitoreo biológico.** El ácido metilhipúrico en la orina es el mejor indicador, casi nunca está presente en la orina, excepto en la exposición al xileno.

**Toma de la muestra.** La concentración de ácido metilhipúrico sufre la influencia del período inmediato precedente, y cuando la exposición a xileno no es constante, no se corresponde con la concentración media contenida en el aire, en este caso no se aconseja tomar muestras de una micción de orina en la evaluación ocupacional, sino durante el turno entero de trabajo. Cuando la exposición es constante pueden tomarse las muestras en la últimas 2 h de la jornada laboral.

### Niveles de acción biológica:

- Ácido metilhipúrico en la orina:
  - 1,5 g/g de creatinina (final de la jornada).
  - 1,5 g/g de creatinina.
- Xileno en la sangre: 0,3 mg/100 mL (durante la exposición).

## Otras sustancias químicas

### Amonio

El amonio es un gas a temperatura y presión ambiente, incoloro y olor acre. Se disuelve con facilidad en agua y se utiliza ampliamente en forma líquida como hidróxido de amonio.

**Vía de entrada, distribución y eliminación.** En bajas concentraciones el amonio inhalado se disuelve en el fluido mucoso del tracto respiratorio superior y una pequeña parte alcanza las vías respiratorias más bajas. La retención inicial (80 %), pero disminuye a menos del 30 % en 27 min.

El amonio se forma en el tracto gastrointestinal mediante la degradación biológica de la materia nitrogenada, está presente en todos los tejidos como constitutivo del metabolismo. El ácido glutámico toma al amonio en muchos tejidos para formar parte en varias reacciones de transaminación, donde el nitrógeno se incorpora a los aminoácidos no esenciales. El amonio en el hígado se utiliza para la síntesis de proteína.

La excreción de amonio varía y puede ser a través del aire espirado y la orina como urea. Estas vías de excreción son también válidas para el amonio exógeno y endógeno.

**Monitoreo biológico.** No se propone ninguna determinación en medio biológico para conocer exposición al amonio en el medio laboral.

### *Disulfuro de carbono*

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** La inhalación es la principal vía de absorción del disulfuro de carbono; del 40 al 50 % se retiene en el organismo; su absorción por la piel no es tan importante. Se distribuye por el organismo mediante la corriente sanguínea, sobre todo en los eritrocitos. Es soluble en grasas y se enlaza con los aminoácidos y proteínas, desaparece con rapidez de la sangre y se deposita en tejidos y órganos abundantes en grasas.

El disulfuro de carbono se biotransforma con la formación de ditiocarbamatos y conjugados con el glutatión reducido, así como por transformaciones mediante mecanismos de oxidación. En la orina de trabajadores expuestos puede detectarse: tiourea, ácido mercaptúrico y ácido 2-tiotiazolidina-4-carboxílico (TTCA), conjugado con el glutatión. Del 10 al 30 % de lo absorbido se exhala a través de los pulmones y menos del 1 % se excreta intacto por la orina, el resto se biotransforma (del 70 al 90 %) y se excreta por vía urinaria.

**Monitoreo biológico.** Se han propuesto las determinaciones de disulfuro de carbono en la sangre y en la orina, así como la determinación de tiocompuestos y la prueba de la yodazida, ya que algunos de estos metabolitos hacen reacción positiva a esta.

La determinación de disulfuro de carbono en la sangre no ofrece información de la intensidad de exposición; la prueba de la yodazida tiene un límite de detección elevado, que restringe su empleo para concentraciones de disulfuro de carbono en el aire por encima de 50 mg/m<sup>3</sup>. Se ha demostrado que la determinación de ácido 2-tiotiazolidina-4-carboxílico puede emplearse en el monitoreo biológico, este metabolito posee tiempo de vida media corto.

**Toma de la muestra.** La muestra se toma al final de la jornada de trabajo para determinar ácido 2-tiotiazolidina-4-carboxílico en la orina.

#### **Niveles de acción biológica:**

- Ácido 2-tiotiazolidina-4-carboxílico en la orina:
  - 5 mg/g de creatinina (final de la jornada).
  - 5 mg/g de creatinina.

## Formaldehído

**Vía de entrada, biotransformación y eliminación.** El formaldehído se absorbe en los tractos respiratorio y gastrointestinal. La absorción de la piel parece ser muy ligera, se oxida a ácido fórmico y luego a dióxido de carbono; sus metabolitos se incorporan a las macromoléculas mediante la vía de un carbono o se eliminan a través del aire espirado o la orina. El formaldehído que escapa al metabolismo reacciona con proteínas y ácidos nucleicos en el sitio de entrada.

El formaldehído puede tener una formación endógena a partir de otras sustancias químicas, se sabe que 18 de ellas pueden biotransformarse por los microsomas nasales de las ratas para producirlo, porque es un metabolito normal en el sistema de los mamíferos y sigue el mismo proceso metabólico.

La eliminación ocurre mediante dos vías: inhalatoria y renal. Por la orina se excreta como formato, su tiempo de vida media en el organismo es 100 min. El 80 % de la dosis se recupera como formato en los 30 min siguientes a la exposición. El formaldehído desaparece del plasma con una vida media de 1 a 1,5 min.

**Monitoreo biológico.** Se ha comprobado que el monitoreo biológico en la exposición a formaldehído no es un buen método cuando la exposición es menor que 0,6 mg/m<sup>3</sup>. En general no se propone indicador para el monitoreo biológico debido a la rapidez de eliminación.

## Monóxido de carbono

El monóxido de carbono es un gas incoloro, inodoro y no irritante.

**Vía de entrada, distribución y eliminación.** La vía de entrada es la inhalatoria, atraviesa fácil la barrera alvéolo-capilar y se une a la hemoglobina para formar la carboxihemoglobina (COHb). El monóxido de carbono y el oxígeno compiten por la hemoglobina, pero su afinidad por el monóxido de carbono es de 220 a 240 veces mayor que por el oxígeno.

La COHb se forma en el organismo como parte del catabolismo del hemo y por la peroxidación de lípidos. La producción de monóxido de carbono endógeno aumenta en algunas enfermedades como la anemia hemolítica, también se incrementa en los fumadores (concentraciones mayores que el 15 %).

En el equilibrio, el nivel de COHb es proporcional a la concentración de monóxido de carbono en el aire inspirado y se ha podido establecer para los fumadores la fórmula siguiente:

$$\%COHb = \% CO \text{ en aire} \times \text{tiempo (min)} \times K$$

donde: K es una constante, cuyo valor es:

- Al reposo: 3.
- Trabajo físico ligero: 5.
- Trabajo físico moderado: 8.
- Trabajo físico pesado: 11.



Después que cesa la exposición, la vida media biológica de COHb (en una atmósfera que contiene el 20 % de oxígeno) es 4 horas.

**Monitoreo biológico.** Se propone determinar COHb en la sangre, pero debido a que se han encontrado concentraciones elevadas de este indicador en personas fumadoras (no ocupacionalmente expuestas), se propone determinar tiocianatos en el suero o en la orina para ayudar a interpretar el valor de COHb. Si se encuentra que:

- El tiocianato en suero es mayor que 0,38 mg/100 mL y la COHb es del 2,5 al 6 %, muestra que la concentración hallada de COHb se debe al cigarro.
- El tiocianato en suero es menor que 0,38 mg/100 mL y la COHb es mayor que el 5 %, o sea, existe posible exposición ocupacional al monóxido de carbono.

La concentración de COHb también puede aumentar en la exposición a cloruro de metileno (diclorometano).

**Toma de la muestra.** Tanto para la determinación de monóxido de carbono en el aire espirado, como para la de COHb en la sangre, se toman las muestras al final de la jornada laboral.

**Valores de referencia:**

- COHb:
  - <1 %.
  - Del 0,4 al 0,7 %.
  - Después de fumar cigarrillos (1 cajetilla/día): del 5 al 6 %.
  - Después de fumar cigarrillos (2-3 cajetilla/día): del 7 al 9 %.
  - Por conducir autos en avenidas urbanas: el 5 %.
- Monóxido de carbono en la sangre: <0,15 mL/100 mL (no fumador).
- Monóxido de carbón en aire espirado: <2 p.p.m.

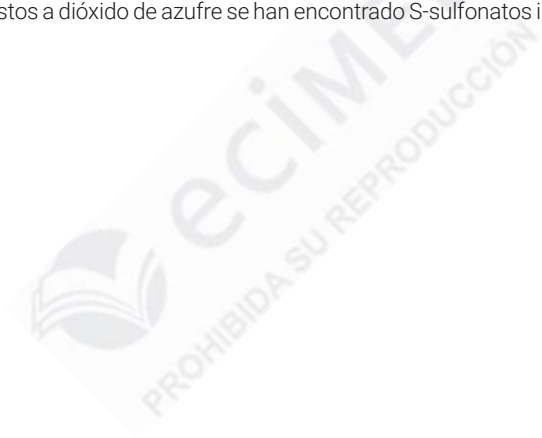
**Niveles de acción biológica:**

- Monóxido de carbono en la sangre: 10 mL/100 mL (no fumador).
- Monóxido de carbono en el aire final exhalador:
  - 18 p.p.m. (no fumador).
  - 12 p.p.m. (final de la jornada).
  - 20 p.p.m. (final de la jornada).
- COHb en la sangre:
  - 5 % (no fumador).
  - 8 %.
  - 3,5 % de Hb (final de la jornada).

## Otros compuestos

Existen otros compuestos que se utilizan ampliamente en la industria y poseen acción nociva local como característica fundamental, por lo que serán tratados de forma conjunta. Para ninguno de ellos se propone realizar monitoreo biológico, debido a que su acción principal es a nivel de las vías respiratorias superiores y no tienen una acción sistémica, las cantidades que penetran en el organismo no son suficientes para provocar daño. Estos compuestos son: óxidos de nitrógeno, cloro, dióxido de azufre, sulfuro de hidrógeno y nieblas de los ácidos, entre otros.

Los óxidos de nitrógeno se forman por la combinación del oxígeno y el nitrógeno, están constituidos por diferentes compuestos, los más importantes son el óxido nítrico y el dióxido de nitrógeno. El dióxido de azufre es muy soluble en medio acuoso, más del 90 % del inhalado se absorbe por las vías respiratorias superiores, en niveles de exposición de 2,9 a 140 mg/m<sup>3</sup> pasan al torrente sanguíneo y se distribuyen por todo el organismo; al parecer se biotransforma y se excreta por la orina. En el plasma de conejos expuestos a dióxido de azufre se han encontrado S-sulfonatos incrementados.



## Capítulo 9

# Aseguramiento de la calidad

El aseguramiento de la calidad (OMS, 1984) se refiere a todos los pasos que deben tomarse para garantizar la confiabilidad de los resultados de laboratorio. Está relacionado con la selección, colección, almacenamiento, transporte de la muestra, registro, reporte e interpretación de los resultados. Desde el punto de vista del análisis es la evaluación inicial de un método analítico que toma en cuenta la viabilidad, precisión, exactitud (linealidad, especificidad, recobrado, calibración, blancos, interferencias) y luego la evaluación de la calidad.

La selección del método analítico es uno de los aspectos más importantes para asegurar la calidad del resultado final, debe ser suficientemente exacto, sin sofisticación y costos innecesarios, además, poseer la sensibilidad suficiente para detectar de forma precisa y exacta los niveles del contaminante en el medio biológico.

Se tratarán algunos aspectos importantes para asegurar los resultados del monitoreo biológico.

## Errores preanalíticos

En relación con la salud ocupacional entran en función aspectos muy importantes debido a la incidencia en el medio laboral y constituir una fuente de error: la contaminación de las muestras y la muestra.

La contaminación de las muestras es la fuente de errores más importante en el análisis de trazas. Los elementos trazas se encuentran en la superficie terrestre y entran en la muestra en todas las fases de ejecución del análisis, lo cual es más importante cuanto más pequeñas son las cantidades que se analizan. La contaminación preanalítica puede deberse a:

- El local de trabajo, la piel y las ropas del trabajador son los errores más drásticos: para tomar las muestras de sangre, por ejemplo, para la determinación de plomo en la sangre se recomienda lavar la zona de punción con solución al 5 % de ácido clorhídrico, seguido de un enjuague con alcohol etílico, todos ellos de calidad para análisis de trazas. El riesgo de contaminación en la colección de orina es mayor cuando se realiza en el local de trabajo o zonas aledañas, posiblemente contaminadas, por tanto, se requiere que el trabajador se bañe y cambie las ropas de trabajo; también se le debe orientar al trabajador que elimine las primeras gotas de orina. La muestra debe tomarse en un lugar alejado de las fuentes de producción del contaminante y en óptimas condiciones de limpieza.

- Las agujas: Las de acero inoxidable contienen grandes cantidades de cromo, níquel, cobalto y manganeso que pasan en los primeros mililitros de sangre; se recomiendan agujas recubiertas de silicona.
- Anticoagulantes y preservantes: La información acerca del efecto de los anticoagulantes (como contaminantes las muestras) es insuficiente; se reporta que el citrato de sodio, el litio y la heparina contienen elevadas concentraciones de aluminio. Los ácidos nítrico y clorhídrico son los preservativos más usados, con calidad ultrapura.
- Materiales de vidrio y plásticos: Los vidrios y algunos tipos de plástico contienen cantidades variables de elementos que pueden ser trasladados a la sangre o la orina donde se deposita, por ejemplo, los tubos de cuarzo con elevada pureza son fuentes contaminantes de aluminio, cromo y molibdeno. Los tubos plásticos son fuentes de contaminantes como el etilbenceno y el xileno.

Las muestras de sangre y orina deben ser adecuadamente representativas, y al analizar la sustancia química o sus metabolitos no se sumen errores que pueden ser subsanados. La muestra de sangre debe tomarse teniendo en cuenta los aspectos siguientes:

- Los factores fisiológicos que contribuyen a la variabilidad intraindividual de los constituyentes sanguíneos tienen efectos similares en la concentración de las sustancias químicas.
- La distribución de agua en la sangre depende de la postura: cuando el individuo está de pie, se sabe que hay pérdida de agua en el plasma y aparente incremento aproximadamente del 10 % de los constituyentes de la sangre (proteínas o células); estas diferencias son más significativas en presencia de alguna enfermedad, además, suceden cambios locales en la distribución de agua cuando se aplica torniquete.
- Los alimentos ricos en grasas aumentan la concentración de triglicéridos después de la comida y afectan la distribución de solventes liposolubles (diclorometano y xileno).
- Al realizar ejercicio, cambian los constituyentes del suero sanguíneo debido a la filtración de los componentes intracelulares, el ejercicio continuo puede causar hemodilución. Se recomienda que previo a la toma de la muestra el paciente permanezca sentado y tranquilo durante al menos 15 min antes de realizar la punción venosa.
- Las condiciones patológicas como la enfermedad hepática también alteran el metabolismo de la sustancia química y su eliminación. Los daños renales causan la retención de las sustancias químicas. La excreción a través de los pulmones se ve alterada probablemente por la bronquitis crónica o enfisema.

- El análisis de sangre de sustancias químicas volátiles debe realizarse de la sangre venosa y no de la capilar, debido a la diferencia de concentración entre la sangre venosa y arterial inducida por el consumo y el proceso de limpieza pulmonar.
- Para el análisis de solventes orgánicos como: benceno, tolueno, etc., los frascos deben estar completamente llenos con la muestra biológica y no deben abrirse hasta el momento del análisis.

Para la muestra de orina deben observarse los requerimientos siguientes:

- Los solventes orgánicos: benceno, metiletilcetona, tetracloroetileno, tolueno y 1,1,1-tricloroetano son muy volátiles. En recipientes con tapas de rosca hay pérdidas de estos solventes.
- La orina es una solución que contiene uratos y fosfatos, y las células forman conglomerados, lo cual hace que esta tienda a precipitarse en su almacenamiento; también causa precipitación el enfriamiento y la infección bacteriana en el tracto urinario. La centrifugación de la orina (necesaria en caso de precipitados) puede disminuir el contenido de mercurio en la fase líquida.
- La adsorción de cationes metálicos en la superficie de diferentes tipos de vidrio o plásticos es muy conocida. En estudios realizados se ha reportado que con el plomo no existen pérdidas tanto en plástico como en vidrio, mientras que, con otros, reportan significativa pérdida.
- Muchas sustancias químicas poseen vida limitada en matrices biológicas, estas pueden contener enzimas que las degradan; en las muestras de orina las bacterias son efectivas en la biotransformación, sobre todo de moléculas orgánicas, entre ellas los ácidos hipúricos y metilhipúrico, asimismo, se ha reportado una notoria inestabilidad en las soluciones de mercurio en agua.
- La pérdida de agua por evaporación aumenta la concentración de las sustancias químicas en estudio, aunque casi siempre el error introducido por la pérdida es menor y no afecta los análisis diarios de rutina, pero sí tienen importancia en materiales que permanecen almacenados durante largo período, como los materiales de control de calidad.
- La concentración de plomo es de 50 a 100 veces más elevada en los eritrocitos que en el plasma, la del manganeso también es 20 veces mayor y se hace evidente que la ruptura de la célula provoca gran aumento de la concentración de tales elementos en el plasma o suero.
- La variación en el volumen urinario es muy significativa, lo que evita la ingestión previa de líquidos y diuréticos. El cálculo de la velocidad de eliminación ofrece información precisa, pero la colección cuantitativa de la orina en un período determinado es excepcionalmente posible en las condiciones laborales. Una

medición única de la concentración puede aportar datos sobre la exposición, pero la medida cuantitativa de la exposición está debilitada por la variabilidad de la velocidad de eliminación en la orina. Las orinas muy diluidas o muy concentradas no son apropiadas para el monitoreo biológico, se debe tomar nueva muestra. En las muestras de una sola micción se hace la determinación de creatinina en la orina o medir su densidad, con lo cual se logra mejor comparación de los resultados. Con los valores de creatinina en la orina menores que 0,3 g/L, se desechará la muestra.

## Errores analíticos

Los sesgos y las imprecisiones en un análisis se deben a la contaminación o a la negligencia en la especificidad analítica, el recobrado o la calibración. La contaminación se debe a una adición inadvertida de una cantidad del analito en la muestra, proveniente de los reactivos y de la instrumentación analítica (pipetas y recipientes). También la lectura en el equipo de una muestra con elevada concentración, seguida de otra con baja concentración, puede contaminar esta. La determinación de metales que se encuentran en el ambiente, como el plomo, debe hacerse en laboratorios estrictamente limpios.

La especificidad es la capacidad de un método analítico para medir solo la sustancia química deseada, los métodos más específicos utilizan separación cromatográfica, como el ácido hipúrico y metilhipúrico, el fenol y la hexanodiona, o el plomo por absorción atómica.

El recobrado es la proporción de un analito que alcanza la etapa final en el análisis. Las razones de las pérdidas para no obtener el 100 % de recobrado son la extracción del analito entre dos fases, el secado de cenizas que pueden llevar a pérdida por evaporación del metal analizado y que el metal puede ser adsorbido en las paredes de los recipientes.

El análisis depende de la comparación de la señal del analito en la matriz que se va a estudiar con la solución estándar. La exactitud del resultado final depende de la exactitud de la concentración de estándar de calibración, por tanto, la inestabilidad de la solución puede implicar sesgos en el análisis.

La imprecisión sucede debido a ligeras variaciones en la ejecución del análisis, el pesado, la calidad de los instrumentos de medida de cristal, el tiempo y la temperatura de las reacciones enzimáticas, variaciones en la fuerza de la agitación de una extracción y otros. La imprecisión para un análisis no es constante y es más pequeña cuando la réplica del análisis se realiza en condiciones de repetibilidad, es decir, que se realicen en un mismo laboratorio, por una misma persona, los mismos instrumentos, el mismo lote de reactivos y estándares. Además, es mayor en condiciones de reproducibilidad,

en las que se emplea la misma metodología, pero en distintos laboratorios y con operarios y equipos diferentes.

## **Enfoque de sistema**

En la actualidad ya no es suficiente trabajar con el máximo de cuidado y tener en cuenta todas estas fuentes de errores, ahora se necesita un sistema de gestión de la calidad bien implementado.

Para disponer de un sistema de control de calidad, con competencia técnica y que los resultados generados son válidos acorde con las exigencias actuales internacionales y nacionales, es necesario la aplicación de las normas vigentes: ISO/IEC 17025:2017 "Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayos y calibración", así como la NC-ISO 15189: 2008 "Laboratorios clínicos-Requisitos particulares para la calidad y la competencia"; las cuales contienen dentro de sus apartados, criterios de gestión y técnicos bien establecidos para la competencia especializada en ensayos y calibraciones que realiza un laboratorio. Su implementación constituirá la base de la obtención de la categoría de laboratorio acreditado.

La adopción de un sistema de gestión de la calidad es una decisión necesaria y estratégica de una organización, y para que esta funcione de manera eficaz, debe identificar y gestionar numerosas actividades relacionadas entre sí. Una actividad que utiliza recursos, y que se gestiona para permitir que los elementos de entrada se transformen en resultados, se puede considerar como un proceso. Con frecuencia el resultado de un proceso constituye el elemento de entrada del siguiente proceso.

El enfoque basado en procesos es uno de los principios del sistema de gestión de la calidad, que mantiene la NC-ISO 9001:2015; que implica una forma no convencional de trabajo, donde las principales actividades se ordenan de forma horizontal a lo largo de toda la organización e interaccionan como sistema. La nueva edición de la norma NC-ISO 9001: 2015 incorpora un nuevo concepto: "el pensamiento basado en riesgos" aplicable a los procesos, que permite un tratamiento más integral de las principales actividades para impulsar la mejoría del sistema.

Las actividades encaminadas para alcanzar la acreditación de un laboratorio son diversas y cada institución deberá adoptarlas y ajustarla acorde con sus requerimientos.

## Capítulo 10

---

# Métodos de ensayo para el monitoreo biológico

La exposición ambiental y profesional a sustancias nocivas condiciona la aparición de determinados cambios significativos en la fisiología normal del organismo, cuando no se toman oportunamente las medidas de seguridad adecuadas para determinado puesto de trabajo, donde el riesgo puede estar presente. Tras la absorción por cualquier vía de las sustancias xenobióticas, ocurre una respuesta concreta del organismo, cuyas características y magnitud dependen del ente nocivo específico, de la dosis absorbida correspondiente y del tiempo de exposición.

Muchas de las intoxicaciones profesionales crónicas debido a sustancias nocivas, cuando se declaran como tales, son prácticamente irreversibles, lo cual es necesario detectarlas y controlarlas en sus primeros estadios cuando aún los cambios se consideran reversibles. El monitoreo biológico puede contribuir, en gran medida, a establecer criterios de prevención de enfermedades profesionales causadas por factores químicos del ambiente laboral.

El monitoreo biológico es un complemento del monitoreo ambiental en la higiene del trabajo, pero no siempre se dispone del indicador idóneo, desde el punto de vista orgánico, para identificar y cuantificar el bioindicador deseado para una exposición a determinada sustancia nociva, por lo que ha sido y seguirá siendo un problema en la química analítica desarrollar métodos de ensayo adecuados para la cuantificación de distintos elementos o metabolitos en medio biológico.

El control biológico permite evaluar la exposición relativa en un período prolongado, la exposición como consecuencia de la movilidad del trabajador en el ambiente de trabajo, la absorción de la sustancia problema mediante distintas vías, la exposición global-laboral y extralaboral, y la cantidad de sustancia absorbida.

La química analítica ha ampliado su campo en la toxicología con la práctica de análisis específicos para detectar y dosificar los tóxicos, especialmente en los medios biológicos. Este auge continúa en este siglo, y en los últimos 50 años, la toxicología industrial, gracias a las innovaciones de los conocimientos de fisiología humana y bioquímica, ha permitido la adquisición de conocimientos toxicológicos que en las últimas décadas se han orientado a la investigación de los mecanismos de acción de los tóxicos, al diagnóstico precoz de las intoxicaciones industriales y especialmente a su prevención, lo que permite promulgar una legislación protectora de los trabajadores sometidos a riesgos tóxicos.



Se ofrece un conjunto de métodos de ensayos para determinar las concentraciones del metabolito o elemento existente en medio biológico, después de una exposición con características de que puedan realizarlas en los laboratorios que atienden la salud ocupacional, de acuerdo con las condiciones existentes en cada área y el programa de control.

Se ha tratado de realizar los procedimientos normalizados de operación de cada una de las técnicas de ensayo. Todas, adecuadas con los registros establecidos en el Laboratorio de Riesgos Químicos del INSAT, por tanto, los códigos corresponden al sistema establecido en el laboratorio. Para ajustarlo a cada laboratorio, tienen que poseer un registro característico propio. Es oportuno señalar que la preparación de las soluciones se encuentra enunciada en un documento aparte, y la referencia de cada procedimiento normalizado de operación (PNO) aparece en la bibliografía general de la obra. Se ha tenido en cuenta todo lo referente al control de la calidad de los términos de exactitud, especificidad, recobrado, precisión y sensibilidad.

Los métodos de determinación del plomo y mercurio por la ditizona no se adecuan al formato de PNO.

## Determinación de plomo en la sangre

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de plomo en la sangre* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* El método se basa en la extracción directa de plomo de la sangre hemolizada con metilisobutilcetona (MIBK), utilizando tetrametileno ditiocarbamato de amonio (APDC) como agente quelante. El contenido de plomo en la fase orgánica se determina por espectrofotometría de absorción atómica a 283,3 nm con llama de aire acetileno.

La concentración del metal se determina mediante una curva de calibración de concentración conocida.

*Aplicable a:* muestras de sangre total con heparina.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que trabaja en el laboratorio el cumplimiento de este PNO.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para los reactivos químicos y las muestras biológicas (según MP.RQ.01) y con las del equipamiento, según los instructivos de uso.

**Equipos, utensilios y medios de medición.** Toda la cristalería utilizada, previamente tratada según el anexo A:

- Espectrofotómetro de absorción atómica con lámpara de cátodo hueco de plomo, quemador de aire/acetileno (INS.RQ.01.028).
- Centrifuga de hasta 3 000 r.p.m (INS.RQ.01.036).
- Agitador horizontal de tubos (INS.RQ.01.010).
- Vortex, agitador de tubo de ensayo (INS.RQ.01.34).
- Tubos de cultivo de 10 mL con tapa de rosca o tubos para centrifugar de 10 mL con tapa.
- Pipetas graduadas y aforadas.
- Frascos volumétricos.
- Probetas con tapa esmerilada.
- Viales plásticos de 25 mL con tapa.
- Jeringuillas de 10 mL.
- Agujas hipodérmicas No. 20.

**Materiales y reactivos:**

- Metilisobutilcetona saturada con agua (MIBK) (PNO.RQ.01.003) (4.1.1).
- Solución de tritón X-100/APDC (PNO.RQ.01.003) (4.1.2).
- Solución de cloruro de calcio (PNO.RQ.01.003) (4.1.3).
- Solución de referencia de plomo 1 000 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.1.4).
- Solución de referencia de plomo 100 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.1.5).
- Solución de referencia de plomo 10 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.1.6).
- Acetileno filtrado, certificado.
- Heparina 25 000 UI/5 mL.
- Sodio fluoruro.

**Procedimiento.** *Muestras.* Si el análisis no se va a realizar en el momento, las muestras son estables durante 4 días a 15 oC y 7 días en congelación, aunque el pipeteo, si es posible, debe hacerse el mismo día.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Se toman 2 mL de sangre total y se colocan en un tubo para centrifugar con tapa o un tubo de cultivo con tapa de rosca. La muestra deberá realizarse por duplicado.
- Determinación. A la porción de ensayo se le añade 0,8 mL de solución de tritón x-100/APDC. Se agita en el vortex para mezclar bien. A continuación, se adicionan 2 mL de metilisobutilcetona saturada con agua, se agita vigorosamente durante 2 min y se centrifuga a 2 500 r.p.m. durante 10 min. Si el paciente está recibiendo

tratamiento con quelantes, se añade 0,05 mL de cloruro de calcio, momento antes de la adición de metilisobutilcetona.

- Ensayo en blanco. Se realiza según el mismo procedimiento indicado en el punto anterior, se utilizan 2 mL de agua bidestilada en lugar de la sangre.
- Curva patrón y calibración. Se preparará según PNO.RQ.01.003 (4.1.7).

De cada patrón se deben tomar 2 mL y el blanco 2 mL de agua, y se procesa igual que las muestras.

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el equipo de absorción atómica y se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante para la determinación de plomo con llama de aire/acetileno y lámpara de cátodo hueco. La medición fotométrica se realiza a 283,3 nm antes de las 2 h, después de añadir la metilisobutilcetona.

La concentración en las muestras se obtendrá por interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrado, donde se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

El equipo de absorción atómica utiliza este sistema estadístico para la cuantificación de los resultados de modo automático por medio de una computadora acoplada al equipo, se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

*Expresión de los resultados.* Las muestras se realizan por duplicados, y se promedian para emitir el resultado final, si existe diferencia entre ambos resultados, se realizará una tercera réplica.

Los resultados de los análisis se informarán cuando se confeccionen sus órdenes correspondientes y, cuando sea una entidad, se redactará un informe según el modelo. Los resultados ( $\mu\text{g/dL}$ ) se aproximan hasta la décima.

**Registro.** Es obligación del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra: número de registro, fecha, nombre y apellido del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro para uso del equipo deben aparecer los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico reflejar en el registro de entraba y en la orden el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá ejecutarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no sean aprobadas otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que sea efectúe la determinación de plomo en la sangre.

## Aprobaciones:

|                | Nombre y apellidos      | Cargo                  | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|-------------------------|------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Téc. Caridad Cabrera    | Técnica de Laboratorio |       | 09/2011               |
| Revisado por:  | Lic. Arelis Jaime Novas | Investigadora Auxiliar |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz     | Jefa de Departamento   |       |                       |

**Anexo A. Limpieza de la cristalería.** La cristalería se limpiará inmediatamente después de concluido el análisis. Se lavará con detergente, el enjuague se hace con agua corriente y destilada, y se coloca en solución de ácido nítrico al 5 % de un día para el otro. Si se necesita una limpieza inmediata, se sumerge en una solución de ácido nítrico al 50 % durante media hora, por último, se extrae de esa solución y se lava con agua destilada y bidestilada.

## Determinación de plomo en la orina

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de plomo en la orina* en el Departamento de Riesgos Químicos.

**Fundamento del método.** El método se basa en la extracción directa de plomo contenido en la orina. El plomo forma un complejo con amonio pirrolidinditiocarbamato (APDC), el cual se extrae con metilisobutilcetona. La fase orgánica se aspira directamente de la llama del espectrofotómetro de absorción atómica y se mide el contenido de plomo a una longitud de onda de 283,3 nm con llama de aire acetileno.

La concentración del metal se determina mediante una curva de calibración de concentración conocida.

*Aplicable a:* muestras de orina.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para los reactivos químicos y las muestras biológicas (según MP.RQ.01) y con las del equipamiento, según los instructivos de uso.

**Equipos, utensilios y medios de medición.** Toda la cristalería utilizada, previamente tratada según el anexo:

- Espectrofotómetro de absorción atómica con lámpara de cátodo hueco de plomo, quemador de aire/acetileno (INS.RQ.01.028).
- Centrifuga de hasta 3 000 r.p.m. (INS.RQ.01.036).
- Agitador horizontal de tubos (INS.RQ.01.010).
- Vortex, agitador de tubo de ensayo (INS.RQ.01.34).
- Tubos de cultivo de 15 mL con tapa de rosca o tubos para centrifugar de 15 mL con tapa.
- Pipetas graduadas y aforadas.
- Frascos volumétricos.
- Probetas con tapa esmerilada.
- Frascos para la toma de muestra de orina.

**Materiales y reactivos:**

- Metilisobutilcetona saturada con agua (MIBK) (PNO.RQ.01.003) (4.1.1).
- Solución de tritón X-100/APDC (PNO.RQ.01.003) (4.1.2).
- Solución de cloruro de calcio (PNO.RQ.01.003) (4.1.3).
- Solución de referencia de plomo 1 000 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.1.4).
- Solución de referencia de plomo 100 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.1.5).
- Solución de referencia de plomo 10 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.1.6).
- Acetileno filtrado, certificado.
- Heparina 25 000 UI/5 mL.
- Sodio fluoruro.
- Timol.

**Procedimiento. Muestras.** Si las muestras son de una orina de 24 h o de una sola micción, se sigue el procedimiento según PNO.RQ.01.002.

Si el análisis no se va a realizar en el momento, las muestras de 24 h se homogenizan bien, se mide el volumen total, se anota y se toman 100 mL en frascos de polietileno. Si se van almacenar, se añade 5 mg de timol si no se analiza en el día y se conserva en el refrigerador a 4 oC durante un período no mayor que 3 días.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo:
  - Muestra de orina sin la aplicación de quelante (EDTA) al paciente; a los que no se ha aplicado quelantes, se toman 10 mL de la orina y se añaden a un tubo de centrifuga con tapa o un tubo de ensayo con tapa de rosca.

- Muestra de orina después de la aplicación de quelante. Cuando se haya aplicado quelantes al paciente, se toma 2 mL de la orina y se añaden a un tubo de centrífuga con tapa o un tubo de ensayo con tapa de rosca.
- Determinación. A la porción de ensayo se le añaden 0,8 mL de solución de tritón X-100-APDC y se agita durante 10 s. A continuación, se adicionan 2 mL de metilisobutilcetona saturada con agua, se agita vigorosamente durante 2 min y se centrifugan a 2 500 r.p.m. durante 10 min. Si el paciente recibió tratamiento con EDTA, se añaden 0,05 mL de solución de cloruro de calcio momento antes de la adición de la metilisobutilcetona.
- Ensayo en blanco. Se sigue el procedimiento descrito en la determinación, se utilizan 2 o 10 mL de agua bidestilada según el volumen de orina tomado para el ensayo.
- Curva patrón y calibración. La orina utilizada para la escala de referencia será de persona no expuesta:<sup>1</sup>
  - Para muestras de orina sin la aplicación de quelantes se prepara según PNO.RQ.01.003 (4.2.1.1). Se continúa como se realiza la determinación de la muestra.
  - Para muestras de orina después de la aplicación de quelantes se prepara según PNO.RQ.01.003 (4.2.1.2) la escala siguiente: se procede como se indica en la determinación de la muestra.

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el equipo de absorción atómica y se ajustarán los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante, para la determinación de plomo con llama de aire/acetileno y lámpara de cátodo hueco. La medición fotométrica se efectúa a 283,3 nm, antes de las 2 h después de añadir la metilisobutilcetona.

La concentración en las muestras se obtendrá por interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrado (RL), en el cual se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

El equipo de absorción atómica utiliza este sistema estadístico para la cuantificación de los resultados de manera automática por medio de una computadora acoplada al equipo y se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

*Expresión de los resultados.* Casi siempre las muestras se realizan por duplicados y se promedian antes de realizar el cálculo siguiente. En la orina de 24 h se emplea la fórmula:

$$C = \frac{a}{V_a} \cdot V_t \text{ (}\mu\text{g/24 h)}$$

<sup>1</sup>: No se adiciona cloruro de calcio.

donde:

a: Contenido de plomo en la porción de ensayo.

Va: Volumen de la porción de ensayo (mL).

Vt: Volumen total de la muestra colectada.

La concentración de plomo en la orina de una micción se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$C = \frac{a}{V} \cdot 1\,000 \text{ (}\mu\text{g/mL)}$$

donde:

a: Contenido de plomo en la porción de ensayo.

V: Volumen de la porción de ensayo (mL).

1 000: Factor para expresar la concentración (L).

Los resultados de los análisis se informarán cuando se confeccionen sus órdenes correspondientes y cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo. Los resultados se expresarán en  $\mu\text{g/mL}$  o  $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ , según el caso y se aproximan hasta la décima.

**Registro.** Es obligación del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra: número de registro, fecha, nombre y apellido del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria. En el registro de uso del equipo deberá aparecer el empleo del equipo.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, se deberá ejecutar según informes de análisis.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no sean aprobadas otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que sea llevada a cabo la determinación de plomo en la orina.

#### Aprobaciones:

|                | Nombre y apellidos      | Cargo                  | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|-------------------------|------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Téc. Caridad Cabrera    | Técnica de Laboratoriw |       | 01/09/2011            |
| Revisado por:  | Lic. Arelis Jaime Novas | Investigadora Auxiliar |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz     | Jefa de Departamento   |       |                       |

**Anexo A. Limpieza de la cristalería.** La cristalería se limpiará inmediatamente después de concluido el análisis. Se lavará con detergente, el enjuague con agua corriente y destilada y se coloca en solución de ácido nítrico al 5 % de un día para el otro. Si se necesita una limpieza inmediata se sumerge en una solución de ácido nítrico al 50 % durante media hora. Se extrae de esa solución y se lava con agua destilada y bidestilada.

## Determinación de mercurio en la orina

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de mercurio en la orina* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* El método se basa en el tratamiento de las muestras de orina con ácido nítrico y la reducción ulterior de los iones de mercurio con cloruro estannoso. Los vapores de mercurio se liberan de la solución mediante inyección de aire y pasan a través de una celda con ventanas de cuarzo, donde ocurre la absorción de la radiación incidente a 253,7 nm, cuya intensidad es proporcional al contenido de mercurio en la muestra.

La concentración del metal se determina mediante una curva de calibración de concentración conocida.

*Aplicable a: muestras de orina.*

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio el cumplimiento de esta instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para los reactivos químicos y las muestras biológicas (según MP.RQ.01) y con las del equipamiento, según los instructivos de uso.

**Equipos, utensilios y medios de medición.** Toda la cristalería utilizada, previamente tratada según el anexo:

- Espectrofotómetro de absorción atómica con accesorios para el análisis de mercurio mediante la técnica de vapor frío (PNO.RQ.01.028).
- Tubos de cultivo de 15 mL con tapa de rosca o tubos para centrifugar de 15 mL con tapa.
- Frascos volumétricos.
- Probetas graduadas.
- Pipetas graduadas y volumétricas.
- Frascos de polietileno.



**Materiales y reactivos:**

- Ácido nítrico.
- Alcohol isoctílico.
- Solución de cloruro estannoso (PNO.RQ.01.003) (4.5.1).
- Solución de referencia de mercurio de 1 000 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.5.2).
- Solución de referencia de mercurio de 100 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.5.3).
- Solución de referencia de mercurio de 1 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.5.4).
- Algodón desgrasado.
- Solución de ácido sulfúrico al 10 % (PNO.RQ.01.003) (4.5.5).
- Solución de permanganato de potasio (PNO.RQ.01.003) (4.5.6).
- Solución de yoduro de potasio al 3 % (4.5.7).
- Solución de yodo al 0,25 % (PNO.RQ.01.003) (4.5.8).

**Procedimiento. Muestras.** Si las muestras son de la orina de 24 h o de una sola micción, se sigue el procedimiento según PNO.RQ.01.002. Si el análisis no se va a realizar en el momento, las muestras de 24 h se homogenizan bien, se mide el volumen total, se anota y se toman 100 mL en frascos de polietileno. Si van a ser almacenadas, 0,1 g de persulfato de potasio por cada 100 mL de la orina y se conserva en refrigeración a 4 °C durante un período no mayor que 5 días. La orina de personas que padezcan diabetes se procesa en el momento.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Se toman 4 mL de orina previamente homogeneizados y se añaden a los tubos de 15 mL.
- Determinación. En el tubo de ensayo que contiene la porción de ensayo, añadir 7 mL de ácido nítrico, se agita ligeramente y se deja reposar durante 5 min. A continuación, se añade 1 gota de alcohol 2-octílico y en el momento del análisis se le añade 1 mL de solución de cloruro estannoso y se conecta inmediatamente el frasco al sistema de desprendimiento de los vapores de mercurio del espectrofotómetro, para determinar la absorbancia máxima en el detector. La conexión del frasco será inmediata para no perder mercurio.
- Ensayo en blanco. Se realiza según el procedimiento indicado antes, pero utilizando 4 mL de agua bidestilada en lugar de la orina.
- Curva patrón y calibración. Los patrones se preparan según PNO.RQ.01.003 (4.5.9) y se continúa el análisis de la misma forma que las muestras.

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el equipo de absorción atómica, se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación, indicados por el fabricante para la determinación de mercurio en la orina por el método de vapor frío. La medición fotométrica se realiza a 253,7 nm.

Al concluir el trabajo o cuando una muestra tiene elevado contenido de mercurio, se eliminarán los vapores de mercurio haciendo pasar partes iguales de solución de permanganato de potasio 1 M y ácido sulfúrico al 10 %, después solución de yodo al 0,25 %.

El contenido de las muestras se obtendrá por interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrado (RL), en el cual se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

El equipo de absorción atómica utiliza este sistema estadístico para la cuantificación de los resultados de manera automática por medio de una computadora acoplada al equipo, y se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

*Expresión de los resultados.* Por lo general las muestras se realizan por duplicados, y se promedian antes de realizar el cálculo siguiente:

La concentración de mercurio en la orina se calcula mediante la fórmula:

$$C = \frac{a \cdot 1000}{V} (\mu\text{g/L})$$

donde:

a: Contenido de mercurio en la porción de ensayo ( $\mu\text{g}$ ).

V: Volumen de la porción de ensayo.

1000: Factor para expresar la concentración en  $\mu\text{g/L}$ .

Para la orina de 24 h:

$$C = \frac{a \cdot Vt}{Va} \mu\text{g}/24 \text{ h}$$

donde:

a: Contenido de mercurio en la porción de ensayo ( $\mu\text{g}$ ).

Vt: Volumen total de orina colectada (mL).

Va: Volumen de la porción de ensayo (mL).

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo. Los resultados se expresarán ( $\mu\text{g/mL}$  o  $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ ) según el caso y se aproximan hasta la décima.

**Registro.** Es obligación del técnico reflejar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellido del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán reflejarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entrada, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere de un informe, el responsable de calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no sean aprobadas otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que sea efectuada la determinación de mercurio en la orina.

**Aprobaciones:**

|                | <b>Nombre y apellidos</b> | <b>Cargo</b>              | <b>Firma</b> | <b>Fecha de implantación</b> |
|----------------|---------------------------|---------------------------|--------------|------------------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas   | Aspirante a investigadora |              | <b>01/09/2011</b>            |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara  | Técnica de Laboratorio    |              |                              |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz       | Jefa de Departamento      |              |                              |

*Esquema de trabajo.* Es preferible trabajar las muestras por duplicado. Se realiza un blanco, escala de referencia, blanco, 10 muestras, un punto de la escala de referencia que esté en el rango de las muestras, blanco y así sucesivamente.

**Anexo A. Limpieza de la cristalería.** La cristalería se limpiará inmediatamente concluido el análisis. Se lavará con detergente, se enjuagará con agua corriente y destilada. Luego se coloca en solución de ácido nítrico al 5 % de un día para el otro.

Si se necesita una limpieza inmediata, colocar en solución de ácido nítrico al 50 % durante media hora; se extrae de esta solución y se lava con agua destilada hasta eliminar el ácido y luego se enjuaga seis veces como mínimo con agua bidestilada.

## **Determinación de arsénico en la orina**

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de Determinación de arsénico en la orina en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* El método se basa en la digestión por vía húmeda de las muestras de orina con ácido sulfúrico y nítrico, la conversión de todo el arsénico a su forma trivalente, la generación de arsina con zinc metálico en medio ácido y su posterior reacción con el dietilditiocarbamato de plata en piridina. La intensidad de la coloración formada es proporcional al contenido de arsénico en la orina y se determina mediante comparación espectrofotométrica a 500 nm contra una escala de referencia.

*Aplicable a:* muestras de orina.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este PNO.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para los reactivos químicos y las muestras biológicas (según MPR.Q.01) y con las del equipamiento según las instructivas de uso.

**Equipos, utensilios y medios de medición.** Toda la cristalería utilizada, previamente tratada según el anexo:

- Espectrofotómetro UV visible (PNO.RQ.01.037 o 038).
- Plancha de calentamiento eléctrica (PNO.RQ.01.029).
- Aparato generador de arsina.
- Frasco Kjeldhal de 200 o 300 mL.
- Frascos volumétricos.
- Pipetas graduadas y aforadas.
- Frascos plásticos de 100 mL con tapa.

**Materiales y reactivos:**

- Ácido sulfúrico libre de arsénico.
- Ácido nítrico.
- Ácido clorhídrico.
- Peróxido de hidrógeno al 30 %.
- Zinc granulado (de 0,3 a 1,5 mm diámetro) exento de arsénico, según PNO. RQ.01.003 (4.3.1).
- Solución saturada de oxalato de amonio (PNO.RQ.01.003) (4.3.2).
- Solución de cloruro estannoso, 400 g/L (PNO.RQ. 01.003) (4.3.3).
- Solución de yoduro de potasio, 150 g/L (PNO.RQ. 01.003) (4.3.4).
- Solución de dietilditiocarbamato de plata, 5 g/L (PNO. 01.003) (4.3.5).
- Algodón impregnado en acetato de plomo (PNO.RQ. 01.003) (4.3.6).
- Solución de referencia de arsénico 1 000 µg/mL (PNO.RQ. 01.003) (4.3.7).
- Solución de referencia de arsénico 100 µg/mL (PNO.RQ. 01.003) (4.3.8).
- Solución de referencia de arsénico de 1 µg/mL (PNO.RQ. 01.003) (4.3.9).

**Procedimiento. Muestras.** El análisis se realizará en el día, de no poder efectuarse, se conservará en congelación durante un período no mayor que 5 días.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Se toman 20 mL de orina previamente homogeneizada y se colocan en un frasco Kjeldhal, se evapora ligeramente en

plancha eléctrica hasta que el volumen se haya reducido hasta la mitad aproximadamente, y se enfría a temperatura ambiente. Se añaden 5 mL de ácido sulfúrico y 15 mL de ácido nítrico, se calienta de nuevo hasta la aparición de humos blancos, evitando el ennegrecimiento de la muestra. El frasco se separa de la plancha y se le añade con precaución, gota a gota peróxido de hidrógeno hasta la decoloración total de la solución. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se le adicionan 10 mL de solución saturada de oxalato de amonio y 10 mL de agua bidestilada. Se calienta de nuevo en la plancha hasta la aparición de humos blancos y se deja enfriar a temperatura ambiente<sup>2</sup>.

- Determinación. El contenido del frasco Kjeldhal se transfiere de forma cuantitativa a un frasco cónico del aparato generador de arsina, y lava con 30 mL de agua bidestilada. Se adicionan 5 mL de ácido clorhídrico, 2 mL de solución de yoduro de potasio y 8 gotas de solución de cloruro estannoso. Se agita y se deja reposar durante 15 min. Mientras, se prepara el aparato generador de arsina colocando un pedazo de algodón impregnado con acetato de plomo en el tubo de desprendimiento y 5 mL de solución de dietilditiocarbamato de plata en el microabsorbedor. El frasco cónico se introduce en un baño de agua a temperatura ambiente, se le añaden 3 gotas de zinc y se tapa rápidamente el frasco con la otra parte del aparato generador de arsina. El equipo se protege de la luz solar directa y se deja reposar de 45 min a 1 h. Después del tiempo de absorción y antes de quitar el sistema de desprendimiento, se agita el tubo de desprendimiento dentro de la solución absorbente de arsina, para extraer la arsina que puede quedar:
- Ensayo en blanco. Se realiza según el procedimiento indicado en la determinación, utilizando 20 mL de agua en lugar de la porción de ensayo.
- Curva patrón y calibración:
  - Se preparará según PNO.RQ.01.003 (4.3.10).
  - Se procesa a partir del paso de formación de arsina.

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el equipo espectrofotómetro UV-VIS a 560 nm y se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante.

La concentración en las muestras se obtendrá por interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrado (RL), en el cual se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

El equipo de absorción atómica utiliza este sistema estadístico para la cuantificación de los resultados de manera automática por medio de una computadora acoplada al equipo, y se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

<sup>2</sup>: Pueden usarse tubos y equipo Tecator para la digestión de la muestra.

*Expresión de los resultados.* Por lo general las muestras se realizan por duplicados, y se promedian para emitir el resultado final.

Se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$C = \frac{a}{v} \cdot 1\,000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

donde:

a: Contenido de arsénico en la porción de ensayo ( $\mu\text{g}$ ).

v: Volumen de la porción de ensayo (mL).

1000: Factor para expresar la concentración en litros.

Los resultados de los análisis se informarán cuando se confeccionen sus órdenes correspondientes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo. Los resultados se expresarán en  $\mu\text{g/mL}$  y se aproximan hasta la décima.

**Registro.** Es obligación del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán reflejarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere de un informe, el responsable de la calidad deberá efectuarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no sean aprobadas otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad y se utilizará cada vez que se realice la determinación de arsénico en la orina.

**Aprobaciones:**

|                | <b>Nombre y apellidos</b> | <b>Cargo</b>              | <b>Firma</b> | <b>Fecha de implantación</b> |
|----------------|---------------------------|---------------------------|--------------|------------------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas   | Aspirante a Investigadora |              | 01/09/2011                   |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara  | Técnica de Laboratorio    |              |                              |
| Aprobado por:  | Ing. Heliadora Díaz       | Jefa de Departamento      |              |                              |

## Determinación de cobre en el suero

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de cobre en el suero* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* El método se basa en la lectura directa del suero diluido, con llama de aire acetileno en el espectrofotómetro de absorción atómica a 324,8 nm.

La concentración del metal se determina mediante una curva de calibración de concentración conocida.

*Aplicable a: muestras de suero.*

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este PNO.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para los reactivos químicos y las muestras biológicas (según MP.RQ.01) y con las del equipamiento según los instructivos de uso.

**Equipos, utensilios y medios de medición.** Toda la cristalería utilizada, previamente tratada según el anexo:

- Espectrofotómetro de absorción atómica con lámpara de cátodo hueco de cobre, quemador de aire/acetileno (INS.RQ.01.028).
- Centrífuga de hasta 3 000 r.p.m. (INS.RQ.01.036).
- Tubos de cultivo de 10 mL o tubos para centrifugar de 10 mL.
- Pipetas graduadas y aforadas.
- Frascos volumétricos.
- Probetas con tapa esmerilada.
- Viales plásticos de 25 mL con tapa.
- Jeringuillas de 10 mL.
- Agujas hipodérmicas No. 20.

#### **Materiales y reactivos:**

- Solución de referencia de cobre 1 000 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.15.1).
- Solución de referencia de cobre 100 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.15.2).
- Solución de referencia de cobre 10 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.15.3).
- Acetileno filtrado, certificado.
- Heparina 25 000 UI/5 mL.

#### **Procedimiento:**

*Muestras.* Si el análisis no se va a realizar en el momento, las muestras de suero son estables durante 4 días a 15 oC y 7 días en congelación.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Se toma 1 mL de suero y se coloca en un frasco volumétrico de 10 mL o probeta graduada con tapa de calidad A.
- Determinación. A la porción de ensayo se enrasa con agua destilada a 10 mL y se invierte.

- Ensayo en blanco. El blanco será agua destilada.
- Curva patrón y calibración. Se preparará según PNO.RQ.01.003.

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el equipo de absorción atómica y se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante para la determinación de cobre, con llama de aire/acetileno y lámpara de cátodo hueco. La medición fotométrica se realiza a 324,8 nm.

La concentración en las muestras se obtendrá por interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrado (RL), en el cual se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

El equipo de absorción atómica utiliza este sistema estadístico para la cuantificación de los resultados de manera automática por medio de una computadora acoplada al equipo, se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

*Expresión de los resultados.* Por lo general las muestras se realizan por duplicados y se promedian para emitir el resultado final.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo. Los resultados se expresarán en mg/L o  $\mu\text{mol/L}$  y se aproximan hasta la décima.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán reflejarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de calidad deberá ejecutarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no sean aprobadas otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que se efectúe la determinación de cobre en el suero.

**Aprobaciones:**

|                | <b>Nombre y apellidos</b> | <b>Cargo</b>           | <b>Firma</b> | <b>Fecha de implantación</b> |
|----------------|---------------------------|------------------------|--------------|------------------------------|
| Elaborado por: | Téc. Lilian Villalba      | Técnica de Laboratorio |              | <b>09/2014</b>               |
| Revisado por:  | Lic. Arelis Jaime Novas   | Investigadora Auxiliar |              |                              |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz       | Jefa de Departamento   |              |                              |



**ANEXO A. Limpieza de la cristalería.** La cristalería se limpiará inmediatamente después de concluido el análisis. Se lavará con detergente y enjuague con agua corriente y destilada, y se colocará en solución de ácido nítrico al 5 % de un día para el otro. Si se necesita una limpieza inmediata se sumerge en una solución de ácido nítrico al 50 % durante media hora. Se saca de esa solución y se lava con agua destilada y bidestilada.

## Determinación de manganeso en las heces fecales

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de Determinación de manganeso en heces fecales en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* El método se basa en la oxidación de los compuestos de manganeso hasta ácido permangánico por el persulfato de amonio, en presencia de nitrato de plata en un medio ácido.

La intensidad de la coloración rojo-violeta que se observa es proporcional a la concentración de manganeso, el cual se calcula mediante un método colorimétrico.

La concentración del metal se determina mediante una curva de calibración de concentración conocida.

*Aplicable a:* muestras de heces fecales.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este PNO.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para las muestras biológicas (según MPR.Q.01) y según las de cada equipo que se utilice.

### **Equipos, utensilios y medios de medición:**

- Espectrofotómetro UV visible (INS.RQ.001.038).
- Centrífuga de hasta 3 500 r.p.m. (INS.RQ.01.036).
- Baño de arena (INS.RQ.01.029).
- Baño María (INS.RQ.01.005).
- Mufla (PNO.RQ.01.050).
- Cápsulas de porcelana de 50 mL.
- Probetas.
- Pipetas graduadas y volumétricas.
- Tubos de ensayo.

### **Materiales y reactivos:**

- Solución de ácido sulfúrico 1:20 (PNO.RQ.01.003) (4.4.1)
- Solución de ácido oxálico 80 g/L (PNO.RQ.01.003) (4.4.2)
- Solución de nitrato de plata 10 g/L (PNO.RQ.01.003) (4.4.3)
- Solución de persulfato de amonio 100 g/L, se prepara en el momento del análisis (PNO.RQ.01.003) (4.4.4).
- Solución de ácido sulfúrico y oxálico (PNO.RQ.01.003) (4.4.5).
- Solución de referencia de manganeso de 1 000 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.4.6).
- Solución de referencia de manganeso de 50 µg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.4.7).
- De una solución de 10 µg/mL de manganeso nitrato (solución estándar) (PNO.RQ.01.003) (4.4.8).

**Procedimiento.** *Muestras.* El tiempo óptimo para recoger la muestra de los trabajadores expuestos es en horario de la mañana después de tres días de trabajo. Inmediatamente de llegar al laboratorio, se procesará sin añadir preservante.

#### *Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Se homogeniza la muestra y se pesan 15 g de heces fecales y se colocan en una cápsula de porcelana, se traslada a la mufla fría y se va aumentando lentamente la temperatura hasta 700 °C, en la cual se mantiene durante una hora, transcurrido este tiempo se deja enfriar y se le añaden 2 mL de la solución de ácido sulfúrico concentrado y ácido oxálico, se coloca en baño de arena tapándola con un vidrio reloj para evitar salpicaduras. Cuando está prácticamente evaporada se destapa y se escurre el vidrio reloj en la cápsula, se evapora por completo, se deja enfriar y se disuelve la ceniza seca con 50 mL de ácido sulfúrico 1:20, decantando cuantitativamente una probeta graduada de 50 mL. Después de disuelta la ceniza, se agita y se pasa una porción de 10 mL de esta a un tubo de centrifugar a 3 000 r.p.m. durante 5 min. Para el análisis se toman 1 mL del sobrante y se completa hasta 5 mL con solución de ácido sulfúrico 1:20.
- Determinación. A la porción de ensayo se le añade 0,1 mL solución de nitrato de plata y 1 mL de persulfato de amonio, se agita y se coloca en baño de agua a 80 °C durante 5 min para dejarlo enfriar.
- Ensayo en blanco. Se realiza según el procedimiento indicado en la determinación, utilizando 5 mL de la solución de ácido sulfúrico 1:20 en lugar de la porción de ensayo.
- Curva patrón y calibración. Se preparará según PNO.RQ.01.003 (4.9). Se continúa según se describe en la determinación.

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el equipo de espectrofotómetro UV-VIS, se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante. Antes de realizar la determinación fotométrica, se agita fuertemente hasta el cese de las burbujas. La lectura se realiza en el espectrofotómetro a 525 nm en celdas de 1 cm y ajustando el equipo contra el blanco de reactivos.

La concentración en las muestras se obtendrá mediante interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrado, en el cual se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

El equipo espectrofotómetro UV-VIS utiliza este sistema estadístico para la cuantificación de los resultados de manera automática mediante una computadora acoplada al equipo, se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

*Expresión de los resultados.* Casi siempre las muestras se realizan por duplicados, y se promedian para emitir el resultado final.

Se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$C = \frac{a \cdot 100 \cdot 50 \text{ mg}/100}{p \cdot v \cdot 1000}$$

donde:

a: Contenido de manganeso en la porción de ensayo ( $\mu\text{g}$ ).

p: Peso tomado de la muestra en gramo.

V: Volumen de la porción de ensayo que se toma para la muestra (mL).

50: Volumen total de la porción de ensayo.

100: Factor para expresar los resultados en 100 g de muestra.

1000: Factor para expresar los resultados en miligramo.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo. Los resultados se expresarán en  $\mu\text{g}/100$  y se aproximan hasta la décima.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellido del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán anotarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no sean aprobadas otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que sea realizada la determinación de manganeso en las heces fecales.

## Aprobaciones:

|                | Nombre y apellidos       | Cargo                     | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|--------------------------|---------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas  | Aspirante a Investigadora |       | 01/09/2011            |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara | Técnica de Laboratorio    |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz      | Jefa de Departamento      |       |                       |

**Anexo A. Limpieza de la cristalería.** Se limpia la cristalería con detergente, se enjuaga con agua corriente, destilada y bidestilada. Las cápsulas de porcelana se colocan en mezcla sulfocrómica durante 24 h y luego se lavan como el resto de la cristalería.

### Valor de referencia:

- Manganeso en las heces fecales:
  - 0,23 a 3,71 mg.
  - Mn/100 g.

## Determinación de protoporfirina libre en eritrocitos

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de protoporfirina libre en eritrocitos* en el Departamento de Riesgos Químicos.

**Fundamento del método.** Los eritrocitos se destruyen con mezcla de acetona-acetato de etilo y ácido fórmico-éter dietílico, las porfirinas se extraen del líquido sobrenadante con disolución de ácido clorhídrico 1,5 N y se determina mediante espectrofotómetro a 3 longitudes de onda.

**Aplicable a:** muestras de sangre total con heparina.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que trabaja en el laboratorio, el cumplimiento de este instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para las muestras biológicas (según MPR.Q.01) y según las de cada equipo que se utilice.

### Equipos, utensilios y medios de medición:

- Espectrofotómetro UV-VIS (INS.RQ.01.038).
- Centrífuga de hasta 3 000 r.p.m. (INS.RQ.01.036).
- Agitador vertical.

- Vortex, agitador de tubo de ensayo (INS.RQ.01.034).
- Centrífuga para hematócrito (INS.RQ.01.015).
- Tubos de cultivo de 10 mL con tapa de rosca o tubos para centrifugar de 10 mL con tapa.
- Pipetas graduadas y aforadas.
- Frascos volumétricos.
- Probetas con tapa esmerilada.
- Viales plásticos de 25 mL con tapa.
- Jeringuillas de 10 L.
- Agujas hipodérmicas No. 20.

**Materiales y reactivos:**

- Mezcla de acetona-acetato de etilo 1:9 v/v.
- Mezcla de ácido fórmico-éter dietílico 1:9 v/v.
- Disolución de ácido clorhídrico 1,5 N.

**Procedimiento:**

*Muestras.* Se toman 5 mL de sangre con anticoagulante (heparina, citrato, oxalato, o EDTA) y se determina el valor del hematócrito según PNO.

La muestra puede analizarse inmediatamente o conservarse refrigerada para ser analizada más tarde, en este caso el pH se ajusta más o menos a 5 con algunas gotas de ácido acético glacial para la estabilización de la protoporfirina.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Se toman 2 mL de sangre total y se colocan en un tubo de centrifuga de 15 mL.
- Determinación. A la porción de ensayo se le añaden 2 mL de mezcla de acetona-acetato de etilo y se agita vigorosamente con una varilla de vidrio o vortex durante 1 min, se adicionan 4 mL de mezcla de ácido fórmico-éter dietílico y se vuelve agitar enérgicamente durante 1 min. Después, la muestra se centrifuga durante 4 min para que se deposite el precipitado, el líquido sobrenadante se decanta en otro tubo de centrifuga de 15 mL; el precipitado se extrae con otros 4 mL de mezcla de ácido fórmico-éter dietílico y el líquido sobrenadante se trasvasa al segundo tubo de centrifuga, se añaden 2 mL de solución de ácido clorhídrico 1,5 N, el tubo de centrifuga se tapa herméticamente y se agita con energía durante 30 s. Se mide el volumen de la capa superficial (extracto ácido) y se extrae con una pipeta de Pasteur a una cubeta de 1 cm de paso de luz. Se mide la absorción de la disolución contra la disolución de ácido clorhídrico 1,5 N a 380, 407 y 430 nm.
- Ensayo en blanco. El blanco es el ácido clorhídrico 1,5 N.

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el equipo espectrofotométrico UV-VIS, se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante. La medición fotométrica se realiza a 380, 407 y 430 nm. Los datos se recogen manualmente en la libreta de trabajo.

*Expresión de los resultados (cálculo):*

$$C_{ppE} (\mu\text{g/dL}) = \frac{(2 E_{407} - [E_{380} + E_{430}]) \cdot 1,28 \cdot V_2 \cdot 100}{\text{Hematócrito} \cdot V_1}$$

donde:

$E_{407}$ ,  $E_{380}$  y  $E_{430}$ : Densidades ópticas a 407, 380 y 430 nm, respectivamente.

$V_1$ : Volumen de la muestra de sangre.

$V_2$ : Volumen del extracto ácido (mL).

1,28: Factor obtenido mediante la determinación de la absorción de disoluciones de protoporfirina libre en disolución de ácido clorhídrico.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo. Los resultados se expresarán en  $\mu\text{g/dL}$  y se aproximan hasta la décima.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán reflejarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entrada, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no sean aprobadas otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que sea efectuada la determinación de protoporfirina libre en eritrocitos.

**Aprobaciones:**

|                | Nombre y apellidos       | Cargo                     | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|--------------------------|---------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas  | Aspirante a Investigadora |       | 09/2014               |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara | Técnica de Laboratorio    |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz      | Jefa de Departamento      |       |                       |

## Determinación de ácido delta aminolevulínico en la orina

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de Determinación de ácido delta aminolevulínico en la orina, en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* El ácido delta aminolevulínico (ALA) reacciona con el acetoacetato de etilo para formar un compuesto pirrólico ([2-metil-3-carboetoxi-4]-3-ácido propiónicopirrol) que se extrae de forma selectiva con el acetato de etilo.

El resto de las sustancias positivas al reactivo de Ehrlich no se extraen. El reactivo de Ehrlich provoca una coloración rojo-cereza que se determina en el espectrofotómetro a 553 nm.

*Aplicable a: muestras de orina.*

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que trabaja en el laboratorio, el cumplimiento de este instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para las muestras biológicas (según MPR.Q.01) y según las de cada equipo que se utilice.

### **Equipos, utensilios y medios de medición:**

- Espectrofotómetro UV visible (INS.RQ.001.038).
- Centrifuga de hasta 2 000 r.p.m. (INS.RQ.001.036).
- Reloj de intervalo.
- Probetas con tapas.
- Pipetas graduadas y volumétricas.
- Tubos para ensayo con tapas.
- Tubos para ensayo.
- Frascos volumétricos.

### **Materiales y reactivos:**

- Acetoacetato de etilo.
- Acetato de etilo.
- Reactivo de Ehrlich (PNO.RQ.01.003) (4.7.1).
- Solución reguladora de acetato pH 4,6 (PNO.RQ.01.003) (4.7.2).
- Solución de referencia de ALA de 167,6 mg/L (1 mmol/L) (PNO.RQ.01.003) (4.7.3).
- Solución de trabajo de ALA de 50 mg/L (0,38 mmol/L) (PNO.RQ.01.003) (4.7.4).

### **Procedimiento:**

*Muestras.* La muestra de orina se toma de la orina de una micción, según PNO.RQ.01.002. El análisis se realiza el mismo día y no se añade preservativo a la muestra.

#### *Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Se toma con pipeta 1 mL de la orina en 2 tubos de ensayo, en ambos se le añade 1 mL de solución reguladora de acetato pH 4,6 y se mezclan. A uno de los tubos (muestra) se le añaden 0,2 mL de acetoacetato de etilo, se mezclan. El otro tubo es el control, se colocan en baño de agua hirviente durante 10 min, se dejan enfriar. En ambos tubos se añaden 3 mL de acetato de etilo y se agitan durante 1 min. Se centrifugan a 2 000 r.p.m. durante 5 min. Del tubo que contiene la muestra se toman con pipeta 2 mL de la capa superior de acetato de etilo y se pasa a un tubo para ensayo.
- Determinación. A la porción de ensayo se le añaden 2 mL del reactivo de Ehrlich y se mezcla bien. Se deja reposar durante 10 min.
- Ensayo en blanco. Se sigue el procedimiento descrito en la determinación, se utiliza 1 mL de agua bidestilada y se le añaden 0,2 mL de acetoacetato de etilo.
- Curva patrón y calibración. Se prepara según PNO.RQ.01.003 (4.7.5). La escala de referencia se procesa igual que las muestras.

*Medición fotométrica.* La muestra se lee en el espectrofotómetro UV-VIS a 553 nm contra su propio control o leyendo contra el blanco del gráfico de calibración, tanto la muestra como el control.

La concentración en las muestras se obtendrá por interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrado (RL), en el cual se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

El equipo de espectrofotómetro UV-VIS utiliza este sistema estadístico para la cuantificación de los resultados de manera automática por medio de una computadora acoplada al equipo. Se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

En caso de no leerse la curva se realizará el punto del gráfico correspondiente a la concentración de 10 mg/L.

*Expresión de los resultados.* La concentración de ALA se calcula mediante las fórmulas siguientes:

$$C = DO \cdot f \text{ mg/L}$$

donde:

DO: Absorbancia de la muestra cuando se ajusta el equipo contra su control.

f: Factor del gráfico de calibración.



Cuando se leen las muestras y el control contra el blanco del gráfico de calibración, se utiliza la fórmula siguiente (mg/L):

$$C = (DOM - DOC) \cdot f$$

donde:

DOM: Absorbancia de la muestra.

DOC: Absorbancia del control.

f: Factor del gráfico de calibración.

Si se utiliza el punto del gráfico de calibración:

$$C = \frac{DOM \cdot CP}{DOP}$$

donde:

DOP: Absorbancia del punto del gráfico.

CP: Concentración del punto en mg/L.

DOM: Absorbancia de la muestra leída contra su control o contra el blanco del gráfico.

Para expresar los resultados en mmol/L se haya el factor de la curva utilizando las concentraciones de la escala de referencia expresadas en mmol/L.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo. Se aproximan hasta la décima.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán anotarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere de un informe, el responsable de la calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no se aprueben otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que se realice la determinación de ácido delta aminolevulínico en la orina.

**Aprobaciones:**

|                | Nombre y apellidos       | Cargo                     | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|--------------------------|---------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas  | Aspirante a Investigadora |       | 09/2014               |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara | Técnica de Laboratorio    |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz      | Jefa de Departamento      |       |                       |

# Determinación de la actividad del ácido delta aminolevulínico dehidrasa en eritrocitos

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de la actividad del ácido delta aminolevulínico dehidrasa en eritrocitos (Ala-D)* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* El método se basa en la determinación de la actividad de la enzima ALA-D a través de la coloración del sustrato con el reactivo Ehrlich y su lectura en el espectrofotómetro a 553 nm.

La concentración de la enzima se determina mediante una curva de calibración de concentración conocida.

*Aplicable a: muestras de sangre total con heparina.*

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este PNO.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002. Se le hallará el valor del hematócrito según PNO.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para las muestras biológicas (según PNO.RQ.01.001) y según las de cada equipo que se utilice.

## **Equipos, utensilios y medios de medición:**

- Espectrofotómetro UV visible (INS.RQ.01.038).
- Baño de agua serológico (INS.RQ.01.012).
- Centrifuga para hematócrito (INS.RQ.015).
- Centrifuga de hasta 3 000 r.p.m. (INS.RQ.01.036).
- Jeringuillas de 10 mL.
- Agujas hipodérmicas.
- Tubos para ensayos.
- Pipetas graduadas.
- Tubos de centrifuga.
- Capilares para microhematócritos.

## **Materiales y reactivos:**

- Acetoacetato de etilo. Conservar en frío.
- Acetato de etilo. Conservar en frío.
- Solución de ácido delta aminolevulínico 1 mmol/L (PNO.RQ.01.003) (4.6.1).
- Solución de referencia de ALA de 0,1 mmol/L (PNO.RQ.01.003) (4.6.2).

- Solución de fosfato monobásico de sodio dihidratado, 0,2 M (PNO.RQ.01.003) (4.6.3).
- Solución de fosfato dibásico de sodio 12 H<sub>2</sub>O, 0,2 M (PNO.RQ.01.003) (4.6.4).
- Solución reguladora de fosfato pH 6,8 (PNO.RQ.01.003) (4.6.5).
- Solución reguladora de acetato pH 4,6 (PNO.RQ.01.003) (4.6.6).
- Solución de ácido tricloroacético 100 g/L (10 %) (PNO.RQ.01.003) (4.6.7).
- Reactivo de Ehrlich (PNO.RQ.01.003) (4.6.8).

### **Procedimiento:**

*Muestras.* Las muestras heparinizadas se conserva en hielo a temperatura de 1 a 2 °C hasta el momento del análisis. El tiempo entre la toma de muestra y la realización del análisis no excederá los 30 min.

#### *Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Se realiza la determinación de hematócrito a cada muestra, según PNO. La sangre total heparinizada se hemoliza al mezclar 0,5 mL de sangre y 3,25 mL de agua bidestilada. Este paso se realiza momento antes de comenzar el análisis (1,5 mL de hemolizado corresponden a 0,2 mL de sangre total). Medir con pipeta 0,5 mL de ALA sustrato y 0,5 mL de solución reguladora a pH 6,8 y añadir a un tubo de centrifuga de 10 mL. Se coloca en baño de agua a 37 °C durante 5 min, inmediatamente, se añaden 1,5 mL del hemolizado y se mantiene a 37 °C durante 1 h exacta medida por el cronómetro. Después este tiempo la reacción se detiene añadiendo rápidamente 1 mL de solución de ácido tricloroacético, 100 g/L. Se agita enérgicamente y se centrifuga durante 5 min a 3 000 r.p.m.

Se separan 0,5 mL del sobrante y se añade a un tubo de vidrio de 10 mL con tapa, se adiciona 1 mL de solución reguladora de acetato de pH 4,6 y 0,2 mL de acetoacetato de etilo; se mezcla y se coloca en baño de agua a 100 °C durante 10 min. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se adiciona 3 mL de acetato de etilo, se tapa el tubo y se agita enérgicamente durante 1 min, se deja reposar de 10 a 15 min hasta que se separen las capas.

- Determinación. Desarrollo del color. Tomar con pipeta 1 mL de la capa de acetato de etilo y verter en otro tubo de ensayo, se añaden 3 mL del reactivo de Ehrlich y se mezclan bien, dejar reposar durante 10 min.
- Ensayo en blanco. Se prepara en el momento de leer en el espectrofotómetro con 1 mL de acetato de etilo y 3 mL de reactivo de Ehrlich. Se mezcla bien.
- Muestra control. Se prepara al mismo tiempo que la muestra de la forma siguiente: en un tubo de centrifuga de 10 mL se añade 0,5 mL de ALA sustrato; 0,5 mL de solución reguladora de fosfato a pH 6,8 y 1 mL de ácido tricloroacético, se coloca en baño de agua a 37 °C durante 5 min y luego se adiciona

1,5 mL de hemolizado. Se mantiene durante 1 h exacta a 37 oC, luego se centrifuga durante 5 min a 3 000 r.p.m. Se continúa el análisis como se indica para la muestra.

- Curva patrón y calibración. Se preparará según PNO.RQ.01.003 (4.6.10). Se mezcla y se coloca en baño de agua a 100 oC durante 10 min. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se adicionan 3 mL de acetato de etilo, se tapa el tubo y se agita enérgicamente durante 1 min, se deja reposar de 10 a 15 min hasta que se separen las capas. Se continúa como se indica en el desarrollo del color y la medición fotométrica.
- Punto del gráfico de calibración. Se prepara tomando 0,5 mL de la solución de referencia a 0,1 mmol/L y se añade a un tubo de ensayo de 10 mL con tapa, se adiciona 1 mL de la solución reguladora de acetato a pH 4,6 y 0,2 mL de acetato de etilo. Se continúa el análisis a partir de este paso según se indica en los pasos del procedimiento.

*Medición fotométrica.* Transcurridos 10 min, se realiza la medición fotométrica en espectrofotómetro UV-VIS a 553 nm, tanto a la muestra como a su control. El equipo se ajusta a cero con el blanco de reactivos. Se toman 2 mL de sangre total y se colocan en un tubo para centrifugar con tapa o un tubo de cultivo con tapa de rosca.

La concentración en las muestras se obtendrá por interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrado (RL), en el cual se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

El equipo espectrofotómetro UV-VIS utiliza este sistema estadístico para la cuantificación de los resultados de manera automática por medio de una computadora acoplada al equipo. Se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

*Expresión de los resultados.* Casi siempre las muestras se realizan por duplicados y se promedian para emitir el resultado final.

*Método para los cálculos.* La actividad enzimática del ALA dehidrasa se calcula mediante la fórmula siguiente: si se utiliza el factor del gráfico de calibración, los cálculos serán:

$$\text{Act} = (\text{Ac} - \text{Am}) \cdot f \cdot \frac{100}{\text{Hto}} \cdot 29,17 \text{ } \mu\text{mol ALA/min/L eritrocitos}$$

donde:

Act: Actividad del ALA dehidrasa.

Ac: Absorbancia de la muestra control.

Am: Absorbancia de la muestra.

Hematócrito/100: Valor de hematócrito de la muestra expresado en mililitros de eritrocitos por 100 mL de sangre.

29.17: Factor de dilución y de transformación.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo. Los resultados se expresarán ( $\mu\text{mol ALA}/\text{min}/\text{L}$ ) eritrocitos y se aproximan hasta la décima.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellido del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán anotarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no se aprueben otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que sea llevada a cabo la determinación de la actividad del ácido delta aminolevulínico dehidrasa en eritrocitos.

**Aprobaciones:**

|                | Nombre y apellidos       | Cargo                     | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|--------------------------|---------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas  | Aspirante a Investigadora |       | 09/2014               |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara | Técnica de Laboratorio    |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz      | Jefa de Departamento      |       |                       |

## Determinación de la actividad de la enzima colinesterasa en sangre total

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de la actividad de la enzima colinesterasa en sangre total*, en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* La técnica se basa en la reacción de hidrólisis enzimática de la acetilcolina bajo la influencia de la enzima colinesterasa, formándose una cantidad equivalente de colina y ácido acético. La cantidad de ácido acético se determina mediante valoración con solución de hidróxido de sodio 0,01 N, es una medida indirecta para establecer la actividad de la enzima colinesterasa.

*Aplicable a:* muestras de sangre total con heparina u otro anticoagulante.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad con los reactivos químicos y las muestras biológicas (según MP.RQ.01) y las del equipamiento, según los instructivos en uso.

**Equipos, utensilios y medios de medición:**

- Tubos de ensayo de 100 X 13 mm.
- Pipetas graduadas de 1, 2, 5, 10 mL.
- Pipetas Sahli para hemoglobina de 0,02 mL.
- Microbureta semiautomática de Bang de 2 mL.
- Baño serológico con control de temperatura (INS.RQ.01.005 o 0,35).
- Lámpara o cualquier dispositivo que permita contrastar el cambio de coloración.
- Matraces aforados de 25, 50, 100, 250, 500 y 1 000 mL.

**Materiales y reactivos:**

- Solución de clorhidrato de acetilcolina al 2 % (PNO.RQ.01.003) (4.9.1).
- Solución de eserina salicilato o clorhidrato (fisostigmina) al 0,4 % (PNO. RQ.01.003) (4.9.2).
- Solución de hidróxido de sodio 1 N (mol/L) (PNO.RQ.01.003) (4.9.3).
- Solución de hidróxido de sodio 0,05 N (0,05 mol/L) (PNO.RQ.01.003) (4.9.4).
- Solución de hidróxido de sodio 0,01 N (0,01 mol/L) (PNO.RQ.01.003) (4.9.5).
- Solución de fosfato monobásico de potasio 1/15 M (PNO.RQ.01.003) (4.9.6).
- Solución de fosfato dibásico de sodio 1/15 M (PNO.RQ.01.003) (4.9.7).
- Solución reguladora de fosfato pH 7,8 (PNO.RQ.01.003) (4.9.8).
- Preparación de la solución reguladora pH 7,6 (PNO.RQ.01.003) (4.9.9).
- Solución indicadora de bromotimol azul al 0,4 % (PNO.RQ.01.003) (4.9.10).
- Solución indicadora de bromotimol azul al 0,2 % (PNO.RQ.01.003) (4.9.11).
- Solución de ácido clorhídrico 0,01 N (0,01 mol/L) (PNO.RQ.01.003) (4.9.12).
- Solución de cloruro de sodio 0,9 % (suero fisiológico) (PNO.RQ.01.003) (4.9.13).

**Procedimiento:**

*Muestras.* La muestra puede ser del pulpejo del dedo o lóbulo de la oreja o de la vena, una vez tomada se realizará el análisis antes de las 2 h. Se mantendrán las muestras en refrigeración hasta el momento del análisis.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. De la sangre se toma 0,02 mL (20 µL con una pipeta de Sahli) de sangre, dos veces y se añaden a dos tubos de ensayo, el primero se rotulará "muestra" y el segundo "control", a los que previamente se añadió 1,5 mL de agua bidestilada. La pipeta se lava varias veces con el agua del tubo, no soplar ni formar burbujas.
- Determinación. Agregar 1,8 mL de la solución reguladora a pH 7,6 al tubo rotulado como muestra y 2,2 mL al rotulado como control. Se añaden a los dos tubos 3 gotas de solución indicadora de bromotimol azul al 2 %. Al tubo muestra se añaden los mililitros de hidróxido de sodio 0,01 N consumidos en la valoración de la solución de acetilcolina al 2 % y se colocan todos los tubos en baños María a 37 °C durante 3 min, para que alcancen equilibrio de esta temperatura. Transcurrido este tiempo, se pone a funcionar el cronómetro y en el tiempo "0" se añade 0,1 mL de acetilcolina al 2 % al primer tubo muestra, 30 s después al segundo tubo muestra, y así sucesivamente. Una hora después del tiempo "0", agregar 2 gotas de eserina salicilato o clorhidrato al 0,4 % al primer tubo, para interrumpir la hidrólisis fermentativa, mezclar bien y sacar el tubo del baño. Se repite en los demás tubos a intervalos de 30 s exactamente, manteniéndose el mismo orden descrito antes. A los tubos control se le añaden 2 gota de eserina (fisostigmina). Valorar la muestra añadiendo hidróxido de sodio 0,01 N hasta igualar el color, comparando los colores de los dos tubos contra una lámpara apropiada que permita ver el cambio de coloración con el tubo control. Se anota el resultado de los mililitros gastados.

*Expresión de los resultados.* Método para los cálculos. La actividad de la enzima colinesterasa (A), se calcula mediante la fórmula:

$$A \text{ (mL gastados de hidróxido de sodio 0,01 N)} = V \cdot F$$

donde:

V: Cantidad de hidróxido de sodio 0,01 N consumidos en la valoración de la muestra (mL).

f: Factor de normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

Para expresar los resultados en UI/mL se utilizará la fórmula siguiente:

$$A = V \cdot f \cdot 8,33$$

donde: 8,33 es una constante para expresar en UI/mL.

*Aproximación de los resultados.* Los resultados expresados como mililitro de hidróxido de sodio 0,01 N se aproximarán hasta la centésima, los expresados en UI/mL se aproximarán hasta la décima.

*Valores normales.* Se consideran normales los valores entre 0,34 y 0,45 mL de NaOH 0,01N o entre 2,8 y 3,7 UI/mL. Casi siempre las muestras se realizan por duplicados y se promedian para emitir el resultado final. Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán anotarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entrada, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no se aprueben otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que se realice la determinación de la actividad de la enzima colinesterasa en sangre total.

**Aprobaciones:**

|                | <b>Nombre y apellidos</b> | <b>Cargo</b>           | <b>Firma</b> | <b>Fecha de implantación</b> |
|----------------|---------------------------|------------------------|--------------|------------------------------|
| Elaborado por: | Téc. Clara Castillo       | Técnica de Laboratorio |              | <b>01/09/2011</b>            |
| Revisado por:  | Lic. Arelis Jaime Novas   | Investigadora Auxiliar |              |                              |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz       | Jefa de Departamento   |              |                              |

## **Determinación de la actividad de la enzima colinesterasa en sangre total, plasma y eritrocitos**

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de la actividad de la enzima colinesterasa en sangre total, plasma y eritrocitos* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* La actividad de la enzima colinesterasa se mide de forma colorimétrica mediante el color amarillo producido por la tiocolina cuando reacciona con el ión ditiobisnitrobenzoico, después de la hidrólisis enzimática del éster de colina. El color amarillo se lee en el espectrofotómetro a 240 nm.

*Aplicable a:* muestras de sangre total con heparina.



**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de estas instrucciones.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para las muestras biológicas (según MPRQ.01) y según las de cada equipo que se utilice.

**Equipos, utensilios y medios de medición:**

- Espectrofotómetro UV visible (INS.RQ.01.038).
- Centrifuga refrigerada o baño con agua fría (INS.RQ.01.025).
- Cronómetro con graduación en segundos.
- Baño serológico con control de temperatura (INS.RQ.01.005).
- Timer.
- Tubos de ensayo de 15 mL.
- Tubos de centrifuga de 12 mL.
- Frasco volumétrico aforados con tapa de 25, 50, 100, 250, 500 y 1 000 mL.
- Pipetas graduadas de 1, 2, 5, y 10 mL.
- Pipetas para 0,01 mL.

**Materiales y reactivos:**

- Solución de cloruro de sodio al 0,9 % (PNO.RQ.01.003) (4.9.13).
- Solución reguladora de fosfato monobásico (PNO.RQ.01.003) (4.10.1).
- Solución reguladora de fosfato dibásico (PNO.RQ.01.003) (4.10.2).
- Solución reguladora a pH 8 (PNO.RQ.01.003) (4.10.3).
- Solución reguladora de fosfato con 5,5 ditiobisnitrobenzoico ácido (DTNB) pH 8 (PNO.RQ.01.003) (4.10.4).
- Solución de acetiltiocolina yoduro (PNO.RQ.01.003) (4.10.5).
- Solución de salicilato o clorhidrato de eserina (fisostigmina) (PNO.RQ.01.003) (4.10.6).
- Solución de referencia de glutatión a concentración de 0,813  $\mu$ MSH/mL (PNO. RQ.01.003) (4.10.7).
- Heparina sódica 25 000 UI/5 mL.

**Procedimiento. Muestras.** Se puede realizar tomando 1 mL de sangre venosa con 1 gota de heparina sódica o mediante punción del dedo, dejando caer 3 gotas de sangre en un vial de 1,5 mL con una gota de heparina; se pone a secar antes de tomar la muestra o en un microtubo plástico de centrifuga al que previamente se le añadió

1 gota de heparina, y se deja secar. Se coloca inmediatamente en el refrigerador o en baño de hielo hasta el momento del análisis. La determinación se realizará antes de las 2 h después de toma de la muestra.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. En un tubo de centrifuga de 15 mL (tubo 1) añadir 10 mL de solución reguladora de fosfato/DTNB fría y 10 µL (0,01 mL) de sangre, se recomienda lavar previamente la pipeta para tomar la sangre con solución de heparina al 0,01 %.

Cuando se comienza el análisis debe trabajarse rápidamente y de cada vez se realizan 10 muestras, pues hay variaciones en los resultados si no se prosigue el análisis de forma inmediata. En otro tubo de centrifuga de 15 mL (tubo 2) añadir 4 mL de solución del tubo 1.

- Determinación. Los tubos 1 y 2 se colocan en baño serológico de agua a 37 °C durante 3 min, transcurrido ese tiempo se pone a funcionar el cronómetro y en el tiempo "0", se añade 1 mL de solución de acetiltiocolina yoduro, a los 30 s. Después al segundo tubo y así sucesivamente hasta un máximo de 10, que se procesan en cada vez. Los últimos 2 tubos serán los blancos que se hacen duplicados. Exactamente 10 min después del tiempo "0", agregar 2 gotas de solución de fisostigmina al primer tubo, mezclar bien y sacar el tubo del baño. Este paso se repite en los demás tubos a intervalos de 30 s exactos, manteniendo el mismo orden descrito antes.

Centrifugar los tubos No. 1 y 2 durante 5 min a 3 000 r.p.m., leer antes de los 20 min el sobrenadante del tubo 2 en el espectrofotómetro a 420 nm contra blanco de 4 mL de solución reguladora de fosfato/DTNB y 1 mL de acetiltiocolina yoduro que fue previamente incubada junto con las muestras. Esta lectura es una medida de la actividad colinesterásica en sangre total.

Del sobrenadante del tubo 1 pipetear 4 mL en un tubo de ensayo y colocarlo en baño serológico a 37 °C durante 3 min, añadir 1 mL de acetiltiocolina yoduro según indicaciones anteriores, midiendo el tiempo con cronómetro y añadiendo cada 10 s. Transcurridos los 10 min, añadir 2 gotas de solución de fisostigmina y proceder como se indicó, leer a 420 nm contra el blanco antes de los 20 min. Esta lectura es la medida de la colinesterasa plasmática.

*Gráfico de calibración.* Según PNO.RQ.01.003 (4.10.7).

*Expresión de los resultados* (µMSH/mL/min). Mediante la fórmula siguiente:

$$ST_{\mu\text{MSH/mL/min}} = (\text{DOM-DOB}) \cdot \text{fc} \cdot 25$$

$$P_{\mu\text{MSH/mL/min}} = (\text{DOM-DOB}) \cdot \text{fc} \cdot 25$$

donde:

$DO_M$ : Densidad óptica de la muestra.

$DO_B$ : Densidad óptica del blanco.

fc: Factor del gráfico de calibración.

25: Factor para expresar en mL/min.

ST: Actividad de la colinesterasa en sangre total.

P: Actividad de la colinesterasa en el plasma.

E: Actividad de la colinesterasa en eritrocitos.

Para hallar el valor de los eritrocitos se utiliza la fórmula:

$$E_{\mu\text{MSH/mL/min}} = \text{ST-P}$$

donde:

ST: Actividad de la colinesterasa en sangre total.

P: Actividad de la colinesterasa en el plasma.

E: Actividad de la colinesterasa en eritrocitos.

Los resultados se aproximan hasta la décima.

#### **Valores de referencia ( $\mu\text{MSH/mL/min}$ ):**

– Sangre total: 6,56-10,96.

– Plasma: 0,61-2,53.

– Eritrocitos: 5,29-9,09.

Por lo general las muestras se realizan por duplicados y se promedian para emitir el resultado final.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán anotarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá redactarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no se aprueben otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que se realice la determinación de la actividad de la enzima colinesterasa en sangre total, plasma y eritrocitos.

### Aprobaciones:

|                | Nombre y apellidos       | Cargo                     | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|--------------------------|---------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas  | Aspirante a investigadora |       |                       |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara | Técnica de Laboratorio    |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz      | Jefa de Departamento      |       |                       |

## Determinación de fenol en la orina

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de fenol en la orina* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* El fenol reacciona con la 4-aminoantipirina en presencia de ferricianuro de potasio a pH 9,3. Se obtiene un complejo coloreado (rosado); por la intensidad de su color se determina la concentración de fenol de forma espectrofotométrica.

*Aplicable a:* muestras de orina.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que trabaja en el laboratorio, el cumplimiento de este instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para las muestras biológicas (según MPRQ.01) y según las de cada equipo que se utilice.

### Equipos, utensilios y medios de medición:

- Espectrofotómetro visible o un fotocolorímetro (INS.RQ.01.038).
- Aparato para destilación por arrastre de vapor.
- Tubos para ensayos de 1,5 x 15 cm.
- Pipetas de diferentes graduaciones.
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4 y 5 mL.
- Frascos volumétricos aforados de 100 mL.
- Cilindro graduado de 50 mL con tapa.
- Densímetro de 1,000 a 1,060 g/mL.

**Materiales y reactivos:**

- Ácido sulfúrico concentrado.
- Amoníaco 0,75 N (PNO.RQ.01.003) (4.13.1).
- Aminoantipirina 0,6 % solución acuosa m/v (PNO.RQ.01.003) (4.13.2).
- Solución de referencia de fenol 0,5 mg/mL (V1) (PNO.RQ.01.003) (4.13.3).
- Solución de referencia de fenol 10 µg/mL (V2) (PNO.RQ.01.003) (4.13.4).
- Ferricianuro de potasio al 2 % solución acuosa m/v (PNO.RQ.01.003) (4.13.5).

**Procedimiento:**

*Muestras.* Si las muestras son de orina de 24 h o de una sola micción, se sigue el procedimiento según PNO.RQ.01.002.

En un frasco plástico o de cristal seco se recolectará toda la orina emitida durante la jornada laboral y después de 3 días continuo de trabajo con exposición.

La determinación se realizará el mismo día o en un período no mayor de una semana guardando la orina en congelación, sin preservativo.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Se vierten 5 mL de orina en el balón (3) se añade 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, se hace pasar corriente de vapor del balón 819 al balón (3). La velocidad de vapor se regulará de forma que se obtenga 10 mL de destilado por minuto, se recogen 50 mL exactos del destilado en un cilindro graduado (5).
- Determinación. Se pipetea 5 mL del destilado en un tubo para ensayo de 1,5 x 15 cm y se le añaden en ese orden y mezclando cada vez:
  - 0,1 mL de amoníaco al 0,75 N.
  - 0,1 mL de 4 aminoantipirina 0,6 %.
  - 0,1 mL de la solución de ferricianuro de potasio al 2 %.

Mezclar bien, dejar en reposo durante 5 min y leer en el espectrofotómetro a 510 nm antes de los 30 min, ajustando el equipo con el blanco reactivo.

- Ensayo en blanco. Se procederá igual que con las muestras, sustituyendo la orina por agua bidestilada en el proceso de destilado.
- Curva patrón y calibración. Según PNO.RQ.01.003 (4.13.6). Con la escala de referencia se procederá de igual forma que con las muestras, a partir de los 5 mL del destilado, y se leerá en el espectrofotómetro a 510 nm.

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el espectrofotómetro UV-VIS y se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante. La medición fotométrica se realiza a 510 nm.

La concentración en las muestras se obtendrá por interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimos cuadrado (RL), en el cual se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

*Expresión de los resultados* (mg/L). Casi siempre las muestras se realizan por duplicados y se promedian antes de realizar el cálculo siguiente:

Se expresan mediante la fórmula:

$$C = K \cdot A \text{ (mg/L fenol)}$$

donde:

K: Concentración de fenol obtenida en el gráfico de calibración.

A: Coeficiente obtenido de la densidad de la orina 1,024 mg/mL (tomado como constante entre la densidad de la muestra).

Los resultados se aproximarán hasta la décima.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán anotarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no se aprueben otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que se efectúe la determinación de fenol en la orina.

**Aprobaciones:**

|                | Nombre y apellidos       | Cargo                     | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|--------------------------|---------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas  | Aspirante a investigadora |       |                       |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara | Técnica de Laboratorio    |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz      | Jefa de Departamento      |       |                       |

# Determinación de ácidos hipúricos totales en la orina

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de ácidos hipúricos totales en la orina* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* El método se basa en la extracción de los ácidos hipúricos totales de la orina con una mezcla de éter etílico-etanol.

Después de desecado el extracto, en presencia de silica gel, se trata con p-dimetil aminobenzaldehído, que con la ayuda del calor forma un compuesto coloreado, al que se le determina la concentración por la intensidad del color que se lee a 460 nm en el espectrofotómetro.

*Aplicable a:* muestras de orina.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para las muestras biológicas (según MPR.Q.01) y según las de cada equipo que se utilice.

## **Equipos, utensilios y medios de medición:**

- Espectrofotómetro UV-visible (INS.RQ.01.038).
- Baño de aceite (INS.RQ.01.0).
- Agitador mecánico (INS.RQ.01.010).
- Centrifuga de hasta 2 500 r.p.m. (INS.RQ.01.036).
- Tubos para ensayo con tapa.
- Pipetas graduadas.
- Tubos de ensayo.
- Tubos para centrifugar.

## **Materiales y reactivos:**

- Mezcla de éter etílico-etanol (PNO.RQ.01.003) (4.11.1).
- Cloruro de sodio.
- Solución de referencia de ácido hipúrico 2 mg/mL (PNO.RQ.01.003) (4.11.2).
- Silica gel 60 g para cromatografía de capa fina.

- Reactivo de color (PNO.RQ.01.003) (4.11.3).
- Solución de timol al 10 % (PNO.RQ.01.003) (4.11.4).
- Ácido clorhídrico.

**Procedimiento:**

*Muestras.* El trabajador estará expuesto como mínimo durante tres días para tomar la muestra. Se toma la orina durante las 4 últimas horas de la jornada laboral, se le añade como preservante 0,5 mL de solución de timol y se guarda en refrigeración para su ejecución que no excederá 48 h después de la toma de la muestra. En congelación puede conservarse durante un mes.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. A un volumen de orina que se vierte en un tubo de ensayo se le ajusta el pH a 2 con ácido clorhídrico.
- Determinación. Se toma 1 mL de orina y se pasa a un tubo de 10 mL con tapa, se satura con 0,3 g de cloruro de sodio. El ácido hipúrico se extrae dos veces con 2 mL de la mezcla de éter etílico-etanol. Después de cada extracción se separa la capa superior a otro tubo de ensayo, y de los extractos unidos se toma 1 mL y se diluye con 9 mL de la mezcla éter etílico-etanol.

Se vierte 1 mL del extracto diluido en un tubo para ensayo con tapa de 10 mL que contiene 0,5 g de sílica gel y el disolvente se elimina por evaporación con corriente de aire.

Cuando se ha evaporado todo el disolvente (que no presenta olor a éter), se añade 1 mL del reactivo de color, se mezcla bien y se calientan los tubos en baño de aceite a 135 °C exactos durante 3 min. Se deja enfriar y se centrifuga cada vez, se unen los extractos y se centrifuga durante 10 min a 2 500 r.p.m. El sobrenadante, completamente transparente de color amarillo, se pasa a un tubo de ensayo y se leen las muestras contra el blanco a 460 nm en el espectrofotómetro.

- Ensayo en blanco. Se sigue todo el proceso, utilizando agua bidestilada en vez de la orina.
- Curva patrón y calibración. Para preparar la curva se utiliza agua bidestilada ajustada a pH 2, también se ajusta el pH de la solución de referencia y luego se unen en las cantidades que aparecen para cada punto. Se preparará según PNO.RQ.01.003 (4.11.5). Se continúa como se indica en el procedimiento de las muestras.

Se utiliza un punto de la curva cuando se realizan las muestras, el punto corresponde a un contenido de ácido hipúrico de 0,6 gramos.



*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el espectrofotómetro UV-VIS se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante. La medición fotométrica se realiza a 460 nm.

La concentración en las muestras se obtendrá por interpolación en recta de regresión ajustada por el método de mínimo cuadrado (RL), en el cual se observa el comportamiento gráfico de la curva y la linealidad ( $r^2 > 0,99$ ).

El equipo de absorción atómica utiliza este sistema estadístico para la cuantificación de los resultados de manera automática por medio de una computadora acoplada al equipo. Se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

*Expresión de los resultados.* Cálculos para cuando solo se lea el valor de absorbancia.

La concentración se calcula mediante la fórmula siguiente, si se utiliza el gráfico de calibración:

$$C = \text{DOM} \cdot f = \text{g de ácido hipúrico total/L}$$

Si se utiliza el punto de calibración:

$$C = \frac{\text{DOM}}{\text{DOP}} \cdot \text{cp} = \text{g de ácido hipúrico total/L}$$

donde:

DOM: Densidad óptica de la muestra.

DOP: Densidad óptica de la solución de referencia.

cp: Contenido del punto de referencia en miligramo.

f: Factor del gráfico de calibración.

Los resultados se aproximan hasta la décima.

Casi siempre las muestras se realizan por duplicados y se promedian para emitir el resultado final.

Los resultados de los análisis se informarán en las respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán anotarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no se aprueben otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que se efectúe la determinación de ácidos hipúricos totales en la orina.

### Aprobaciones:

|                | Nombre y apellidos       | Cargo                     | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|--------------------------|---------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas  | Aspirante a Investigadora |       |                       |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara | Técnica de Laboratorio    |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz      | Jefa de Departamento      |       |                       |

## Separación de ácido hipúrico y metilhipúrico por cromatografía de capa fina

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Separación de ácido hipúrico y metil hipúrico por cromatografía de capa fina* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* De acuerdo con las polaridades del ácido hipúrico y metilhipúrico en una fase móvil (tolueno-ácido acético-agua) son separadas estas sustancias sobre una fase fija de sílica gel G. Después de evaporado el solvente, ocurre el desarrollo de color debido a la reacción entre el metilhipúrico y el p-dimetilamino benzaldehído al 4 %, en anhídrido acético y en presencia de calor. Las azolatonas formadas se extraen con etanol para su ulterior lectura a 460 nm.

*Aplicable a:* muestras de orina.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad requeridas para las muestras biológicas (según MP.RQ.01) y según las de cada equipo que se utilice.

Medidas de protección:

- Utilizar campana de extracción en los momentos en que se extrae la placa de la cámara cromatográfica, así como en el momento de rociar el reactivo que desarrolla el color.
- Emplear respirador en el momento de rociado.

**Equipos, utensilios y medios de medición:**

- Espectrofotómetros UV visible (INS.RQ.01.038).
- Estufa de hasta 135 °C.
- Cámaras cromatográficas.
- Rociador.
- Desecadoras.
- Probetas.
- Pipetas graduadas.
- Tubos para ensayo.

**Materiales y reactivos:**

- Mezcla de éter etílico-etanol (PNO.RQ.01.003) (4.12.1).
- Silica gel 60 G activada (PNO.RQ.01.003) (4.12.2).
- Mezcla de tolueno-ácido acético-agua (PNO.RQ.01.003) (4.12.3).
- Ácido clorhídrico.
- Cloruro de sodio.

**Procedimiento.** El ácido hipúrico se extrae dos veces con 2 mL de la mezcla de éter etílico-etanol y el extracto de éter se diluye 10 veces con la misma mezcla de éter etílico-etanol.

*Muestras.* Después de tres días de trabajo como mínimo, se recoge la orina de las últimas 4 h de la jornada laboral en frascos de polietileno, que contiene 0,5 mL de solución de timol para la realización del análisis, que no debe prolongarse más de un día. En congelación puede conservarse durante 1 mes.

*Técnica operatoria:*

- Preparación de la porción de ensayo. Tanto la solución de referencia de ácido hipúrico como las muestras en las que se va a determinar el ácido hipúrico y el blanco, se utilizan a partir del paso, en que después de saturar con cloruro de sodio, se extrae dos veces con 2 mL de mezcla de éter etílico-etanol.
- Determinación. Del extracto puro antes mencionado tomar 0,1 mL que se puntan en una placa de vidrio con silica gel G, con una separación de 3 cm del borde inferior y 3 cm de separación entre las muestras.

El cromatograma se desarrolla en la cámara cromatográfica con la mezcla de tolueno-ácido acético-agua durante 1 h a 20 °C.

Más tarde, se evapora el solvente de las placas a temperatura ambiente y las placas se rocían con el reactivo de p-dimetilamino benzaldehído y se calientan las placas a 135 °C durante 3 min para desarrollar el calor.

Se extrae la mancha y se coloca en un tubo de centrifuga las azolactonas formadas son extraídas con 4 y 3 mL de alcohol etílico sucesivamente, se centrí-

fuga cada vez, se unen los extractos y se centrifugan durante 10 min a 2 500 r.p.m. El sobrenadante se pasa a un tubo de ensayo y se lee en el espectrofotómetro a 460 nm contra el blanco.

- Ensayo en blanco. Se sigue todo el proceso, utilizando agua bidestilada en vez de la orina.
- Curva patrón y calibración. Para preparar la curva se utiliza agua bidestilada ajustada a pH 2, también se ajusta el pH de la solución de referencia y luego se unen en las cantidades que aparecen para cada punto. Se preparará según PNO.RQ.01.003 (4.11.5).

Se continúa como se indica en el procedimiento de las muestras.

Se utiliza un punto de la curva cuando se realizan las muestras, el punto corresponde a un contenido de 0,6 g de ácido hipúrico.

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el espectrofotómetro UV-VIS se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante. La medición fotométrica se realiza a 460 nm.

*Expresión de los resultados y cálculos.* Para la verificación de las manchas se mide la distancia recorrida por el solvente y la distancia de las manchas de la muestra y el patrón. Se halla el valor de Rf.

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra o el patrón}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

Se corrobora con los valores que aparecen en la literatura:

- Rf del ácido hipúrico = 0,38-0,39.
- Rf del ácido metilhipúrico = 0,43-0,45.

La concentración de ácido hipúrico expresada en gramos por litro se obtiene mediante los cálculos siguientes:

$$C = \frac{DOM \cdot CP}{DOP}$$

donde:

DOM: Densidad óptica de la muestra.

DOP: Densidad óptica de la solución de referencia.

Cp: Contenido de la solución de referencia 0,6 mg.

La concentración de ácido metilhipúrico (Camh) se determina por:

$$Camh = Ct - Cah$$

donde:

Ct: Concentración total de ácidos hipúricos hallada mediante el método calorimétrico.

Cah: Concentración de ácido hipúrico determinado mediante el método de la placa fina.

Los resultados se aproximan hasta la décima.

Casi siempre las muestras se realizan por duplicados y se promedian para emitir el resultado final.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán anotarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico reflejar en el registro de entraba, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no se aprueben otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que se realice la determinación de ácido hipúrico y metilhipúrico en la orina.

#### Aprobaciones:

|                | Nombre y apellidos       | Cargo                     | Firma | Fecha de implantación |
|----------------|--------------------------|---------------------------|-------|-----------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis Jaime Novas  | Aspirante a Investigadora |       |                       |
| Revisado por:  | Téc. María Elena Guevara | Técnica de Laboratorio    |       |                       |
| Aprobado por:  | Ing. Heliodora Díaz      | Jefa de Departamento      |       |                       |

## Determinación de hierro y capacidad total de fijación de hierro de la transferrina

### Hierro sérico. Parte I

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de hierro y capacidad total de fijación de hierro de la transferrina* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* Consiste en la separación del hierro unido a la transferrina, mediante una solución reguladora de glicina-clorhídrico a pH 1,9 con ácido ascórbico.

El hierro reducido al estado ferroso forma un complejo coloreado con la batofenantrolina sulfonatada. La intensidad del color determinado en el espectrofotómetro es proporcional a la concentración de hierro.

*Aplicable a:* muestras de sangre total con heparina.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este PNO.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad para las muestras biológicas (según MP.RQ.01) y según las de cada equipo que se utilice.

**Equipos, utensilios y medios de medición.** Toda la cristaleira utilizada, previamente tratada según el anexo:

- Espectrofotómetro de UV-VIS (INS.RQ.01.038).
- Centrifuga de hasta 3 000 r.p.m. (INS.RQ.01.036).
- Tubos de cultivo de 10 mL con tapa de rosca o tubos de centrífuga de 10 mL con tapa.
- Pipetas graduadas y aforadas.
- Frascos volumétricos.
- Probetas con tapa esmerilada.
- Viales plásticos de 25 mL con tapa.
- Jeringuillas de 10 mL.
- Agujas hipodérmicas No. 20.

**Materiales y reactivos:**

- Solución reguladora glicina-clorhídrico a pH 1,9 (PNO.RQ.01.003) (4.8.1).
- Solución reguladora de trabajo (PNO.RQ.01.003) (4.8.2).
- Solución de batofenantrolina sulfonatada (PNO.RQ.01.003) (4.8.3).
- Solución de referencia de hierro con contenido de 17,91 mol/L (PNO.RQ.01.003) (4.8.4).
- Solución de referencia de hierro de 1,791 mol/L (PNO.RQ.01.003) (4.8.5).
- Solución de referencia de hierro de 17,91  $\mu$ mol/L (PNO.RQ.01.003) (4.8.6).

**Procedimiento:**

*Muestras.* Técnica operatoria:

- Preparación de la porción de ensayo. Se toman 0,5 mL de suero y se le añaden 2 mL de la solución reguladora de trabajo. En la tabla 10.1 se desarrolla el método de acuerdo con determinadas cantidades.

**Tabla 10.1.** Método de separación del hierro según las cantidades

| Tubos          | Agua Desionizada | Suero de referencia 17,91 | Suero problema | Suero de regulación de trabajo |
|----------------|------------------|---------------------------|----------------|--------------------------------|
|                | (mL)             | (mL)                      | (mL)           | (mL)                           |
| Blanco         | 0,5              |                           |                | 2,0                            |
| Referencia     |                  | 0,5                       |                | 2,0                            |
| Suero problema |                  |                           | 0,5            | 2,0                            |

- Determinación. Agitar y dejar en reposo durante 30 min, leer la densidad óptica de todos los tubos a 530 nm contra blanco de agua, añadir 50 µL de solución de batofenantrolina sulfonatada, agitar y dejar en reposo a temperatura ambiente durante 60 min y luego leer a 530 nm contra blanco de reactivos. Los blancos de reactivos se leen contra agua desionizada o bidestilada y su densidad óptica no debe exceder a 0,01.
- Ensayo en blanco. Se realiza siguiendo el mismo procedimiento indicado en el punto anterior, se utiliza 0,5 mL de agua bidestilada y se le añade 2 mL de la solución reguladora de trabajo.
- Curva patrón y calibración. Se leerá contra un patrón, y se preparará según PNO.RQ.01.003 (4.8.7).

*Medición fotométrica.* Las mediciones se realizarán en el equipo espectrofotómetro UV-VIS, se ajustan los parámetros y demás pasos de la operación indicados por el fabricante. La medición fotométrica se realiza a 530 nm.

El espectrofotómetro UV-VIS posee un programa para calcular directamente la concentración al leer contra un patrón, se recogen los datos manualmente en la libreta de trabajo.

*Expresión de los resultados.* En los casos de recogerse los valores de absorbancia, solo se realizarán los cálculos siguientes:

$$C (\mu\text{mol Fe sérico/L}) = \frac{DO_{2(M)} - DO_{1(M)}}{DO_{2(R)} - DO_{1(R)}} \cdot 17,91$$

donde:

DO<sub>1(M)</sub>: Densidad óptica de la primera lectura de la muestra.

DO<sub>2(M)</sub>: Densidad óptica de la segunda lectura de la muestra.

DO<sub>1(R)</sub>: Densidad óptica de la primera lectura de la solución de referencia.

DO<sub>2(R)</sub>: Densidad óptica de la segunda lectura de la solución de referencia.

17,91: Concentración en µmol/L de la solución de referencia.

Casi siempre las muestras se realizan por duplicados y se promedian para emitir el resultado final.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo. Los resultados se expresarán en  $\mu\text{g/dL}$  y se aproximan hasta la décima.

### *Capacidad de fijación de hierro de la transferrina. Parte II*

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico siga este procedimiento para la correcta ejecución del ensayo de *Determinación de hierro y capacidad total de fijación de hierro de la transferrina* en el Departamento de Riesgos Químicos.

*Fundamento del método.* Se basa en la saturación de la transferrina con una solución concentrada de hierro. El hierro unido a la proteína se absorbe con carbonato de magnesio y después este se elimina mediante centrifugación. El hierro del sobrenadante se determina por la técnica descrita antes para hierro sérico.

*Aplicable a:* muestras de suero.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o licenciado en Química) que trabaja en el laboratorio, el cumplimiento de este instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Operaciones preliminares.** Se realizará la toma de muestra según el PNO. RQ.01.002.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad para las muestras biológicas (según MP.RQ.01) y según las de cada equipo que se utilice.

**Equipos, utensilios y medios de medición.** Toda la cristalería utilizada, previamente tratada según el anexo:

- Espectrofotómetro de UV-VIS (INS.RQ.01.038).
- Centrifuga de hasta 3 000 r.p.m. (INS.RQ.01.036).
- Tubos de cultivo de 10 mL con tapa de rosca o tubos de centrifuga de 10 mL con tapa.
- Pipetas graduadas y aforadas.
- Frascos volumétricos.
- Probetas con tapa esmerilada.
- Viales plásticos de 25 mL con tapa.
- Jeringuillas de 10 mL.
- Agujas hipodérmicas No. 20.

#### **Materiales y reactivos:**

- Solución de referencia de hierro con contenido de  $89,55 \mu\text{mol/L}$  (PNO.RQ.01.003) (4.8.8).
- Carbonato de magnesio ligero en polvo (PNO.RQ.01.003) (4.8.9).



**Procedimiento:**

*Muestras.* Técnica operatória:

- Preparación de la porción de ensayo. Se toman 0,5 mL de suero y se le añaden 1 mL de la solución de referencia y 100 mg de carbonato de magnesio. El contenido específico de cada tubo y las cantidades necesarias se muestra:
  - Suero problema (mL): 0,5.
  - Solución de referencia (89,55 µmol/L) (mL): 1,0.
  - Carbonato de Mg (mg): 100
- Determinación. Agitar durante 30 s de manera intermitente, centrifugar todos los tubos durante 15 min a 1 000 r.p.m., decantar y centrifugar de nuevo. Se extraen 0,5 mL del sobrenadante, evitando tomar partículas de carbonato de magnesio y se le determina la cantidad de hierro mediante la técnica de hierro sérico descrita antes.

*Expresión de los resultados.* Cálculos:

$$C = \frac{DO_{2(M)} - DO_{1(M)} \cdot 17,91 \cdot 3 \cdot 3}{DO_{2(R)} - DO_{1(R)}} \text{ (}\mu\text{mol/L)}$$

donde:

DO<sub>1(M)</sub>: Densidad óptica de la primera lectura de la muestra.

DO<sub>2(M)</sub>: Densidad óptica de la segunda lectura de la muestra.

DO<sub>1(R)</sub>: Densidad óptica de la primera lectura de la solución de referencia.

DO<sub>2(R)</sub>: Densidad óptica de la segunda lectura de la solución de referencia.

17,91: Concentración de la solución de referencia en µmol/L.

3: Factores de corrección de la disolución de la muestra.

Cálculo del índice de saturación:

$$\text{Índice de saturación} = \frac{\text{Hierro sérico}}{\text{Capacidad total}}$$

**Valores de referencia o normales:**

- Hierro sérico: 10,7 a 32,2 µmol/L.
- Capacidad total: 50,1 a 74,2 µmol/L.
- Índice de saturación: 0,16 a 0,6 µmol/L.

Casi siempre las muestras se realizan por duplicados y se promedian para emitir el resultado final.

Los resultados de los análisis se informarán en sus respectivas órdenes y, cuando sea una entidad, se realizará un informe según el modelo.

**Registro.** Es obligatoriedad del técnico anotar en el registro correspondiente a la toma de muestra el número de registro, la fecha, nombre y apellidos del paciente, análisis solicitados, procedencia y cualquier observación necesaria.

En el registro de uso del equipo deberán anotarse los datos de la determinación según PNO.

Es responsabilidad del técnico anotar en el registro de entrada, así como en la orden, el resultado del paciente, si se requiere un informe, el responsable de la calidad deberá confeccionarlo.

**Vigencia/periodicidad.** Este documento es de carácter permanente hasta tanto no se aprueben otras resoluciones y legislaciones por los organismos rectores de la actividad, y se utilizará cada vez que se realice la determinación de fijación del hierro de la transferrina.

**Aprobaciones:**

|                | <b>Nombre y apellidos</b>   | <b>Cargo</b>                 | <b>Firma</b> | <b>Fecha de implantación</b> |
|----------------|-----------------------------|------------------------------|--------------|------------------------------|
| Elaborado por: | Lic. Arelis<br>Jaime Novas  | Aspirante<br>a Investigadora |              |                              |
| Revisado por:  | Téc. María<br>Elena Guevara | Técnica<br>de Laboratorio    |              |                              |
| Aprobado por:  | Ing.<br>Heliadora Díaz      | Jefa<br>de Departamento      |              |                              |

**Anexo A. Limpieza de la cristalería.** Todo el material empleado incluso las jeringuillas de cristal de la toma de la muestra, se sumerge durante 24 h en solución de ácido clorhídrico al 50 %. Más tarde, se enjuaga 10 veces con agua desionizada o bidestilada.

**Control de la calidad.** Se incluye en todas las series de determinaciones un pool de sueros humanos previamente calibrados y conservados a -20 °C, puro y diluido a la mitad, además, un caso con hierro sérico bajo y capacidad total elevada y otro con hierro sérico normal y capacidad total baja, previamente conocidos.

## **Preparación de soluciones**

**Objetivos y alcance.** Este documento se elabora con el objetivo de que todo el personal técnico que ejecute las técnicas analíticas, utilice estos procedimientos para la *Preparación de soluciones* en el Departamento de Riesgos Químicos.

**Responsabilidades.** Es responsabilidad del personal calificado (técnico, ingeniero o liceciado en Química) que labora en el laboratorio, el cumplimiento de este instructivo.

El Jefe de Departamento supervisará su cumplimiento, así como el responsable de la calidad.

**Condiciones de seguridad.** Se trabajará con las condiciones de seguridad para reactivos químicos según MP01.

## Preparación de soluciones según la técnica de análisis.

### Determinaciones

**Plomo en la sangre.** *Metilisobutilcetona saturada con agua (MIBK).* Se mezclan 500 mL de metilisobutilcetona y 55 mL de agua bidestilada, se agita fuertemente y se deja reposar como mínimo 1 h, con preferencia de un día al otro. Tomar en cuenta el volumen que se debe utilizar en una semana como máximo, para evitar contaminaciones.

*Solución de tritón X-100/APDC.* Se disuelve el tetrametileno ditiocarbamato de amonio (APDC) en una porción de agua ligeramente inferior al volumen total. Después de su total disolución se añade el tritón X-100 y sin agitar se enrasa con agua bidestilada al volumen total. Se agita fuertemente.

Se prepara el reactivo en el momento del análisis y en las cantidades de acuerdo con las determinaciones que se deben realizar (Tabla 10.2).

*Solución de cloruro de calcio.* Se disuelven 16,6 g de cloruro de calcio anhidro hasta 100 mL con agua bidestilada.<sup>3</sup>

*Solución de referencia de plomo 1000 µg/mL.* Se disuelven 0,7992 g de nitrato de plomo en 5 mL de ácido nítrico y se lleva a un volumen de 500 mL con agua bidestilada.

*Solución de referencia de plomo 100 µg/mL.* Se toman 5 mL de la solución de referencia de 1 000 µg/mL y se diluyen hasta 50 mL con agua bidestilada. Esta solución se prepara en el momento del análisis.

**Tabla 10.2.** Preparación del reactivo

| APDC (g) | mL de tritón | Agua en mL hasta: | APDC (g) | mL de tritón | Agua en mL hasta: |
|----------|--------------|-------------------|----------|--------------|-------------------|
| 0,2      | 0,25         | 10                | 1,2      | 1,5          | 60                |
| 0,3      | 0,4          | 15                | 1,4      | 1,75         | 70                |
| 0,4      | 0,5          | 20                | 2,0      | 2,5          | 100               |
| 0,5      | 0,63         | 25                | 2,4      | 1,75         | 120               |
| 0,6      | 0,75         | 30                | 3,0      | 3,75         | 150               |
| 0,8      | 1,0          | 40                | 4,0      | 5,0          | 200               |
| 1,0      | 1,25         | 50                | 5,0      | 6,25         | 250               |

*Solución de referencia de plomo 10 µg/mL.* Se toman 5 mL de la solución de plomo de 100 µg/mL y se diluye hasta 50 mL con agua bidestilada. Esta solución se prepara en el momento del análisis (Tabla 10.3).

Preparación de la curva de calibración:

<sup>3</sup>. Se coloca el reactivo de nitrato de plomo 48 h en desecadora antes de pesar.

**Tabla 10.3.** Escala para la curva de calibración

| Patrón | Volumen de 50 mL | Mililitros de Pb (referencia de 1 µg/mL) | Concentración de Pb en µg/dL |
|--------|------------------|--|------------------------------|
| 1      | 50               | 1,25                                     | 25                           |
| 2      | 50               | 2,5                                      | 50                           |
| 3      | 50               | 5,0                                      | 100                          |
| 4      | 50               | 7,5                                      | 150                          |

**Plomo en la orina.** *Preparación de la curva de calibración.* La orina utilizada para la escala de referencia será de persona no expuesta.

Para muestras de orina sin la aplicación de quelantes se prepara su gráfica de acuerdo con la escala (Tabla 10.4).

**Tabla 10.4.** Escala de referencia para la preparación de la muestra sin aplicación de quelantes

| Patrón | Solución de Pb 10 µg/mL (mL) | Orina (mL) | Contenido de Pb (µg) |
|--------|------------------------------|------------|----------------------|
| 1      | 0                            | 10         | 0                    |
| 2      | 0,05                         | 10         | 0,5                  |
| 3      | 0,1                          | 10         | 1,0                  |
| 4      | 0,2                          | 10         | 2,0                  |
| 5      | 0,3                          | 10         | 3,0                  |

Se debe continuar como se realiza la determinación de la muestra.

Para muestras de orina después de la aplicación de quelantes se prepara según la escala (Tabla 10.5).

**Tabla 10.5.** Escala para la preparación de la muestra después de la aplicación de quelantes

| Patrón | Solución de Pb 10 µg/mL (mL) | Orina (mL) | Contenido de Pb (µg) |
|--------|------------------------------|------------|----------------------|
| 1      | 0                            | 2          | 0                    |
| 2      | 0,05                         | 2          | 0,5                  |
| 3      | 0,1                          | 2          | 1,0                  |
| 4      | 0,2                          | 2          | 2,0                  |
| 5      | 0,3                          | 2          | 3,0                  |

Se debe proceder como se indica en la determinación de la muestra.<sup>4</sup>

<sup>4</sup> No se adiciona cloruro de calcio.

**Arsénico.** Zinc granulado (de 0,3 a 1,5 mm diámetro) exento de arsénico. El Zinc granulado se activa sumergiéndolo durante 15 min en una solución de ácido clorhídrico 1:3, al que se le ha añadido previamente 2 mL de cloruro estannoso. Se desechan las granallas muy activas y muy inactivas, las restantes se lavan con agua bidestilada caliente, se secan y se guardan en un frasco bien tapado.

*Solución saturada de oxalato de amonio.* Se pesan 5,5 g de oxalato de amonio y se disuelve en 97 mL de agua bidestilada.

*Solución de cloruro estannoso 400 g/L.* Se pesan 40 g de cloruro estannoso y se disuelven con 100 mL de ácido clorhídrico concentrado.

*Solución de yoduro de potasio 150 g/L.* Se pesa 150 g de yoduro de potasio y se completa a 1 L.

*Solución de dietilditiocarbamato de plata 5 g/L.* Se pesan 0,5 g de dietilditiocarbamato de plata y se diluye hasta 100 mL con piridina. Se conserva en refrigeración protegida de la luz.

*Algodón impregnado en acetato de plomo.* Se embebe el algodón en una solución de 10 g de acetato de plomo en 100 mL de agua bidestilada, se escurre y se seca en una estufa a 50 °C. El algodón impregnado seco se conserva indefinidamente en un frasco bien tapado.

*Solución de referencia de arsénico 1 000 µg/mL.* Se pesan 0,6600 g de trióxido de arsénico y se disuelven en 5 mL de solución de hidróxido de sodio al 40 % y luego se enrasa hasta 500 mL con agua bidestilada. Se conserva en frasco ambar.

*Solución de referencia de arsénico 100 µg/mL.* Se toman 5 mL de la solución de 1 000 µg/mL y se lleva hasta 50 mL con agua bidestilada. Esta solución se prepara en el momento del análisis.

*Solución de referencia de arsénico de 1 µg/mL.* Se diluye la solución de 100 µg/mL con agua bidestilada hasta 100 mL. Se prepara en el momento del análisis (Tabla 10.6).

**Gráfico de calibración.** Se prepara siguiendo el procedimiento indicado en la determinación, con 6 frascos cónicos.

**Tabla 10.6.** Grado de calibración según el procedimiento indicado

| Patrón | Solución de referencia de arsénico 1 µg/mL | Agua destilada (mL) | Contenido de arsénico (µg) |
|--------|--|---------------------|----------------------------|
| 1      | 0  | 35                  | 0                          |
| 2      | 1  | 34                  | 1                          |
| 3      | 2  | 33                  | 2                          |
| 4      | 3  | 32                  | 3                          |
| 5      | 4  | 31                  | 4                          |
| 6      | 5  | 30                  | 5                          |

Se procesa a partir del paso de formación de arsina.

**Manganeso en las heces fecales.** *Solución de ácido sulfúrico 1:20.* Se mezcla un volumen de ácido sulfúrico con 20 volúmenes de agua bidestilada, se añade el ácido sulfúrico al agua lentamente y por las paredes.

*Solución de ácido oxálico 80 g/L.* Se pesan 80 g de ácido oxálico y se completa un litro con agua destilada.

*Solución de nitrato de plata 10 g/L.* Se pesan 40 g y se diluye con agua destilada hasta un litro, se conserva en frasco ámbar en refrigeración.

*Solución de persulfato de amonio 100 g/L.* Se pesan 100 g de persulfato de amonio y se lleva hasta 1 L. Se prepara en el momento del análisis.

*Solución de ácido sulfúrico y oxálico.* Se prepara mezclando 1 volumen de ácido sulfúrico concentrado con 1 volumen de ácido oxálico 80 g/L. Se prepara en el momento del análisis. Se añade el ácido sulfúrico al oxálico en baño de agua.

*Solución de referencia de manganeso de 1 000 µg/mL.* Se pesan 1,1422 g de nitrato de manganeso tetrahidratado y se disuelve con ácido sulfúrico 1:20 hasta 250 mL. Esta solución es estable; también puede prepararse pesando 1,0150 g de sulfato de manganeso tetrahidratado y se disuelve con ácido sulfúrico 1:20 hasta 250 mL.

*Solución de referencia de manganeso de 50 µg/mL.* Se toman 2,5 mL de la solución de referencia de 1 000 µg/mL y se diluye con ácido sulfúrico 1:20 hasta 50 mL. Se prepara en el momento del análisis.

De una solución de 10 µg/mL de manganeso nitrato (solución estándar), extraer 1 mL y llevar hasta 100 mL con ácido sulfúrico 1:20.

Curva de calibración. Se prepara siguiendo la escala de la tabla 10.7.

**Tabla 10.7.** Escala de soluciones para determinar la curva de calibración del manganeso en las heces fecales

| Patrón | Solución de referencia de Mn 50 µg/mL (mL) | Ácido sulfúrico 1:20 | Contenido de Mn (µg) |
|--------|--|----------------------|----------------------|
| 1      | 0  | 5                    | 0                    |
| 2      | 0,1  | 4,9                  | 5                    |
| 3      | 0,2  | 4,8                  | 10                   |
| 4      | 0,4  | 4,6                  | 20                   |
| 5      | 0,6  | 4,4                  | 30                   |
| 6      | 0,8  | 4,2                  | 40                   |

Se debe continuar como se describe en la determinación.

**Mercurio en la orina.** *Solución de cloruro estannoso.* Se mezclan 20 g de cloruro estannoso, se añaden 5 mL de agua destilada y 25 mL de ácido clorhídrico, se pone en plancha de calentamiento bajo campana de extracción hasta lograr solubilidad total,

cuando alcance temperatura ambiente, se le añaden 25 mL ácido clorhídrico, se agita y se añade agua bidestilada hasta 100 mL. Tomar en cuenta la cantidad de muestras que se deben realizar para no preparar exceso ni defecto. Es estable durante tres meses.

*Solución de referencia de mercurio de 1 000 µg/mL.* Se disuelven 676,7 mg de bicloruro de mercurio en solución de ácido clorhídrico al 5 %, se completa hasta 500 mL con esta solución ácida. Esta solución es estable.

*Solución de referencia de mercurio de 100 µg/mL.* Se toman 5 mL de la solución de referencia de 1 000 µg/mL y se diluye hasta 50 mL con agua bidestilada. Se prepara en el momento del análisis.

*Solución de referencia de mercurio de 1 µg/mL.* Se diluye 1 mL de la solución de referencia de 100 µg/mL hasta 100 mL con agua bidestilada. Se prepara en el momento del análisis.

*Solución de ácido sulfúrico al 10 %.* Se toman 10 mL de ácido sulfúrico concentrado y se lleva hasta 100 mL con agua destilada.

*Solución de permanganato de potasio 1 M.* Pesar 158,04 g de permanganato de potasio y disolver hasta 1 000 mL con agua bidestilada.

*Solución de yoduro de potasio al 3 %.* Se pesa 3 g de yoduro de potasio en 100 mL de agua destilada.

*Solución de yodo al 0,25 %.* Se prepara pesando 0,25 g de yodo y disolviendo en solución de yoduro de potasio al 3 %.

Curva de calibración. (Tabla 10.8).

**Tabla 10.8.** Escala de soluciones para determinar la curva de calibración de mercurio en la orina

| Patrón | Solución de referencia de Hg 1 µg/mL (mL) | Agua destilada (mL) | Contenido de Hg (µg) |
|--------|---|---------------------|----------------------|
| 1      | 0   | 4                   | 0                    |
| 2      | 0,05                                      | 4                   | 25                   |
| 3      | 0,1                                       | 4                   | 50                   |
| 4      | 0,2                                       | 4                   | 100                  |
| 5      | 0,4                                       | 4                   | 200                  |

**Actividad del ácido deltaaminolevulínico dehidrasa en eritrocitos (ALA-D).**

*Solución de ácido delta amino levulínico 1 mmol/L.* Se pesan 8,38 mg de (ALA; HCL) y se lleva a 50 mL con agua bidestilada. Se conserva en frasco ámbar a 4 °C aproximadamente un mes. Esta solución es el sustrato.

*Solución de referencia de ALA de 0,1 mmol/L.* Diluir 0,5 mL de la solución de 1 mmol/L hasta 5 mL con agua bidestilada. Se prepara inmediatamente antes de utilizarlo.

*Solución de fosfato monobásico de sodio dihidratado (0,2 M).* Se pesan 3,12 g de fosfato monobásico de sodio dihidratado, se transfiere a un frasco volumétrico de 100 mL y se lleva a volumen con agua bidestilada.

*Solución de fosfato dibásico de sodio  $12 H_2O$  (0,2 M).* Se pesan 17,9 g de fosfato dibásico de sodio  $12 H_2O$ , se transfiere a un frasco volumétrico de 250 mL y se lleva a volumen con agua bidestilada.

*Solución reguladora de fosfato (pH 6,8).* En un frasco de 250 mL se mezclan 55 mL de la solución de fosfato monobásico de sodio y 100 mL de solución de fosfato dibásico de sodio. Se ajusta el pH de la solución. Se conserva en frasco ámbar en refrigeración durante un mes aproximadamente. Comprobar pH cada vez que se utilice.

*Solución reguladora de acetato (pH 4,6).* En un frasco volumétrico de 1 000 mL de añaden 700 mL de agua bidestilada, 57 mL de ácido acético glacial y 136 g de acetato de sodio trihidratado, diluir y llevar hasta el volumen con agua bidestilada. Conservar en frasco ámbar en el refrigerador durante 2 o 3 meses. Comprobar pH cada vez que se utilice.

*Solución de ácido tricloroacético 100 g/L (10 %).* Se pesan 10 g de ácido tricloroacético y se lleva a 100 mL con agua destilada.

*Reactivo de Ehrlich.* Se vierten 30 mL de ácido acético glacial en una probeta graduada de 50 mL. Se añade 1 g de p-dimetilaminobenzaldehido, 5 mL de ácido perclórico al 60 % y 5 mL de agua bidestilada. Se enrasa a 50 mL con ácido acético glacial. Se prepara en el momento del análisis.

Curva de calibración (Tabla 10.9):

**Tabla 10.9.** Preparación de los reactivos para determinar la actividad del ALA-D

| Reactivos                                     | 0   | 1     | 2    | 3     | 4   |
|---|-----|-------|------|-------|-----|
| Solución de referencia acetato pH 4,6 (mL)    | 1   | 1     | 1    | 1     | 1   |
| Acetoacetato etilo (mL)                       | 0,2 | 0,2   | 0,2  | 0,2   | 0,2 |
| Solución de referencia de ALA 0,1 mmol/L (mL) | 0   | 0,25  | 0,5  | 0,75  | 1,0 |
| Concentración de ALA ( $\mu\text{mol}$ )      | 0   | 0,025 | 0,05 | 0,075 | 0,1 |

Se mezcla y se coloca en baño de agua a 100 °C durante 10 min. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se adicionan 3 mL de acetato de etilo. Se tapa el tubo y se agita enérgicamente durante 1 min. Se deja reposar de 10 a 15 min hasta que se separen las capas. Continuar como se indica en el desarrollo del color y la medición fotométrica.

Punto del gráfico de calibración. Se prepara tomando 0,5 mL de la solución de referencia de 0,1 mmol/L y se añade a un tubo de ensayo de 10 mL con tapa, se adi-



ciona 1 mL de la solución reguladora de acetato a pH 4,6, más 0,2 mL de acetoacetato de etilo. Continuar el análisis a partir de este paso según se indica en los pasos del procedimiento.

**ALA en la orina.** *Reactivo de Ehrlich.* Se vierten 30 mL de ácido acético glacial en una probeta de 50 mL. Se añade 1 g de p-dimetilaminobenzaldehído, 5 mL de ácido perclórico al 60 % y 5 mL de agua bidestilada. Se enrasa a 50 mL con ácido acético glacial. Esta solución se prepara en el momento del análisis.

*Solución reguladora de acetato (pH 4,6).* En un frasco volumétrico de 1 000 mL se añade 700 mL de agua bidestilada, 57 mL de ácido acético glacial y 136 g de acetato de sodio trihidratado, se disuelve bien y se lleva a 1 000 mL con agua bidestilada. Se conserva en refrigeración durante 2 o 3 meses. Comprobar el valor de pH cada vez que se vaya a utilizar.

*Solución de referencia de ALA de 167,6 mg/L (1 mmol/L).* Se pesan 0,00838 g de ácido deltaaminolevulínico clorhidrato y se diluye a 50 mL con agua bidestilada. Esta solución es estable aproximadamente un mes en frasco ámbar en el refrigerador a 4 °C.

*Solución de trabajo de ALA de 50 mg/L (0,38 mmol/L).* De la solución de 1 mmol/L se toman 9,5 mL y se diluye hasta 25 mL con agua bidestilada.

Curva de calibración (Tabla 10.10):

**Tabla 10.10.** Escala para la determinación de ALA-D en la orina

| No. | Agua bidestilada (mL) | Solución de referencia de ALA 50 mg/L (mL) | Concentración de ALA |          |
|-----|-----------------------|--|----------------------|----------|
|     |                       |  | (mg/L)               | (mmol/L) |
| 0   | 1                     | 0  | 0                    | 0        |
| 1   | 0,9                   | 0,1  | 5                    | 0,038    |
| 2   | 0,8                   | 0,2  | 10                   | 0,076    |
| 3   | 0,7                   | 0,3  | 15                   | 0,114    |
| 4   | 0,6                   | 0,4  | 20                   | 0,152    |
| 5   | 0,5                   | 0,5  | 25                   | 0,191    |
| 6   | 0,4                   | 0,6  | 30                   | 0,229    |

La escala de referencia se procesa igual que las muestras y se le añaden incluso al blanco los 0,2 mL de acetoacetato de etilo.

**Hierro.** *Solución reguladora glicina-clorhídrico (pH 1,9).* Pesar 3,75 g de glicina, disolver aproximadamente en 150 mL de agua desionizada o bidestilada y ajustar el pH a 1,9-0,02 con ácido clorhídrico. Se añade agua bidestilada o desionizada hasta 250 mL y se reajusta el pH, si es necesario. Se guarda a 4 °C.

Solución reguladora de trabajo:

- Se prepara en el momento del análisis, mezclando los volúmenes siguientes:
  - Dos volúmenes de solución de ácido ascórbico recién preparado.
  - Un volumen de solución reguladora de glicina.
  - Un volumen de agua bidestilada o desionizada.

*Solución de batofenantrolina sulfonatada.* Pesar 160 mg de batofenantrolina sulfonatada, sal disódica y disolver en 25 mL de agua desionizada o bidestilada.

*Solución de referencia de hierro con contenido de 17,91 mol/L.* Se pesan exactamente 100 mg de alambre puro de hierro, previamente limpio y seco, se colocan en un erlenmeyer y se añade 2 mL de ácido clorhídrico bidestilado (libre de hierro) 7 M y se coloca en baño María a 100 °C hasta que se disuelva totalmente. Se deja enfriar y se disuelve con agua desionizada o bidestilada hasta 100 mL en un frasco volumétrico.

*Solución de referencia de hierro de 1,791 mol/L.* Se toman 10 mL de la solución de 17,91 mol/L y se enrasa con agua bidestilada o desionizada hasta 100 mL en un frasco volumétrico.

*Solución de referencia de hierro de 17,91 μmol/L.* Se toma 1 mL de la solución de hierro de 1,791 mol/L y se enrasa con ácido clorhídrico 0,005 M. Mantener a 4 °C. Este reactivo tiene una duración de una semana.

*Patrón de calibración.* Se toman 0,5 mL de la solución de referencia de hierro de 17,91 μmol/L y se le añaden 2 mL de la solución amortiguadora de trabajo.

*Solución de referencia de hierro con contenido de 89,55 μmol/L. Parte II.* Se toman 5 mL de la solución de 1,791 mol/L y se diluyen en un frasco volumétrico con agua bidestilada hasta 100 mL. Se mantiene a temperatura de 4 °C, con una duración de una semana.

**Colinesterasa.** *Solución de clorhidrato de acetilcolina al 2 %.* Disolver 0,5 g de clorhidrato de acetilcolina y enrasar hasta 25 mL con agua bidestilada. Se conserva en frío.

*Valoración.* A un tubo de ensayo rotulado como "muestra" se le añaden 1,8 mL de solución reguladora a pH 7,6 más 0,1 mL de solución al 2 % de clorhidrato de acetilcolina. Rotular el otro tubo "control" y añadir 1,9 mL de solución reguladora a pH 7,6. Agregar en ambos tubos 1 gota de solución de bromotimol azul al 0,2 %. Se valora la solución de acetilcolina contenida en el tubo rotulado "muestra" con solución de hidróxido de sodio al 0,01 N hasta igualar el color con el "control".

Se anotan los mililitros de hidróxido de sodio consumidos y ese valor será el volumen de hidróxido de sodio 0,01 N que se añadirá a los tubos rotulados "muestra" de la determinación de la actividad colinesterásica.<sup>5</sup>

---

<sup>5</sup>La valoración se hace antes de comenzar el análisis. Cuando la acetilcolina tiene la calidad requerida y la manipulación ha sido correcta, el consumo de hidróxido de sodio 0,01 mL no excederá de 0,05 mL. En caso de que exceda, debe eliminarse la solución o el reactivo según sea la causante del exceso.

*Solución de eserina salicilato o clorhidrato (fisostigmina) al 0,4 %.* Disolver 100 mg de eserina salicilato o clorhidrato en agua bidestilada caliente, dejar enfriar y llevar hasta 25 mL con agua bidestilada. Conservar en frío y frasco blanco. Se elimina cuando cambia de coloración a rosado o rojizo.

*Solución de hidróxido de sodio 1 N (mol/L).* Pesar 4 g de hidróxido de sodio y diluir en agua bidestilada recién hervida. Dejar enfriar y llevar hasta 100 mL con la misma agua. También puede utilizarse solución valorada concentrada para preparar hidróxido de sodio 1 N.

*Solución de hidróxido de sodio 0,05 N (0,05 mol/L).* Se prepara diluyendo convenientemente a partir de la solución de hidróxido de sodio 1 N, se toman 2,5 mL de la solución de la 1 N y se diluyen con agua bidestilada recién hervida hasta 50 mL.

*Solución de hidróxido de sodio 0,01 N (0,01 mol/L).* Se prepara diluyendo convenientemente la solución de hidróxido de sodio 1 N, se toma 1 mL de esta solución y se diluye con agua bidestilada recién hervida hasta 100 mL.

Las soluciones 0,05 N y 0,01 N se valorarán como sigue a continuación.

Valoración. Vertir 1 mL exacto de ácido clorhídrico 0,01 N en un tubo para ensayo de 100 x 13 mm. Rotular "muestra". En otro tubo que se rotula como "control", vertir 2 mL de hidróxido de sodio 0,01 N. Añadir en ambos tubos 1 gota de solución indicadora de bromotimol azul al 0,2 %. Valorar el ácido clorhídrico 0,01 N con la solución de hidróxido de sodio 0,01 N contenida en la microbureta hasta igualar el color del tubo control.<sup>6</sup>

Cálculo para hallar el factor:

$$N \cdot V = N' \cdot V'$$

donde:

N: Normalidad de la sosa (0,01 N).

V: Volumen de ácido clorhídrico 0,01 N.

N': Normalidad incógnita (factor).

V': Volumen de hidróxido de sodio consumido en la valoración.

Este factor de normalidad se tendrá en cuenta al efectuar los cálculos.

*Solución de fosfato monobásico de potasio 1/15 M.* Pesar 2,2682 g y disolver hasta 250 mL con agua bidestilada.

*Solución de fosfato dibásico de sodio 1/15 M.* Si el compuesto es:

- Anhídrido      pesar      4,7120 g.
- Con 2 H<sub>2</sub>O      pesar      5,9330 g.
- Con 7 H<sub>2</sub>O      pesar      8,9357 g.

---

<sup>6</sup> Se recomienda valorar esta solución antes y después de la valoración de las muestras. Se halla el factor de normalidad de la solución en caso necesario, si los volúmenes de ácido clorhídrico a hidróxido de sodio no se corresponden (entre 0,97-1,0 mL).

- Con 12 H<sub>2</sub>O pesar 11,9380 g.  
Llevar hasta 500 mL con agua bidestilada.

*Solución reguladora de fosfato pH 7,8.* Mezclar 8,8 mL de solución de fosfato monobásico de potasio 1/15 M y 91,2 mL de solución de fosfato dibásico de sodio 1/15 M.

*Solución reguladora de fosfato pH 7,6 en solución de cloruro de sodio 0,9 %.* Tomar 2 mL de la solución reguladora a pH 7,8 y enrasar a 100 mL con solución de cloruro de sodio 0,9 %. Se prepara en el momento del análisis, se mide y se ajusta el pH.

*Solución indicadora de bromotimol azul al 0,4 %.* Triturar 100 mg de bromotimol azul en un mortero, agregar 3,2 mL de solución de hidróxido de sodio 0,05 N lentamente y triturar después de la adición. Se trasvasa el contenido del mortero a un matraz aforado de 25 mL, se enrasa con agua bidestilada con la que previamente se ha lavado el mortero y se conserva en frasco ámbar en la oscuridad.

*Solución indicadora de bromotimol azul al 0,2 %.* A partir de la solución indicadora de bromotimol azul al 0,4 % en el momento de usarse, se mezclan volúmenes iguales de esta solución al 0,4 % y solución reguladora de fosfato a pH 7,6.

*Solución de ácido clorhídrico 0,01 N (0,01 mol/L).* Para preparar esta solución hay que tener en cuenta la densidad y el porcentaje de concentración del reactivo.

$$X = \frac{PM \cdot N \cdot 100}{D \cdot C}$$

donde:

d: Densidad expresada en g/mL.

C: Concentración expresada en %.

X: Mililitros de ácido clorhídrico que deben ser tomado para diluir hasta 1 000 mL con agua bidestilada.

PM = 36,441.

N: Normalidad deseada (0,01).

*Solución de cloruro de sodio 0,9 % (suero fisiológico).* Se pesan 0,9 g de cloruro de sodio y se llevan a 100 mL con agua bidestilada.

**Colinesterasa en sangre total, plasma y eritrocitos.** Solución de fosfato monobásico de potasio 1/15 M.

Pesar 2,2682 g y disolver hasta 250 mL con agua bidestilada.

*Solución de fosfato dibásico de sodio 1/15 M.* En esta solución se realiza el mismo procedimiento que para la determinación de colinesterasa.

*Solución reguladora (pH 8).* Mezclar 2,5 mL de solución fosfato monobásico de potasio 1/15M y llevar a 50 mL con la solución de fosfato dibásico de sodio 1/15 M, medir el pH y ajustar a pH 8.

*Solución reguladora de fosfato con 5,5 ácido ditiobisnitrobenzoico (DTNB) (pH 8).* Pesar 10 mg de DTNB y disolver en 50 mL de solución de cloruro de sodio al 0,9 % y 50 mL de solución reguladora de fosfato pH 8, ajustar el pH 8. Se conserva en refrigeración a 4 °C, medir el pH cada vez que se va a utilizar.

*Solución de acetiltiocolina yoduro.* Se disuelve 75 mg de acetiltiocolina yoduro en 50 mL de agua bidestilada. Se prepara en el momento del análisis y se mantiene en baño de hielo.

*Solución de salicilato o clorhidrato de eserina (fisostigmina).* Disolver 50 mg de salicilato o clorhidrato de eserina y llevar hasta 50 mL con agua bidestilada. Guardar en frasco de cristal blanco en el refrigerador, si aparece coloración rosada se desecha.

*Solución de referencia de glutatión con concentración 0,813 μMSH/mL.* Se pesan 25 mg de glutatión reducido y se disuelven hasta 100 mL con aguas bidestilada. Esta solución se prepara en el momento del análisis.

Gráfico de calibración (Tabla 10.11):

**Tabla 10.11.** Escala de soluciones para determinar la colinesterasa en sangre total, plasma y eritrocitos

| Soluciones  | 0   | 1      | 2     | 3     | 4     | 5     |
|---|-----|--------|-------|-------|-------|-------|
| Solución reguladora fosfato/DTNB (mL)                       | 4   | 4      | 4     | 4     | 4     | 4     |
| Solución de referencia glutatión reducido de 0,813 μMSH /mL | 0   | 0,1    | 0,2   | 0,3   | 0,4   | 0,5   |
| Agua bidestilada (mL)                                       | 1,5 | 1,4    | 1,3   | 1,2   | 1,1   | 1,0   |
| Concentrado de SH μM  | 0   | 0,0813 | 0,163 | 0,244 | 0,325 | 0,407 |

Nota: Leer a 420 nm contra el blanco del gráfico de calibración

**Ácido hipúrico.** *Mezcla de éter etílico-etanol.* Se toman 9 mL de éter etílico y una parte de etanol.

*Solución de referencia de ácido hipúrico 2 mg/mL.* Se disuelven 0,2 g de ácido hipúrico hasta 100 mL con agua destilada.

*Reactivo de color.* Se pesan 0,4 g de p-dimetilaminobenzaldehído y disolver en 10 mL de anhídrido acético. Se añaden algunos cristales de acetato de sodio anhídrido. Se prepara en el momento del análisis.

*Solución de timol al 10 %.* Se pesan 10 g de timol y se disuelven hasta 100 mL con alcohol isopropílico.

Gráfico de calibración (Tabla 10.12):

**Tabla 10.12.** Escala de soluciones para determinar el ácido hipúrico

| No. | Solución de referencia ácido hipúrico (2 mg/mL) (mL) | Agua bidestilada (mL) | Contenido de ácido hipúrico (mg) |
|-----|--|-----------------------|----------------------------------|
| 0   | 0  | 1                     | 0                                |
| 1   | 0,1  | 0,9                   | 0,2                              |
| 2   | 0,2  | 0,8                   | 0,4                              |
| 3   | 0,3  | 0,7                   | 0,6                              |
| 4   | 0,4  | 0,6                   | 0,8                              |
| 5   | 0,5  | 0,5                   | 1,0                              |

Cuando se realizan las muestras, se utiliza un punto de la curva que corresponde con un contenido de ácido hipúrico de 0,6 gramos.

**Ácido hipúrico y metilhipúrico.** *Mezcla de éter etílico-etanol.* Se prepara en la proporción de 9 partes de éter etílico y 1 parte de etanol.

*Silica gel 60 G activada.* Para usar 4 placas de vidrio se pesan 20 g de silica gel 60 G y se mezclan con 40 mL de agua destilada. Después de tiradas las placas y secadas a temperatura ambiente, se activan durante 1 h a 100 °C y se refresca en desecadora para su uso inmediato.

*Mezcla de tolueno-ácido acético-agua.* Se mezclan en las promociones de 100 mL de tolueno, 50 mL de ácido acético glacial y 2,3 mL de agua destilada. Se colocan en un tubo tapado, se ajusta el pH a 2 con ácido clorhídrico, se satura con 0,3 g de cloruro de sodio. El ácido hipúrico se extrae dos veces con 2 mL de la mezcla de éter etílico-etanol y el extracto de éter se diluye 10 veces con la misma mezcla de éter etílico-etanol.

**Fenol en la orina:**

- Amoníaco 0,75 N. Se diluyen 10,2 mL de amoníaco al 25 % en agua destilada hasta 200 mL.
- 4-aminoantipirina 0,6 % solución acuosa, masa volmen (m/v). Se pesan 0,6 g de 4-aminoantipirina y se disuelve en agua bidestilada, completando su volumen hasta 100 mL.
- Solución de referencia de fenol 0,5 mg/mL ( $V_1$ ). Se prepara con fenol destilado o con calidad reactivo no licuado. Se pesan 0,05 g de fenol, se disuelven en un matraz aforado y se completa a 100 mL con agua bidestilada.
- Solución de referencia de fenol 10 µg/mL ( $V_2$ ). De la solución de referencia de fenol al 0,5 mg/mL ( $V_1$ ) se prepara una dilución 1:50 que contendrá 10 µg/mL ( $V_2$ ), valorar la solución.
- Ferricianuro de potasio al 2 % solución acuosa (m/v). Se pesan 2 g de ferricianuro de potasio y se disuelven en agua bidestilada completando hasta 100 mL en matraz aforado.

Gráfico de calibración (Tabla 10.13):

**Tabla 10.13.** Escala de soluciones para determinar fenol en la orina

| Soluciones                               | No. de tubos |      |     |      |     |
|--|--------------|------|-----|------|-----|
|  | 0            | 1    | 2   | 3    | 4   |
| Agua bidestilada (mL)                    | 5            | 4,75 | 4,5 | 4,25 | 4   |
| Solución de referencia de fenol 10 µg/mL | -            | 0,25 | 0,5 | 0,75 | 1   |
| Ácido sulfúrico concentrado              | 0,5          | 0,5  | 0,5 | 0,5  | 0,5 |
| Contenido de fenol (µg)                  | 0            | 2,5  | 5   | 7,5  | 10  |

En la escala de referencia se procederá de igual forma que con las muestras, a partir de los 5 mL del destilado, y se leerá en el espectrofotómetro a 510 nm.

**Soluciones de tratamiento de la cristalería:**

- Mezcla sulfocrómica. Se pesan 250 g de dicromato de potasio para 2 L de agua y 1 L de ácido sulfúrico concentrado. Se disuelve el dicromato en agua y luego lentamente se añade el ácido, siempre colocado en baño con hielo, pues la reacción es muy exotérmica.
- Ácido nítrico al 5 %. Se añaden 50 mL de ácido nítrico calidad técnica en agua y se completa a 1 000 mL.
- Ácido clorhídrico al 5 %. Se añaden 5 mL de ácido nítrico calidad técnica en agua y se completa a 1 000 mL.

**Cobre en el suero:**

- Solución de referencia de cobre 1 000 µg/mL. Se disuelven 3,7980 g de nitrato de cobre ( $\text{Cu}[\text{NO}_3]_2/\text{H}_2\text{O}$ ) en 250 mL de agua desionizada y completar a un volumen de 1 000 mL con agua desionizada.
- Solución de referencia de cobre 100 µg/mL. Se toman 5 mL de la solución de referencia de 1 000 µg/mL y se diluye hasta 50 mL con agua bidestilada. Esta solución se prepara en el momento del análisis.
- Solución de referencia de cobre 10 µg/mL. Se toman 5 mL de la solución de cobre de 100 µg/mL y se diluyen hasta 50 mL con agua bidestilada. Esta solución se prepara en el momento del análisis.

*Plomo en la sangre*

**Método espectrofotométrico de la ditizona**

*Fundamento del método.* El método se basa en la digestión de las muestras de sangre, la disolución del residuo y la extracción ulterior de plomo con solución

clorofórmica de ditizona. La intensidad de la coloración formada es proporcional al contenido de plomo en la muestra y se determina por comparación fotométrica con una escala de referencia.

**Reactivos químicos:**

- Ácido nítrico.
- Ácido clorhídrico.
- Cloroformo.
- Sodio fluoruro.
- Tritón x-100.
- Solución de ácido nítrico al 1 y 5 %.
- Solución de ácido clorhídrico al 50 %.
- Solución de hidróxido de amonio 1:1.
- Solución de citrato de triamonio 500 g, se le eliminan las impurezas de plomo (anexo B).
- Solución de timol azul en alcohol etílico, 1 g/L. Se disuelve 0,1 g de timol azul en 20 mL de alcohol etílico absoluto, se calienta entre 50 y 60 °C, se enfría y se lleva hasta 100 mL, con agua bidestilada.
- Solución de clorhidrato de hidroxilamina 200 g/L.
- Solución de cianuro de potasio 100 g/L.
- Solución de sulfito de sodio 30 g/L. A esta solución se le eliminan las impurezas de plomo (anexo B).
- Solución de cianuro amoniacoal. Se mezclan 350 mL de hidróxido de amonio concentrado, 30 mL de solución de cianuro de potasio y 50 mL de solución de sulfito de sodio y se diluye con agua bidestilada.
- Solución de ditizona (difeniltiocarbazona) en cloroformo, 1g/L. A esta solución se le realiza comprobación de pureza (anexo b), además, es estable durante 4 meses en refrigeración y protegida de la luz.
- Solución de ditizona 0,03g/L. Se diluyen 3 mL de la solución de ditizona de 1 g/L con cloroformo hasta 100 mL. Se prepara en el momento del análisis.
- Solución de ditizona 0,01 g/L. Se diluye 1 mL de la solución de ditizona de 1 g/L con cloroformo hasta 100 mL. Se prepara en el momento del análisis. Esta solución es de color verde y se determina la absorbancia a 510 nm mediante cloroformo como blanco. La absorbancia de la solución se ajusta entre 0,22 y 0,23 utilizando ditizona o cloroformo según el caso.
- Solución de referencia de plomo, 1 000 µg/mL. Se disuelven 0,7992g de nitrato de plomo en 5 mL de ácido nítrico concentrado. Se lleva a un volumen de 500 mL con agua bidestilada. Antes de pesar se coloca el reactivo de nitrato de plomo en desecadora durante 48 h. La solución se guarda en frasco ámbar con cierre hermético y puede utilizarse aproximadamente durante 6 meses.



- Solución de referencia de plomo 100 µg/mL. Se toman 5 mL de la solución de referencia de 1 000 µg/mL y se diluye hasta 50 mL con agua bidestilada. Esta solución se prepara en el momento del análisis.
- Solución de referencia de plomo 10 µg/mL. Se toman 5 mL de la solución de plomo de 100 µg/mL se diluye hasta 50 mL con agua bidestilada. Esta solución se prepara en el momento del análisis.
- Algodón libre de plomo. Ver anexo B.
- Heparina 25 000 UI/mL.

Los reactivos que se emplean en este método deben ser de calidad para análisis, también el agua que se utiliza debe ser bidestilada o desionizada, siempre con el requisito de que su conductividad debe ser menor que 3 uS/cm.

**Aparatos y utensilios:**

- Plancha de calentamiento con control de temperatura.
- Mufla eléctrica de 0 a 1 000 oC con valor de división de 50 °C.
- Beaker de 100 mL.
- Vidrio reloj con 70 mm de diámetro.
- Pipetas graduadas de 1, 2, 5 y 10 mL.
- Pipetas aforadas de 5 y 10 mL.
- Probetas de 25, 50, y 100 mL
- Embudos de separación de 250 y 1 000 mL.
- Papel indicador de pH.
- Jeringuillas de 10 o 20 mL.
- Agujas hipodérmicas No. 20.
- Frascos plásticos de 25 mL con tapa.
- Espectrofotómetro para medir la longitud de honda de 510 nm o fotocolorímetro con filtro verde.

**Muestreo y muestras.** Las muestras de sangre se toman por punción intravenosa y se vierten en los frascos plásticos que contendrán una gota de heparina como anti-coagulante, por cada 5 mL de sangre. Se agita suavemente para uniformar.

Previamente debe lavarse la zona de la punción con agua y jabón y luego desinfectar con alcohol al 70 %.

Si el análisis no se va a realizar inmediatamente, las muestras se conservan en refrigeración a 4 oC durante un período no mayor que 3 días. Si fuera necesario guardarse por más tiempo, pueden congelarse durante una semana.

**Procedimiento:**

- Preparación de la porción de ensayo. Se toma con una pipeta 5 mL de sangre total y se coloca en un beaker. El vertimiento de la sangre se realiza lentamente para que las paredes de la pipeta queden completamente limpias.

- Determinación. En el beaker que contiene la porción de ensayo se añaden 5 mL de ácido nítrico concentrado, se tapa con un vidrio reloj y se coloca sobre la plancha de calentamiento fría. Se eleva paulatinamente la temperatura hasta ebullición suave, cuidando que no se produzcan salpicaduras. El calentamiento continúa hasta la sequedad total. Las muestras se colocan en la mufla fría, se eleva la temperatura hasta 450 °C de 8 a 12 h en estas condiciones, después de enfriar a temperatura ambiente, el residuo se humedece con 0,25 mL de ácido nítrico concentrado y 0,5 mL de ácido clorhídrico concentrado, y se calienta hasta secar la plancha eléctrica. En este caso el residuo debe quedar completamente blanco o ligeramente amarillento.

Se añaden 2,5 mL de solución de ácido clorhídrico 1:1 y 5 mL de agua bidestilada, se calienta hasta disolución total del residuo y se transfiere cuantitativamente el contenido a un embudo de separación, se lava el beaker 3 veces con porciones de 1,5 mL de agua bidestilada y se calienta cada vez. Se transfiere cuantitativamente al embudo de separación.

En el embudo se añaden 5 mL de solución de citrato de triamonio, 1 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina y 3 o 4 gotas de solución de timol azul. Se adiciona entonces solución de amoníaco 1:1 hasta que la solución adquiera coloración verde manzana (pH entre 9 y 10). Seguidamente se añaden 2,5 mL de solución de cianuro de potasio y se ajusta el pH entre 9 y 9,5 con solución de amoníaco 1:1, utilizando papel indicador de pH.

Se adiciona en el embudo 3 mL de solución de ditizona 0,03 g/L, se agita fuertemente durante 2 min y se deja reposar hasta la separación total de las fases. La capa clorofórmica se transfiere a otro embudo de separación y se realiza de nuevo la extracción de la fase acuosa con otra porción de 3 mL de ditizona 0,03 g/L. Esta operación se repite hasta que la fase clorofórmica permanezca completamente verde. Los extractos clorofórmicos se unen en el segundo embudo y se desecha la fase acuosa.

A los extractos de ditizona se adicionan 7,5 mL de solución de ácido nítrico al 1 % y se agita durante 2 min. La fase clorofórmica se trasvasa a otro embudo y se extrae de nuevo con 5 mL de solución de ácido nítrico al 1 % y se agita durante 2 min. Se desecha la capa de cloroformo, se reúnen los extractos nítricos y se lavan con 2 mL de cloroformo, agitando durante 10 s. En este paso puede interrumpirse el análisis si no se continúa de forma inmediata, dejando la fase clorofórmica en el embudo.

A continuación, se elimina la capa clorofórmica del embudo, se añaden 37,5 mL de solución de cianuro amoniacal y 5 mL de solución de ditizona 0,01 g/L, se agita durante 2 min y se deja reposar hasta la separación total de las fases. Se seca el vástago del embudo de separación con papel de filtro, se

le coloca un tapón pequeño de algodón libre de plomo y se transfiere la fase inferior de ditizona del embudo a la celda de vidrio del espectrofotómetro o fotocolorímetro.

- Ensayos en blanco:
  - Ensayo en blanco para ajuste del equipo. Colocar 12,5 mL de ácido nítrico al 1 % en un embudo de separación, añadir 37,5 mL de solución de cianuro amoniacal y 5 mL de solución de ditizona 0,01 g/L y continuar como se indica en el acápite de la determinación.
  - Ensayo en blanco de reactivos. Se comienza desde el principio del análisis como la muestra, pero en vez de sangre se añade 5 mL de agua bidestilada.
- Gráfico de calibración. En 5 matraces de 50 mL se prepara la escala de referencia (Tabla 10.14):

**Tabla 10.14.** Escala de referencia para determinar plomo en sangre mediante el método espectrofotométrico de la ditizona

| No | Solución de referencia de Pb | Agua bidestilada | Contenido de Pb |
|----|------------------------------|------------------|-----------------|
| 0  |                              | 50               | 0               |
| 1  | 1,25                         | hasta 50         | 1,25            |
| 2  | 2,5                          | hasta 50         | 2,5             |
| 3  | 5,0                          | hasta 50         | 5,0             |
| 4  | 7,5                          | hasta 50         | 7,5             |

Nota: De cada matraz tomar 5 mL y continuar como se indica en el acápite de la determinación

*Medición fotométrica.* La medición fotométrica se realiza a 510 nm mediante un espectrofotómetro o un fotocolorímetro con filtro verde, las mediciones se realizan inmediatamente después de la última extracción con ditizona para evitar la descomposición del ditizonato con la luz.

*Expresión de los resultados.* La concentración de plomo en sangre (c) se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$C = \frac{a \cdot 100 \text{ (ug/dL)}}{v}$$

donde:

a: Contenido de plomo en la porción de ensayo (µg).

v: Volumen de la porción de ensayo.

100: Factor para expresar la concentración en µg/dL.

Los resultados se aproximan hasta la décima.

**Anexo B.** Purificación de los reactivos para la técnica colorimétrica

**Ditizona (difeniltiocarbazona).** Se toma 1 mL de la solución de ditizona de 1 g/L y se coloca en un tubo de ensayo, se le añaden 5 mL de hidróxido de amonio y se agita vigorosamente. La pureza necesaria del reactivo se determina si la capa clorofórmica no tiene color o si adquiere un matiz ligeramente amarillo si, por el contrario, la tonalidad es amarillo-oscura o parda, es necesario purificar el producto antes de utilizarlo.

**Purificación de la ditizona.** Se disuelven 0,5 g de ditizona en 50 mL de cloroformo, se filtra la solución a través de un embudo con placa de vidrio sinterizada y se transfiere el filtrado a un embudo de separación. Se añaden 50 mL de solución de amoníaco al 1 % y se agita vigorosamente. Después de la separación de las fases, la solución clorofórmica se trasvasa a un beaker y se le añade lentamente ácido clorhídrico concentrado para precipitar la ditizona, que se separa mediante filtración en otro embudo con placa de vidrio sinterizado. Los cristales se lavan con agua y se secan en desecadora con ácido sulfúrico durante 3 a 4 días protegido de la luz. La ditizona purificada se conserva en frasco ámbar durante un período no mayor que 6 meses.

**Purificación de las soluciones de citrato de triamonio y de sulfito de sodio.** El volumen total de cada una de las soluciones por separados se coloca en embudos de separación, se ajusta el pH entre 9 y 10 y se le adicionan 5 mL de ditizona 0,01 g/L, se agita y se deja reposar hasta la separación de las fases. Si la capa clorofórmica adquiere coloración rosada o rojiza, se desecha y se repite la operación hasta que la capa de ditizona permanezca verde. Luego, se lava la solución acuosa con varias porciones de 5 mL de cloroformo hasta que la fase clorofórmica permanezca totalmente incolora.

**Preparación de algodón.** Se coloca el algodón en una solución de ácido nítrico al 5 % durante 72 h, se escurre y se enjuaga con agua destilada hasta eliminar el ácido y después, 6 veces con agua bidestilada. Se seca en el horno con cuidado que no se queme. Se guarda en frasco de cristal con tapa.

*Mercurio en la orina*

#### **Método colorimétrico visual**

*Fundamento del método.* El método se basa en la digestión por vía húmeda de las muestras de orina con solución de permanganato de potasio y ácido sulfúrico, y la extracción posterior el mercurio con solución clorofórmica de ditizona. La intensidad de la coloración del contenido de mercurio en la muestra se determina mediante comparación visual con un ensayo de referencia.

**Reactivos químicos:**

- Gránulos antibumping.
- Ácido sulfúrico.
- Cloroformo.
- Ditizona.
- Ácido nítrico.
- Solución saturada de permanganato de potasio 75 g/L.
- Solución saturada de clorhidrato de hidroxilamina 830 g/L.
- Potasio persulfato.
- Solución de urea 100 g/L.
- Solución de ácido etilendiamino tetracético (sal sódica) 25 g/L.
- Solución de acetato de sodio 500 g/L.
- Solución de ditizona en cloroformo 1 g/L.
- Solución de ditizona de 0,005 g/L. Se diluye 0,5 mL de la solución de 1 g/L con cloroformo hasta 100 mL. Se prepara en el momento del análisis.
- Solución de referencia de mercurio de 1 000 µg/mL. Se disuelven 676,7 mg de bicloruro de mercurio en solución de ácido clorhídrico al 5 %, se completa hasta 500 mL con esta solución ácida.
- Solución de referencia de mercurio de 100 µg/mL. Se toman 5 mL de la solución de mercurio de 1 000 µg/mL y se diluye hasta 50 mL con agua bidestilada. Se prepara en el momento del análisis.
- Solución de referencia de mercurio de 1 µg/mL. Se diluye 1 mL de la solución de 100 µg/mL con agua bidestilada. Se prepara en el momento del análisis.

Los reactivos utilizados deben poseer la calidad requerida para el análisis. El agua que se debe utilizar puede ser bidestilada o desionizada, siempre que su conductividad sea menor que 3 uS/cm.

**Aparatos y utensilios:**

- Fuente de luz fluorescente para la comparación visual (negatoscopio).
- Embudos de separación con fondo cónico.
- Frasco cónico de 100 mL.
- Agitador de cristal.
- Plancha de calentamiento.
- Vidrios reloj de 60 mm de diámetro.
- Balones de fondo redondo de 125 mL con boca esmerilada.
- Condensador recto (Liebig) con conexión esmerilada.
- Probetas graduadas de 10, 25 y 100 mL.

- Microburetas de 2 mL con vapor de división de 0,01 mL.
- Pipetas graduadas de 1, 2, 5 y 10 mL.
- Pipetas aforadas de 1, 5 y 10 mL.
- Papel indicador de pH.
- Frascos de polietileno de 1 000 y 100 mL.

**Muestreo y muestras.** Se debe coleccionar la orina de 24 h, si no es posible, se toma una sola micción perfectamente al final de la jornada de trabajo.

En muestras de orina de 24 h se sigue el procedimiento siguiente:

- Para coleccionar la orina se ordena al paciente vaciar la vejiga antes de comenzar a contar las 24 h, se desecha esa muestra, inmediatamente a partir de ese momento, se recoge toda la orina hasta 24 h después, en que se vacía la vejiga y esta última orina se incluye en la colección. Se recoge la orina en frascos de polietileno de 1 000 mL, previamente lavados con ácido nítrico al 5 %. Se homogeniza bien, se mide el volumen total, se anota y se toman 100 mL en frascos de polietileno.
- La muestra de orina de una micción se recoge igualmente en frascos de polietileno previamente lavados con ácido nítrico. Si el análisis no se va a realizar en el momento, se añade 0,1 g de persulfato de potasio por cada 100 mL de orina, y se conserva en refrigeración a 4 °C durante un período no mayor que 5 días.

En personas que padecen diabetes no puede realizarse este método.

**Procedimiento:** *Digestión:*

- Se toman 10 mL de la orina previamente homogeneizada, se vierte en un balón de 125 mL que contenga gránulos antibumping. Insertar al balón un condensador Liebig con conexión esmerilada y disponer el equipo en posición vertical (de reflujo) sobre un micromechero o una plancha de calentamiento.
- Se vierte 1 mL de ácido sulfúrico por el extremo superior del condensador, se agita el balón sin desajustar el equipo y se deja hervir 3 min de forma moderada, ya que el mercurio es muy volátil. Retirar del calor y añadir 1 mL de solución saturada de permanganato de potasio por el extremo superior del condensador.
- Si decolora, se añade de 0,5 a 1 mL más de permanganato de potasio, se coloca de nuevo la fuente de calor y se deja hervir moderadamente hasta que decolore, añadir de 0,5 a 1 mL más de permanganato de potasio hasta que persista el exceso de permanganato aún después de un calentamiento prolongado durante 1 h o más.
- Se anota el volumen de permanganato añadido. Se deja enfriar y con el equipo aún en posición vertical, añadir 1 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina y 5 mL de agua bidestilada por el extremo superior del condensador, se hace

hervir durante 2 min, se deja enfriar y se lava el condensador con 5 mL de agua bidestilada. En este paso puede interrumpirse la técnica tapando el extremo superior del condensador para evitar contaminaciones.

- Después de enfriar, se pasa el contenido al frasco cónico, cuidando que no pasen los gránulos antibumping. Se lava el condensador y el balón con 30 mL de agua bidestilada en 2 porciones de 10 mL y el resto de 5 mL, cada vez se pasa al frasco cónico.
- Para cada muestra se realiza una prueba control. En un frasco cónico, cuyo extremo sea semejante al de la muestra, se añaden 50 mL de agua bidestilada, 1 mL de ácido sulfúrico, el volumen de permanganato de potasio añadido a la muestra y 1 mL de clorhidrato de hidroxilamina. Mezclar bien.

**Extracción y desarrollo de color.** En ambos frascos (control y muestra) se añaden 2 mL de solución de urea al 10 %, 1 mL de solución de sal sódica del ácido etilendiamino tetracético y solución de acetato de sodio hasta ajustar el pH a 1,5 con papel indicador y con la menor cantidad de solución (tomar solo con un agitador de cristal).

Añadir a la muestra y al control 1 mL de solución de ditizona de 0,005 g/L, agitar durante 1 min. Comparar la coloración de ditizona en ambos frascos, si el frasco de la muestra presenta un color naranja, se debe añadir más solución de ditizona aumentando 1 mL y agitando durante 1 min hasta después de decantar la capa clorofórmica; esta toma un color verde amarillento (color de aceituna), lo cual indica un ligero exceso de ditizona. Al frasco control se le añade el mismo volumen de ditizona que se añadió a la muestra, y toma un color azul verdoso. A este frasco control se añade solución de mercurio de 1 µg/mL con una microbureta, adicionando 0,05 mL cada vez. Agitar vigorosamente durante 1 min después de cada adicción. Se iguala el color del frasco control con la muestra y se utiliza una fuente de luz apropiada para la comparación de los dos frascos.

Se anota el volumen de la solución de mercurio de 1 µg/mL consumido, que representa directamente la concentración de mercurio presente en la muestra.

Expresión de los resultados. La concentración de mercurio se calcula mediante la fórmula siguiente ( $\mu\text{g/L}$ ):

$$C = \frac{a \cdot 1000}{V_a}$$

donde:

a: Contenido de mercurio en la porción de ensayo ( $\mu\text{g}$ ).

$V_a$ : Volumen de la porción de ensayo (mL).

1000: Factor para expresar la concentración en  $\mu\text{g/L}$ .

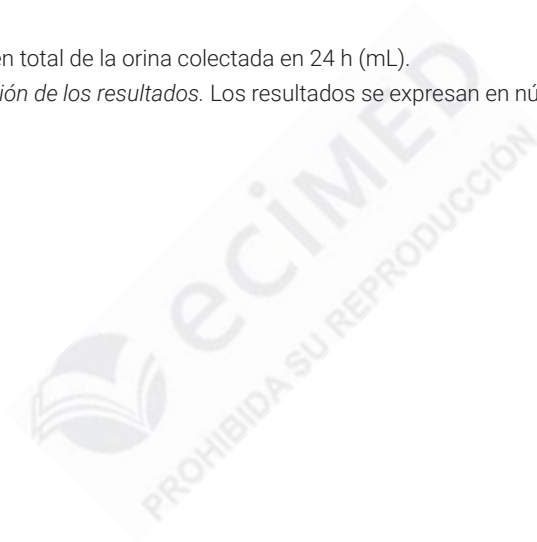
En la orina de 24 h se utiliza la fórmula ( $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ ):

$$C = \frac{a \cdot V_t}{V_a}$$

donde:

$V_t$ : Volumen total de la orina colectada en 24 h (mL).

*Aproximación de los resultados.* Los resultados se expresan en números enteros.





# Bibliografía

- ACGIH. (1997). American Conferences Governmental Industrial Hygienists. TLVs. Threshold limits values for chemical substances. BEIs. Biological exposure indices. Washington DC.
- Aitio, A. (1994). Biological monitoring today and tomorrow. *Scand J Work Environ Health*, 20:46-58.
- Alessio, L., Apostoli, P., Crippa, M. (1995). Influence of individual factors and personal habits in the levels of biological indicators of exposure. *Toxicol Lett*, 77(1-3):93-103.
- Alessio, L., Apostoli, P., Forni, A., Toffoletto, F. (1993). Biological monitoring of cadmium exposure- An Italian experience. *Scand J Work Environ Health*, 19 Suppl 1:27-33.
- Alessio, L., Berlin, A., Roi, R., Boni, M. (1983). Human biological monitoring of industrial chemical series. *Industrial health and safety*. Luxembourg: Commission of the European Communities.
- Almeida, W.F., Reyes, F.G.R., de Almeida, M.E. (1987). *Ecotoxicología y seguridad química*. México: ECO/OPS/OMS.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists. (2016). ACGIH®Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents. Biological Exposures Indices. ACGIH. Cincinnati.
- Amorin, L.C., Álvarez Leite, E.M. (1997). Determination of o-cresol by gas chromatography and comparison with hippuric acid levels in urine samples of individual exposed to toluene. *J Toxicol Environ Health*, 50(4):401-7.
- Araki, S. (1980). Effects of urinary volume on urinary concentrations of lead, d-aminolaevulinic acid, coproporphyrin, creatinine and total solutes. *Brit J Ind Med*, 37(1):50-4.
- Arce, R., Mazarrasa, O., Moya, B., Silva, J.V., Breñosa, A. (1982). Valores ambientales y biológicos en trabajadores expuestos a vapores de mercurio: contribución al esclarecimiento de la relación aire/orina. En: *Fundación Mapfre. Temas de Higiene Industrial. Trabajos presentados en IV Simposium de Higiene Industrial*. Madrid: Mapfre S.A., pp. 363-81.
- Arias Verdés, J.A., Rojas, D., Riera, C., Cabrera, N. (1990). Plaguicidas organoclorados. México: ECO/OPS/OMS, (Serie Vigilancia 9).
- Aw, C. (1988). Biological monitoring. What simple to take? *Occup Health*, 40(10):666-9.
- Baixaui, F., Ballester, R., Castro, A., Celma, C. y Figueroa, G. (1998). *Monografía sanitaria. Serie A No. 32. Reconocimientos médicos preventivos para trabajadores Recuperado de:/Sitio en Internet/*
- Baselt, R.C. (1980). *Biological monitoring methods for industrial chemicals*. California: Biomedical Publications.
- Beall, J.R., Ulsamer, A.G. (1984). Formaldehyde and hepatotoxicity: a review. *J Toxicol Environ Health*, 14:1-21.

- Bernard, A.M. (1995). Biokinetics and stability aspects of biomarkers: recommendations for application in population studies. *Toxicology*, 101(1-2):65-71.
- Boogaard, P.J., Van Sittert, N.J. (1995). Biological monitoring of exposure to benzene: a comparison between s. phenyl mecapturic acid, trans, trans-musoconic acid and phenol. *Occup Environ Med*, 52(9):611-20.
- Brune, D., Aitio, A., Nordberg, G., Vesterberg, O., Gerhardsson, L. (1993). Normal concentrations of chromium in serum and urine- a TRACY Project. *Scand J Environ Health*, 19 Suppl 1:39-44.
- Buchet, J.P., Lauwerys, R. (1982). Utilización de indicadores biológicos para el diagnóstico precoz de exposiciones excesivas a los agentes químicos industriales. En: Fundación Mapfre. *Temas de Higiene Industrial. Trabajos presentados en el IV Simposium de Higiene Industrial*. Madrid. Mapfre S.A., pp. 293-326
- Byjovskaya, M.S., Guinzburg, S.L., Jalizova, O.D. (1971). Métodos de determinación de sustancias nocivas en el aire. Ed. Meditzina (en ruso).
- Campbell, L., Marsh, D.M., Wilson, H.K. (1987). Towards a biological monitoring strategy for toluene. *Ann Occup Hyg*, 31(2):121-33.
- Caroli, S., Fuoco, R., Instituto Superiore di Sanita, (1991). ed. Fifth Italo-Hungarian symposium on Spectrochemistry Quality Control and assurance in Life Science. Italy, September 9-13. Abstract book, Roma.
- Clarkson, T.W., Friberg, L., Nordberg, G.F., Sager, P.R. (1988). *Biological monitoring of toxic metals*. New York: Plenum Press.
- Cooper, W.C. (1984). The health implications of increased manganese in the environment resulting from the combustion of fuel additives. A review of the literature. *J Toxicol Environ Health*, 14:23-46.
- Corey, G., Galvao, L. (1989). Plomo. México: ECO/OPS/OMS (Serie Vigilancia 8).
- Cornelius, R. (1993). Recomendations of the International Union of Pure and Applied Chemistry concerning analytical quality criteria in the biological monitoring of toxic metals. *Scand J work Environ Health*, 19 Suppl 1:14-8.
- Cramer, M.F. (1986). Carbaryl. A toxicological review and risk analysis. *Neurotoxicology*, 7(1):247-332.
- De la Jara, F. (1985). *Manual de toxicología y tratamiento de las intoxicaciones con plaguicidas* Asoc Mex Ind Plag y Fertilizantes, S.A., México, p 168-189.
- Duca, P. (1992). Statistical aspects of the estimation of reference limits. *Sci Total Environ*, 120:155-71.
- Eadsforth, C.V., Bragt, P.C., van Sittert, N.J. (1988). Human dose- excretion studies with pyrethroid insecticides cypermethrin and alphacypermethrin: relevance for biological monitoring. *Xenobiotika*, 18(5):603-14.
- ECO/OPS/OMS. (1986). *Clasificación de los plaguicidas conforme a su peligrosidad recomendada por la Organización Mundial de la salud*. México: ECO/OPS.

- (1986). Plaguicidas, salud y ambiente. Memorias de los Talleres de San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México (1982) y Xalapa, Veracruz, México (1983). Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. México: ECO/OPS.
- Elinder, C.G., Friberg, L., Kjellstrom, T., Nordberg, G. (1994). Biological monitoring of metals. Chemical Safety Monograph. Geneva: IPCS, WHO.
- EPA. (1987). Atracina: Efectos sobre la salud y el ambiente. México: ECO/OPS.
- (1987). Metilparatión: Efectos sobre la salud y el ambiente. Documento provisional, México: ECO/OPS.
- (1988). Guías para evaluar riesgos para la salud por mezclas químicas. México. ECO/OPS.
- (1988). Malatión: Efectos sobre la salud y el ambiente. Documento provisional, México: ECO/OPS.
- Evelo, C.T.A. (1991). Biological effect monitoring. Arch Toxicol, Suppl 15:268-77.
- Fernicola, NAGG. (1987). Importancia del análisis toxicológico en el área de la toxicología ambiental. En: Almeida WF, Reyes FGR, Almeida MEW. Ecotoxicología y seguridad química. México: ECO/OPS.
- Friberg, L., Elinder, C.G. (1993). Biological monitoring of toxic metals. Scand J Work Environ Health, 19 Suppl 1:7-13.
- Galvao, L.A.C., Corey, G. (1987). Manganeso. México: ECO/OPS. Serie de Vigilancia, 6.
- (1987). Mercurio. México: ECO/OPS. Serie de Vigilancia 7.
- Djuric, D. (1987). Toxicokinetics. Part I. En: Molecular-cellular aspects of occupational exposure to toxic chemicals., Geneva: WHO. OCH, 87(2).
- Ghittori, S., Maestri, L., Fiorentino, M.L., Imbriani, M. (1995). Evaluation of occupational exposure to benzene by urinalysis. Int Arch Occup Environ Health, 67(3):195-200.
- Goldstein, B.D. (1995). The concept of biological markers in the field of risk assessment. Stem Cells Dayt, 13 Suppl 1:30-2.
- Greim, H., Csanady, G., Filser, J.G., Kreuzer, P., Schwarz, L., Woll, T., Werner, S. (1995). Biomarkers as tools in human health risk assessment. Clin Chem, 41(12 Pt2):1804-8.
- Harrison, R.J. (1990) Chemicals. En: LaDou J, (ed) Occupational medicine, Chapter 26. New Jersey: Prentice Hall International. Pp. 327-58.
- (1982) Pesticides studied in man. Baltimore: William Wilkinson Co.
- Heno, S., Corey, G. (1991) Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas. México: ECO/OPS. Serie de vigilancia, 11.
- Hernberg, S., Aitio, A. (1986). Validation of biological monitoring test. En: Invited papers and contributed papers of International Symposium Biochemical and Cellular Indices of Human Toxicity in Occupational and Environmental Medicine, 19-22 may, University of Milan.
- Hoekstra, F.J., Kiefer, M., Teppe, R.A. (1996). Monitoring of exposure to benomyl in nursery workers. J Occup Environ Med, 38(8):775-81.

- Hon-Wing, L. (1992). Use of physiologically based pharmacokinetic model to establish biological exposure indexes. *Am Ind Hyg Assoc J*, 53(6):369-74.
- Huici Montagud, A., (1984). Valores límites biológicos para el control de la exposición a metales. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Notas Técnicas de Prevención. México: INSHT (NTV109).
- (1982) Tipos de indicadores biológicos en la exposición laboral a metales. En: Fundación Mapfre. Temas de higiene industrial. Trabajos presentados en IV Simposium de Higiene Industrial. Madrid: Mapfre S.A. Pp. 353-61.
- Ibarra, E.J., Pérez, M.A., Aranda, P. (1986). Determinación rápida de mercurio en orina por espectrofotometría de absorción atómica. *Rev Cub Hig Epid*, 24(4):493.
- Ibarra, E.J. (2007). Ambiente químico y salud en el trabajo. La Habana:Ecimed.
- Ikedá, M. (1995). Application of biological monitoring to the diagnosis of poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol*, 33(6):617-23.
- (1995). Exposure to complex mixtures: implications for biological monitoring. *Toxicol Lett*, 77(1-3):85-91.
- Inhem. (1971). Normas de Laboratorio de Higiene del Trabajo.
- (1971). Normas del Laboratorio de Medicina del Trabajo. Ministerio de Salud Pública, La Habana.
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo. (1984). Norma de Seguridad e Higiene del Trabajo. SHT HA -2105-1984. Método de análisis: Determinación de plomo en orina por espectrofotometría de absorción atómica. Madrid. España.
- International Labour Organization (ILO). (2005) "Facts on Safety at Work".
- IPCS. (1981). Arsenic. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 18.
- (1981). Manganese. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 17.
- (1982). Selected Petroleum Products. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 20.
- (1983). Styrene. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 26.
- (1984). Paraquat and Diquat. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 39.
- (1985). Toluene. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 52.
- (1986). Ammonia. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 54.
- (1986). Organophosphorus insecticides: a general introduction. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 63.
- (1988). Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea, and propylenethiourea: A general introduction. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 78.
- (1989). Allethrins-allethrin, d-allethrin, bioallethrin, S-bioallethrin. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 87.
- (1990). Tributyltin Compounds. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 116.

- (1991). Inorganic mercury. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 118.
- (1992). Quality management for chemical safety testing. Geneva: WHO. Environmental Health Criteria, 141.
- (1992). Fenitrothion. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 133.
- (1993). Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. Geneva: WHO. Environmental Health Criteria, 155.
- (1994). Glyphosate. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 159.
- (1996). Methylene chloride. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 164.
- (1997). Aluminium. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 194.
- (1998). Diazinon. Geneva: UNEP, ILO, WHO. Environmental Health Criteria, 198.
- IRPTC. (1982). Mercury. Moscow: UNEP, Centre for International Projects, GKNT. Scientific Reviews of Soviet Literature on Toxicity and Hazards of Chemicals, 11.
- (1984). Vanadium. Moscow: UNEP, Centre for International Projects, GKNT. Scientific Reviews of Soviet Literature on Toxicity and Hazards of Chemicals, 67.
- (1984). Nickel and its compounds. Moscow: UNEP, Centre for International Projects, GKNT. Scientific Reviews of Soviet Literature on Toxicity and Hazards of Chemicals, 58.
- (1984). Phenol. Moscow: UNEP, Centre for International Projects, GKNT. Scientific Reviews of Soviet Literature on Toxicity and Hazards of Chemicals, 61.
- (1984). Toluenes, halogenated. Moscow: UNEP, Centre for International Projects, GKNT. Scientific Reviews of Soviet Literature on Toxicity and Hazards of Chemicals, 62.
- (1986). Acetone. Moscow: UNEP, Centre for International Projects, GKNT. Scientific Reviews of Soviet Literature on Toxicity and Hazards of Chemicals, 97.
- Ismirova, N., Benchev, I., Paulova, S., Gueorgineva, D. (1970). Evaluación comparativa de 2 métodos de determinación de fenol en orina.
- Jensen, B., Murer, A.J., Olsen, E., Christensen, J.M. (1995). Assessment of long term styrene exposure: a comparative study of a logbook method and biological monitoring. *Int Arch Occup Environ Health*, 66(6):399-405.
- Jongeneelen, F.J. (1992). Biological exposure limit for occupational exposure to coal tar pitch volatiles cokeovens. *Int. Arch Occup Environ Health*, 63(8):511-16.
- Kagan, Y.S. (1981). Toxicología general de plaguicidas. Kiev: Zdorovia.
- Kawamoto, T., Kodama, Y., Kohno, K. (1995). Interlaboratory quality control and status of n-hexane biological monitoring in Japan. *Arch Environ Contam Toxicol*. 28:529-36.
- LaDou, J. (1990). Occupational Medicine. New Jersey: Prentice Hall International.
- (2007). Diagnóstico y Tratamiento en Medicina Laboral y Ambiental. 4th edition.
- Langdworth, S., Elinder, C.G., Gothe, C.J., Vesterberg, O. (1991). Biologic monitoring of environmental and occupational exposure to mercury. *Int Arch Occup Environ Health*, 63(3):161-7.
- Lauwerys, R.R. (1994). Toxicología Industrial e intoxicaciones Profesionales, Barcelona: Masson S.A.

- (2001). *Industrial Chemical Exposure: Guidelines for Biological Monitoring*. CCR Press. ISBN13 10 1566705452.
- Lauwerys, R. de Bruin, A. (1974). *Lectures of the International Course in Industrial Toxicology*, Helsinki.
- Lehnert, G., Schaller, K.H. (1995). Strategy of biological monitoring and setting of biological threshold limits (BAT values) in Germany. *Isr J Med Sci*, 31(9):549-57.
- Leng, G., Kuhn, K.H., Idel, H. (1996). Biological monitoring of pyrethroid metabolites in urine of pest control operators. *Toxicol Lett*, 88(1-3):215-20.
- Lewis, R. (1990). Metals. En: LaDou J, ed. *Occupational Medicine*, Chapter 25, New Jersey: Prentice Hall International, pp. 298-326.
- Linch, A.L. (1987). *Biological Monitoring for Industrial Chemical Exposure Control*. Florida: CRC press Inc.
- Lu, C., Anderson, L.C., Fenske, R.A. (1997). Determination of atrazine levels in whole saliva and plasma in rats: potential of salivary monitoring for occupational exposure. *J Toxicol Environ Health*, 50(2):101-11.
- Marcuello Benedicto, D. (1982). Utilización de valores Límites Biológicos (BLVs) en Higiene Industrial. En: *Temas de Higiene Industrial*. Fundación Mapfre, Madrid: Mapfre S.A., pp. 327-52.
- Mc Neely, M.D., Nechay, M.W., Sunderman, F.W. (1972). Measurements of nickel in serum and urine as indices of environmental exposure to nickel. *Clin Chem*, 18(9):992-5.
- Minsap. (2012). *Buenas Prácticas de Laboratorio*. No. 26.
- Mejora continua de la calidad. (1995). *Guía para los laboratorios clínicos de América Latina*. Editorial Médica Panamericana, S.A. de CV.
- Navidi, W., Lurmann, F. (1995). Measurement error in air pollution exposure assessment. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 5(2):111-24.
- NC-ISO 9001. (2015) *Sistemas de gestión de la calidad-Requisitos*.
- NC-ISO 15189. (2008) *Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia*.
- NC-ISO/IEC 17025: (2017). "Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayos y calibración".
- Neuman, H.G., Albrecht, O., van Dorp, C., Zwiener-Baier, I. (1995). Macromolecular adducts cause by environmental chemicals. *Clin Chem*, 41 (12 Pt2):1835-40.
- Nigg, H.N., Wade, S.E. (1992). Saliva as a monitoring médium for chemicals. *Rev Environ Cotam Toxicol*, 129:95-119.
- Nilsson, U., Skerfving, S. (1993). In vivo S Ray fluorescence measurements of cadmium and lead. *Scand J work Environ Health*, 19 Suppl 1:54-8.
- NIOSH. (1977). *Manual NIOSH de métodos analíticos*, 2da ed, Vol 1, Cincinnati, USA.
- (1977). *Occupational Exposure to inorganic Nickel. Criteria for a recommended standard*. Cincinnati: Department of Health, Education and Welfare, (DHEW. NIOSH Publication No. 77-164).

- (1978). Occupational Exposure to Ketone. Criteria for a recommended standard. Cincinnati: Department of Health, Education and Welfare, (DHEW. NIOSH Publication No. 78-173).
- (1979). Occupational Exposure to Ammonia. Criteria for a recommended standard. Cincinnati: Department of Health, Education and Welfare, (DHEW. NIOSH Publication No. 74-136).
- (1979). Occupational Exposure to Hydrogen Sulfide. Criteria for a recommended standard. Cincinnati: Department of Health, Education and Welfare, (DHEW. NIOSH Publication No. 77-158).
- (1983). Occupational Exposure to Styrene. Criteria for a recommended standard. Cincinnati: Department of Health, Education and Welfare, (DHHS. NIOSH Publication No. 83-119).
- Nordberg, G.F., Herber, R.F.M., Alessio, L. (1982). Cadmium in the human environment: toxicity and carcinogenicity. Lyon: IARC, (IARC Scientific Publications No. 118).
- OIT. (2005). Facts on Safety at Work.
- OMS. (1975). Evaluación por métodos químicos y bioquímicos de los peligros de los plaguicidas para el hombre. Ginebra, (Serie de informes Técnicos 560).
- (1980). Límites de exposición profesional a los metales pesados que se recomiendan por razones de salud. Ginebra, OMS, (Serie de informes Técnicos 647).
- (1982). Límites recomendados por razones de salud en la exposición profesional a determinados solventes orgánicos. Ginebra, OMS, (Serie de informes Técnicos 664).
- OPS/OMS. (1978). Criterios de Salud Ambiental 1. Mercurio. Washington DC: OMS, (Publicación Científica de la OPS No. 362).
- (1982). Disulfuro de carbono. Washington DC: OMS, (Criterios de Salud Ambiental 10).
- (1983). Criterios de Salud Ambiental 13. Monóxido de Carbono. Washington DC: OMS, (Publicación Científica de la OPS No. 455).
- Pan, S.K., Imura, N., Yamamura, Y., Yoshida, M., Suzuki, T. (1980). Urinary methylmercury excretion in persons exposed to elemental mercury vapour. *Tohoku J Exp Med*, 130(1):91-5.
- Parson, P.J. (1992). Monitoring human exposure to lead: An assessment of current laboratory performance for the determination of blood lead. *Environ Res*, 57(2):99-162.
- Pascual, M.C., Torres, Y.W. (1989). Control de la calidad en bioquímica clínica. La Habana: Editorial Ciencias Médicas.
- Pavarello, S., Clonfero, E. (1994). Dosimetry of DNA and protein adducts in occupational health. *Med Lav*, 85(5):363-9.
- Pereira Bastos, M.E., Fernicola, NAGG. (1991). Detección biológica de la exposición humana a agentes químicos. México: ECO/OPS/OMS.
- Pérez de la Ossa R. (1983). El papel de la ZPP en la detección y diagnóstico del saturnismo. Madrid: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene del Trabajo, (Documentos Técnicos 1983/4).
- Pierre, F., Baruthio, F., Diebold, F., Biette, P. (1995). Effect of different exposure compounds on urinary kinetics of aluminium and fluoride in industrially exposed workers. *Occup Environ Med*, 52(6):396-403.

- Pirkle, J.L., Sampson, E.J., Needham, L.L., Patterson, D.G., Ashley, D.L. (1995). Using biological monitoring to assess human exposure to priority toxicants. *Environ Health Perspect*, 103 Suppl 3:45-8.
- Plestina, R. (1984). Prevention, diagnosis and treatment of insecticide poisoning: WHO, (WHO/VBC/84.889).
- Plunkett, E.R. (1978). *Manual de Toxicología Industrial, Enciclopedia de la Química Industrial, Tomo 12*. Bilbao: URMO.
- Popov, T., Zaprianov, Z., Benchev, I., Georgiev, G. (1984). *Atlas po toxicokinetica*. Sofia: Fizcultura.
- Quer S-Brossa. (1983). *Toxicología Industrial*. Barcelona: Salvat.
- Ramsay, W. (1952). The determination of total iron binding capacity of serum, *Clin Chim Acta*, 2: 221-226.
- Rappaport, S.M., Symanski, E., Yager, J.W., Kupper, L.L. (1995). The relationship between environmental monitoring and biological markers in exposure assessment. *Environ Health Perspect*, 103 Suppl 3:49-53.
- Rappaport, S.M. (1995). Biological monitoring and standard setting in the USA: a critical appraisal. *Toxicol Lett*, 77(1-3):171-82.
- Rempel, D.M., Rosemberg, J., Harrison, R.J. (1990). Biological monitoring. In: LaDou J, ed. *Occupational Medicine, Chapter 34*. New Jersey: Prentice Hall International, 5:459-66.
- Repetto, M. y Repetto, G. (2009). *Toxicología Fundamental*. 4ta. Ed., Barcelona.
- Repetto, M. (1988). *Toxicología Fundamental*, Barcelona:Ed. Científico-Médica.
- Roberts, D.V. (1980). Blood cholinesterase monitoring of workers exposed to organophosphorus pesticide: theory and practice. In: Tordoir WF, van Heemstra-Lequin EAH, eds. *Field worker exposure during pesticide application*. New York: Elsevier Scientific Pub Co: 173-6 (Studies in Environmental Science 7).
- Rodríguez de Romo, A.C. (2007). Historia y Filosofía de la Medicina. *Anales Médicos*, 52(2):90-96.
- Rodríguez Milord, D. (1991). Níquel. México: ECO/OPS/OMS. (Serie de Vigilancia 10).
- Roels, H., Abdeladim, S., Ceulemans, E., Lauwerys, R. (1987). Relationships between the concentration of mercury in air and in blood or urine in workers exposed to mercury vapour. *Ann Occup Hyg*, 31(2):135-45.
- Rojas, D., Fuertes, G., Castellanos, J.A. (1984). Tiempo de regeneración de la actividad colinesterasica en trabajadores expuestos a plaguicidas. *Rev Cubana Invest Biom*, 3:286-93.
- Rosemberg, J. (1990). Pesticides. In: LaDou J, (ed.). *Occupational Medicine Chapter 30*. New Jersey: prentice Hall International. Pp. 401-31.
- Rosemberg, J. Solvents. (1990). In: LaDou J, ed. *Occupational Medicine. Chapter 27*. New Jersey: prentice Hall International. Pp. 359-86.
- Rosival, L., Bátora, V. (1980). Consequences for field exposure of impurities in pesticide formulations. In: Tordoir WF, van Heemstra-Lequin EAH, eds. *Field worker exposure during pesticide application*. New York: Elsevier Scientific Pub Co.:163-8 (studies in Environmental Science 7).



- Satoh, T., Omae, K., Takebayashi, T., Nakashima, H., Higashi, T., Sakurai, H. (1995). Acetone excretion into urine of workers exposed to acetone in acetate fiber plants. *Int Arch Occup Environ Health*, 67(2):131-4.
- Shamy, M.Y., El-Gazzar, R.M., Taleb, A.N., Christie, N.T., El-Said, K.F. (1995). Somatic cell mutation in works occupationally exposed to mercury vapors. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 14(3-4):165-71.
- Skerfving, S., Nilsson, U., Schutz, A., Gerhardsson, L. (1993). Biological monitoring of inorganic lead. *Scand J Work Environ Health*, 19 Suppl 1:59-64.
- Stacey, N.H. (1993). *Occupational Toxicology*. London: Taylor and Francis Ltd.
- Stranks, J. (1995). *Occupational Health and Hygiene*. London: Pitman Publishing.
- Sunderman, F.W. Jr. (1993). Biological monitoring of nickel in humans. *Scand J Work Environ Health*, 19 Suppl 1:34-8.
- Thomas, J., Anglov, B., Christensen, J.M. (1992). Comparative study of certified reference materials and quality control materials for the quality assurance of blood lead determination. *Analyst*, 117:419-24.
- Thomas, J.D., Mckenzie, D.H., Eberhardt, L.L. (1981). Some limitations of biological monitoring. *Environ Intern*, 5:3-10.
- Tomokuni, R. (1974). New method of aminolaevulinic dehydratase activity of human erythrocytes as an index of lead exposure. *Clin Chem*, 10:1281-1291.
- Torres Huertas, J., Viviente López, E. (1986). Concepto de normalidad biológica. Valores de referencia y niveles de decisión. *Medicina y Seguridad del Trabajo. Materias Básicas*, XIII(130):3-13.
- Tuomainen, A., Kangas, J., Liesivouri, J., Manninen, A. (1996). Biological monitoring of delta-methrin exposure in greenhouses. *Int Arch Occup Environ Health*, 69(1):62-4.
- Uthus, E.O., Nielson, F.H. (1993). Determination of the possible requirements and reference dose levels for arsenic in human. *Scand J Work Environ Health*, 19 Suppl 1:137-8.
- Valentin, H., Schiele, R. (1980). *Human Biological Monitoring of Industrial Chemicals. 2. Manganese*. Industrial Health and Safety. Belgium: Commission of the European Communities.
- Vural, N., Duydu, Y. (1995). Biological monitoring of lead in workers exposed to tetraethyl lead. *Sci Total Environ*, 171(1-3):183-7.
- Wei, E. (1975). *Elements de Toxicologie Industrielle*. Paris: Ed. Masson.
- Whang, S., Zheng, Q., Yu, L., Xu, B., Li, Y. (1988). Health survey among farmers exposed to deltamethrin in the cotton fields. *Ecotoxicology Environ Safety*, 15(1):1-6.
- WHO. (1977). *Oxides of nitrogen*. Geneva: WHO. (Environmental Health Criteria 4).
- (1980). *Tin and Organic Compounds. A preliminary review*. Geneva: WHO. Environmental Health Criteria, 15.
- (1996). *Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace, Occupational Health for All, Vol 2*. Geneva: WHO.

----- (1996). Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace, Occupational Health for All, Vol 1. Geneva: WHO.

Wilhelm, M., Muller, F., Idel, H. (1996). Biological monitoring of mercury vapors exposure by scalp hair analysis in comparison to blood and urine. Toxicol Lett, 88(1-3):221-6. Recuperado de: [www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---dgreports/---dcomm/documents/publication/wcms\\_067574.pdf](http://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---dgreports/---dcomm/documents/publication/wcms_067574.pdf), revisado el 12 de marzo de 2019

Zhang, Z.W., Sun, J.X., Chen, S.Y., Wu, Y.Q., He, F.S. (1991). Levels of exposure and biological monitoring of pyrethroids in spraymen. Br J Ind Med, 48(2):82-6.

Zielhuis, R.L. (1985). Biological Exposure Limits: the fetus and EEC politics. Brit J Ind Med, 42(3):145-6.



Heliodora Díaz Padrón

# TOXICOLOGÍA OCUPACIONAL

El estudio de la toxicología adquiere nueva dimensión en el campo de la salud ocupacional debido a que la población humana, a la que van destinadas las acciones de salud, se encuentra en estrecha relación con sustancias tóxicas en el ambiente laboral que se desempeña, por lo cual constituye un grupo de alto riesgo en cuanto a intoxicaciones se refiere.

El objetivo fundamental de la Toxicología Ocupacional es la prevención, e involucra todo lo concerniente a la vigilancia epidemiológica de los trabajadores expuestos a sustancias tóxicas durante años, además, tiene el propósito de ejercer acciones preventivas en el ámbito de la higiene industrial y médicas que disminuyan el potencial de daño a la salud de los trabajadores.

Este texto, dirigido al personal técnico y profesional de la Red de Higiene y Epidemiología, facilita las herramientas adecuadas y crea las bases esenciales para sustentar el desarrollo de la especialidad de Salud de los Trabajadores, en relación con el monitoreo biológico que se requiere como complemento del Sistema de Vigilancia en la exposición de sustancias nocivas del ambiente laboral.

Su autora principal, Heliodora Díaz Padrón, es autora de numerosos artículos de investigaciones y estudios relacionados con la toxicología e higiene del trabajo. Además, ha impartido y recibido cursos nacionales e internacionales y ha participado en importantes eventos relacionados con la especialidad.



[www.ecimed.sld.cu](http://www.ecimed.sld.cu)

ISBN 978-959-313-750-8

