



Universidad Autónoma de San Luis Potosí

**Facultades de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina**

Programas Multidisciplinarios de Posgrado  
en Ciencias Ambientales

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS EN SALUD POR LA  
EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN NIÑOS DE  
SAN LUIS POTOSÍ.**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA:

**Q.F.B. NORMA EDITH RIVERO PÉREZ**

**DIRECTORA DE TESIS:**

**DRA. LETICIA YÁÑEZ ESTRADA**

**COMITÉ TUTELAR:**

**DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ**

**DR. IVÁN NELINHO PEREZ MALDONADO**



Universidad Autónoma de San Luis Potosí

---

---

Facultades de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina

Programas Multidisciplinarios de Posgrado

en Ciencias Ambientales

**EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS EN SALUD POR LA  
EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN NIÑOS DE  
SAN LUIS POTOSÍ.**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA:

**Q.F.B. NORMA EDITH RIVERO PÉREZ**

DIRECTORA DE TESIS

**Dra. Leticia Yáñez Estrada**

**SINODALES**

DRA. LETICIA YÁÑEZ ESTRADA

\_\_\_\_\_

DR. IVÁN NELINHO PÉREZ MALDONADO

\_\_\_\_\_

DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ

\_\_\_\_\_

DR. ISRAEL RAZO SOTO

\_\_\_\_\_

DRA. VERÓNICA MIREYA RODRÍGUEZ CÓRDOVA

\_\_\_\_\_



**PROYECTO FUE REALIZADO EN  
EL LABORATORIO DE GÉNERO, SALUD Y AMBIENTE DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA  
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

CON FINANCIAMIENTO DE:

EL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACyT)  
BECA-TESIS (**CONVENIO 190642.**)

POR LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y SUS EFECTOS EN SALUD EN NIÑOS QUE VIVEN EN LA ZONA AGRÍCOLA DE CIUDAD FERNÁNDEZ, SAN LUIS POTOSÍ. **CO 06-FAI-03-3.6.**

ESTANDARIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICAR ALQUILFOSFATOS EN ORINA. **CO 09-FAI-03-17.17.**

**POR LA COMISIÓN DE COOPERACIÓN AMBIENTAL (CCA).**

INTERLABORATORY VALIDATION OF THE CAPACITY TO MEASURE LINDANE AND OTHER ISOMERS IN BLOOD SERUM AND BOVINE MILK.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA /CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA

**EL DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO A TRAVÉS DEL  
PROGRAMA DE FORTALECIMIENTO AL POSGRADO NACIONAL  
(PIFOP-SEP).**



## DEDICATORIA

*Antonio Trejo, gracias por el amor, comprensión así como el apoyo moral y profesional que siempre he recibido de ti, con el cual he logrado culminar una de mis metas. Te amo!.*

*A mis hijo Antonio y Edith sabiendo que jamás encontraré la forma de agradecer su amor y comprensión, sólo espero que comprendan que mis ideales, esfuerzos y logros han sido también suyos e inspirados en ustedes. Los amo!*

*A los padres de familia y en especial a todos los niños de la Comunidad de El Refugio, Cd. Fernández SLP., que aceptaron participar en este estudio ya que sin ellos no hubiera sido posible la realización de este proyecto*



## AGRADECIMIENTOS:

A la **Dra. Leticia Yáñez Estrada**, directora de este trabajo, por darme la oportunidad y confianza de trabajar con ella y por el aporte de sus conocimientos y su amistad, *muchas gracias*.

Al **Dr. Fernando Díaz-Barriga** por compartir sus conocimientos y por haberme brindado la oportunidad de trabajar a su lado.

Al **Dr. Iván Nelinho Pérez Maldonado** por sus comentarios y por compartir sus conocimientos y experiencias durante mis estudios.

A los profesores, **Dra. Jaqueline Calderón** y **Dr. Jesús Mejía** por transmitirme sus conocimientos académicos.

Al **Dr. Mario H. Rodríguez** y al **Dr. Américo D. Rodríguez** por tener la confianza y brindarme el apoyo para poder concluir mis estudios.

A la **QFB. Leticia Carrizales Yáñez**, por compartir sus conocimientos y experiencias en el análisis de metales.

A los **Npsic. Antonio Bravo Oro** y **Npsic. Verónica M. Campos G.** Servicio de Nueropediatría del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto", por su valioso apoyo en la realización de la exploración clínica de los niños.

A los **Psic. David Trejo, Cynthia Mota** y **Andrea Díaz-Barriga Yáñez**. Por su apoyo y dedicación en la aplicación de las baterías neuroconductuales.

**Npsic. David Hernández Bonilla** Por su asesoría en la calificación e interpretación de las pruebas neuropsicológicas y por brindarme su amistad.

A la **M en C. Astrid Schilman**. Por su valiosa ayuda en el análisis estadístico y por su amistad.

**Npsic. María Elena Navarro**. Por su valiosa ayuda en la capacitación y entrenamiento para la aplicación de las pruebas neuropsicológicas.

A mis compañeros **Diana, Rogelio Costilla, Mónica, Rocío, Rebeca Mejía** y **Cesar** por su invaluable e incondicional apoyo en los muestreos.

A todos mis compañeros del **Laboratorio de Toxicología Ambiental**, por la amistad que siempre me brindaron: Donají, Cesar, Memo, Gaby Cilia, Diana, Rogelio C., Gaby D., Edna, Rebeca Mejía., Ma. Elena, Lilia B, Tere, Chío, Raúl, Don Ángel, Claudia, Lulú, Paty C, Jorge A., Jorge.

Al Personal del Centro de Salud, A los Directores de las Escuelas Primarias y Autoridades Municipales de El Refugio, Cd. Fernández.



<b>INDICE GENERAL</b>	
<b>Resumen</b>	<b>1</b>
<b>I INTRODUCCIÓN</b>	<b>4</b>
<b>II ANTECEDENTES</b>	<b>7</b>
2.1 Esquema general de los Plaguicidas	14
2.2 Plaguicidas Organoclorados	18
2.2.1 DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano)	18
2.2.2 Lindando (γ Heclorociclohexano)	20
2.3 Plaguicidas Organofosforados (OFs)	21
2.4 Bifenilos Policlorados (BPCs)	25
2.5 Plomo (Pb)	27
2.6 Efecto Neurotóxico por Contaminantes Ambientales	29
<b>III JUSTIFICACIÓN</b>	<b>34</b>
<b>IV OBJETIVOS</b>	<b>36</b>
4.1 Objetivos Específicos	36
<b>V METODOLOGÍA</b>	<b>37</b>
5.1 Área de Estudio	37
5.2 Selección de la Población de Estudio	38
5.3 Toma de muestra Biológica	38
5.4 Validación del Método Instrumental	39
5.5 Metodología analítica para la cuantificación de los compuestos Organoclorados (OCs).	40
5.6 Metodología analítica para la cuantificación de metabolitos de Organofosforados (OFs) Alquilfosfatos (AF).	42
5.7 Cuantificación de Plomo en Sangre (PbS).	44
5.8 Cuantificación de Lípidos Totales por un Método Colorimétrico	44
5.9 Examen Físico-Clínico	45
5.10 Evaluación Neuropsicológica	45
5.10.1 Escala Wechsler de Inteligencia para Niños WISC-IV.	46
5.10.2 Figura Compleja de Rey - Osterrieth (FCRO).	47
5.10.3 Tablero de clavijas y ranuras (Grooved Pegboard).	47
5.11 Análisis Estadístico	48



<b>VI</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>50</b>
6.1	Validación y estandarización del método	50
6.2	Características Sociodemográficas de la población de estudio	53
6.3	Exploración Física	54
6.4	Biomarcadores de exposición	57
6.5	Resultados de los biomarcadores por zonas de estudio.	60
6.6	Evaluación Neuropsicológica	63
6.6.1	Evaluación de la función cognitiva mediante la aplicación de la prueba WISC-IV.	63
6.6.2	Evaluación de la organización visuoespacial mediante la prueba de Figura Compleja de Rey Osterrieth (FCRO).	67
6.6.3	Evaluación de la destreza manipulativa mediante la prueba de Clavijas y Ranuras (Grooved Pegboard).	70
6.7	Asociación entre los biomarcadores de exposición y la función cognitiva.	73
<b>VII</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>80</b>
7.1	Asociación entre los biomarcadores de exposición y la función cognitiva.	88
<b>VIII</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>98</b>
<b>IX</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>100</b>
<b>X</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>123</b>

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1</b>	Incidencia de Intoxicación por plaguicidas por grupos de edad en la República Mexicana y en el estado de San Luis Potosí (S.L.P.).	<b>11</b>
<b>Tabla 2</b>	Clasificación de los plaguicidas	<b>14</b>
<b>Tabla 3</b>	Características Sociodemográficas de la población en estudio	<b>55</b>
<b>Tabla 4</b>	Resultados obtenidos en la exploración Físico-clínica neurológica	<b>56</b>
<b>Tabla 5</b>	Concentración plasmática de los diferentes analitos de la población de estudio de El Refugio, SLP.	<b>58</b>
<b>Tabla 6</b>	Coficiente Intelectual Total de los niños de El Refugio, Ciudad Fernández; SLP.	<b>63</b>
<b>Tabla 7</b>	Resultado de las puntuaciones obtenidas en cada uno de las subpruebas que componen a cada índice del WISC-IV aplicado a la población infantil de la comunidad de El Refugio, SLP.	<b>65</b>
<b>Tabla 8</b>	Comparación del puntaje obtenido en la Figura Compleja de Rey entre el grupo normativo y el de los niños expuestos a plaguicidas de la Comunidad de El Refugio	<b>67</b>
<b>Tabla 9</b>	Puntajes obtenidos en la Figura Compleja de Rey-Osterrieth (versión copia y memoria) de cada una de las zonas de estudio de El Refugio, Cd. Fernández, SLP.	<b>68</b>
<b>Tabla 10</b>	Resultados obtenidos en el Tablero de Clavijas y Ranuras (Grooved Pegboard) por grupo de edad y sexo	<b>71</b>
<b>Tabla 11</b>	Correlación entre los resultados de las pruebas neurocognitivas y los factores Sociodemográficos y variables del niño	<b>74</b>
<b>Tabla 12</b>	Asociación entre los biomarcadores de exposición y la función cognitiva de los niños. Modelos de regresión lineal mixtos (sin ajustar)	<b>76</b>
<b>Tabla 13</b>	Asociación entre los biomarcadores de exposición y la función cognitiva de niños de El Refugio, Cd. Fernández, SLP. Modelos de regresión lineal mixtos (ajustados).	<b>77</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Estructura molecular de algunos plaguicidas organoclorados	<b>15</b>
<b>Figura 2</b>	Estructura química general de los plaguicidas organofosforados	<b>21</b>
<b>Figura 3</b>	Estructura química básica de los PCB. Los números 2-6 y 2'-6' representan posibles posiciones del átomo de cloro dentro de cada anillo bencénico	<b>25</b>
<b>Figura 4</b>	Localidad de El Refugio situada en la zona Agrícola de Ciudad Fernández, San Luis Potosí, México. Zona I centro (rojo): las viviendas como las escuelas están lejos de los campos agrícolas, Zona II parte media (verde): las viviendas y las escuelas se encuentra a medio kilómetro de los campos agrícolas y zona III periferia (amarillo): muy cerca de los campos de cultivo	<b>37</b>
<b>Figura 5</b>	Esquema del método de extracción para la cuantificación de Compuestos Organoclorados en plasma. Estándar interno Endrin C <sup>13</sup> (25 ng/mL) y PCB 141C <sup>13</sup> (25 ng/mL).	<b>41</b>
<b>Figura 6</b>	Esquema del método de extracción para la cuantificación de los metabolitos alquilfosfatos (AF) en orina. Estándar interno DETPd <sup>10</sup> (25 ng/mL).	<b>43</b>
<b>Figura 7</b>	<b>a)</b> Cromatograma obtenido de una mezcla de Compuestos Organoclorados (14 POC y 14 BPCs) en hexano a una concentración de 1 ppm. <b>b)</b> Cromatograma obtenido de una muestra de plasma fortificada con Compuestos Organoclorados (14 POC y 14 BPCs) a una concentración de 1 ppm. <b>c)</b> Cromatograma de una muestra problema de uno de los niños participantes en el estudio. Estándar Interno EndrinC <sup>13</sup> y PCB141C <sup>13</sup> .	<b>51</b>
<b>Figura 8</b>	<b>a)</b> Cromatogramas obtenidos de una muestra de orina fortificada con la mezcla de alquilfosfatos a una concentración de 50 ng/mL. DEP= Dietilfosfato, DMDTP= Dimetilditiofosfato, DETP= Dietiltiofosfato, DEDTP= Dietilditiofosfato. Estándar interno DETPd <sup>10</sup> . (25 ng/mL). <b>b)</b> Muestra de orina problema de uno de los niños participantes en el estudio. DETPd <sup>10</sup> . <b>b)</b> Muestra de orina problema de uno de los niños participantes en el estudio.	<b>52</b>
<b>Figura 9</b>	Concentraciones promedio de los compuestos organoclorados detectados en plasma de la población en estudio. <b>n= 140</b> . Lindano (MG= 1.69 ± 1.57 µg/gLip.), <i>p p</i> DDE (MG= 1.1 ± 1.69 µg/gLip.), <i>p p</i> DDT (MG= 0,37 ± 0.072 µg/gLip); PCB28 (MG= 0.08 ± 0.12 µg/gLip.); PCB118 (MG= 0.18 ± 0.03 µg/gLip.); PCB153 (MG= 0.37 ± 0.25 µg/gLip).	<b>57</b>
<b>Figura 10</b>	Niveles urinarios de los metabolitos alquilfosfatos en los niños de la comunidad de El Refugio, Cd. Fernandez; SLP. <b>n=140</b> . DEP: dietilfosfato (MG= 1.9 ± 0.99 ng/mL); DEDTP: dietilditiofosfato (MG= 2.2± 0.74 ng/mL); DMDTP: dimetilditiofosfato (MG= 3.97± 4.8 ng/mL).	<b>59</b>



- Figura 11** Biomarcadores de exposición a contaminantes ambientales. En la figura sólo se muestran aquellos compuestos que se detectaron en más del 50% de las muestras con valores por arriba del límite de detección (LOD) a) Lindano, b) p p'DDE, c) BPC153, valores expresados en  $\mu\text{g/gLip}$ ; d) DEP (Dietilfosfato); e) DMDTP (Dimetilditofosfato); f) DEDTP (Dietilditofosfato,  $\text{ng/mL}$ ). En cada gráfico de caja el valor de la mediana está indicado por la línea horizontal en el centro, el percentil 25 y 75 están indicados por debajo y por arriba de las líneas horizontales respectivamente. La línea vertical representa el percentil 5 y 95°. Valores outlier (niños con niveles entre 1-5 -3 intervalos intercuartiles \*Valores extremos (niños con niveles mayores a 3 intervalos intercuartiles). **61**
- Figura 12** Niveles de plomo en sangre de los niños seleccionados para el estudio divididos por zona de estudio.  $n=140$ . Zona 1 ( $\text{MG}= 7.2 \pm 2.2 \mu\text{g/dL}$ ); Zona 2 ( $\text{MG}= 4.8 \pm 2.1 \mu\text{g/dL}$ ); Zona 3 ( $\text{MG}= 7.0 \pm 2.6 \mu\text{g/dL}$ ) **62**
- Figura 13** Comparación entre sexo de los resultados obtenidos en la prueba del WISC-IV en la población infantil de El Refugio, Cd. Fernández; SLP.  $n=140$ . CIT= Coeficiente intelectual total; ICV=Índice de comprensión verbal; IRP= Índice de razonamiento perceptual; IMT= índice de memoria de trabajo; IVP= Índice de velocidad de procesamiento. Valor esperado 90-110 pts.  $n=140$ . **66**
- Figura 14** Curvas de distribución normal de los resultados obtenidos en la prueba de la Figura Compleja de Rey Osterrieth (FCRO) versión copia y memoria aplicada a la población infantil de El Refugio, Cd. Fernández, SLP. A) Ejecución a la copia, B) Ejecución a la memoria. Las líneas verticales rojas delimitan los límites de las desviaciones estándar esperadas con respecto al promedio (+1 y -1 DE). **69**
- Figura 15** Curvas de distribución normal de los resultados obtenidos en el tablero de clavijas y ranuras aplicada a la población infantil de la comunidad de El Refugio, Cd. Fernández, SLP. A) mano dominante B) mano no dominante. Las líneas verticales rojas delimitan los límites de las desviaciones estándar esperadas con respecto a una población de referencia (+2 y -2 DE). **72**
- Figura 16** Regresión lowess entre las concentraciones de plomo en sangre y el índice de comprensión verbal (ICV) ajustado por edad, género y escolaridad de la madre. La línea negra representa el ajuste lineal. Las líneas rojas el valor esperado para este índice (90-110 pts). **79**
- Figura 17** Regresión lowess entre las concentraciones de plomo en sangre y índice de razonamiento perceptual (IRP) ajustado por edad, género y escolaridad de la madre. La línea negra representa el ajuste lineal. Las líneas rojas el valor esperado para este índice (90-110 pts). **79**



## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo I</b>	Cuestionario Socioeconómico aplicado a la población en estudio.	<b>124</b>
<b>Anexo II</b>	Procedimiento desarrollado para la validación y estandarización del método para la cuantificación de compuestos organoclorados en plasma.	<b>135</b>
<b>Anexo III</b>	Procedimiento desarrollado para la validación del método analítico para la cuantificación de los metabolitos de los plaguicidas organofosforados, Alquilfosfatos	<b>164</b>
<b>Anexo IV</b>	Pruebas Neuropsicológicas aplicadas	<b>172</b>
	4.1 Escala Wechsler de Inteligencia para Niños (WISC-IV)	<b>173</b>
	4.2 Figura Compleja de Rey Osterrieth	<b>175</b>
	4.3 Tablero de Clavijas y Ranuras (Grooved Pegboard)	<b>178</b>
<b>Anexo V</b>	Cálculo del valor Z	<b>180</b>



## Resumen

En comunidades agrícolas, el riesgo a la salud por la exposición a plaguicidas es mayor comparada con la población en general, debido a que existen diferentes rutas de exposición (alimento, agua, polvo, suelo), por la proximidad de sus hogares a los campos donde se aplican plaguicidas, por los usos y costumbres relacionados con el lavado en casa de la ropa de trabajo contaminada con plaguicida, por el almacenamiento de agroquímicos en el hogar en recipientes no identificados, lo que trae como consecuencia un mayor riesgo de exposición. Existe preocupación por esclarecer en niños los efectos de la exposición a sustancias neurotóxicas, que afectan el desarrollo neurobiológico, riesgo reconocido para algunos contaminantes ambientales y potenciales para otras sustancias, sobre todo en exposiciones crónicas a bajas dosis, que pueden causar efectos no evidentes en el examen clínico de rutina.

La mayoría de los estudios epidemiológicos se han centrado en evaluar el daño sobre el neurodesarrollo de los niños por la exposición a sustancias químicas de manera individual, en etapas tempranas del desarrollo y en un medio ambiente específico a través de una ruta o vía de exposición. Por el contrario son escasos los estudios que se han realizado para medir el efecto por la exposición postnatal a mezclas de sustancias químicas a largo plazo y el funcionamiento cognitivo en niños de distintas edades.

El presente estudio se realizó en la comunidad agrícola de El Refugio, Cd. Fernández, SLP, ubicada en la parte media del Estado. Esta comunidad presenta la mayor actividad agrícola de la región, en donde la aplicación de plaguicidas (Organoclorados, Organofosforados, Carbamatos, Piretroides), herbicidas y fertilizantes es amplia y diversa. La segunda actividad económica de la población de estudio, es la elaboración de ladrillos, para lo cual utilizan diversos materiales de combustión desde biomasa, llantas, hasta la quema de aceites usados.

**Objetivo.** Evaluar los efectos a la salud por la exposición a una mezcla de contaminantes ambientales, compuestos Organoclorados: Plaguicidas Organoclorados (POCs) y Bifenilos Policlorados (BPCs),



Organofosforados (OFs) y Plomo en la población infantil que vive en la zona agrícola de El Refugio, Cd. Fernández, SLP.

**Material y métodos.** En una cohorte de 140 niños de 7 a 14 años de edad, se determinó por Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas los niveles de plaguicidas POCs y BPCs en plasma y metabolitos de OFs en orina respectivamente, así como la cantidad de Plomo en Sangre (PbS). Para evaluar del funcionamiento cognitivo de los niños, se aplicaron las pruebas de WISC-IV, Figura Compleja Rey Osterrieth (FCRO) y Tableros de Calvijas y Ranura (Grooved Pegboard).

**Resultados.** Los plaguicidas OCs detectados fueron: Lindano, *p'p* DDE y *p' p* DDT. El 74% de la población presentó exposición a lindano, con una Media Geométrica (MG) de 1696.95 ng/g Lip. El *p,p'*-DDE se identificó en el 82% de los niños evaluados (MG 1117.3 ng/g Lip), mientras que el *p,p'*-DDT se presentó en el 19% de la población (MG 376.6 ng/g Lip). Los congéneres de BPCs detectados fueron el 118, 153, 28, 52, 156 y 170. El BPC153 fue el más frecuente (82%) con una Media Geométrica de 375.8 ng/g Lip. Se identificaron y cuantificaron 4 de los 5 metabolitos alquilfosfatos en las muestras de orina. El DEDTP se detectó en el 75% de las muestras con una Media Geométrica de  $(2.2 \pm 0.74$  ng/mL). Se determinó el valor medio de exposición a plomo en sangre de la población ( $6.3 \pm 2.5$  µg/dL), el 60% de los niños presentaron concentraciones por arriba del valor de referencia (5 µg/dL).

El 67% del total de los niños evaluados presentaron un CI total bajo (< 90 pts), con una media de 83.6 pts. Con respecto a la evaluación de la función visoespacial, la proporción de niños con valores z menor a -1DE fue del 33%, tanto para la ejecución de copia como para la de memoria de la FCRO. En la evaluación de la destreza manipulativa, mediante la prueba de Clavijas y Ranuras la mayoría de los niños obtuvieron un tiempo de ejecución dentro del rango del valor esperado (-2DE a +2DE), tanto con la mano dominante (81%) como con la mano no dominante (85%).

No se encontró una asociación significativa entre las concentraciones plasmáticas de los plaguicidas organoclorados (Lindano y DDE) y el metabolito DEDTP con el riesgo de obtener puntuaciones bajas en el coeficiente intelectual total (CIT), así como tampoco con las habilidades visoespaciales ni con la coordinación ojo-mano, tanto con la mano dominante como con la no dominante.



En el modelo de regresión lineal mixto empleado se encontró una asociación negativa entre los niveles plasmáticos de BPC153 y el índice de razonamiento perceptual (IRP), en donde por cada aumento de una ppm ( $\mu\text{g/g}$  lípido) de este contaminante hay una disminución de 8.55 puntos de este índice ( $\beta = -8.55$ ;  $\text{IC}_{95\%}, -16.52, -0.57$ ;  $p=0.05$ ). Se observó también una asociación significativa entre los niveles de plomo en sangre (PbS) y los índices de comprensión verbal (ICV) y razonamiento perceptual (IRP). El modelo obtenido, estima una disminución de 5 puntos en el ICV ( $95\% \text{ IC}, -9.95, -0.82$ ;  $p=0.05$ ) y en el IRP ( $95\% \text{ IC}, -10.2, 0.01$ ) con niveles de PbS menores a  $8\mu\text{g/dL}$ .

**Conclusión.** Este estudio contribuye al conocimiento del efecto potencial por la exposición ambiental a dosis bajas de BPCs y PbS sobre el funcionamiento cognitivo infantil.

**Palabras Claves:** Plaguicidas, PCBs, Evaluación neuropsicológica, WISC-IV, niños



## I. Introducción.

El presente estudio se llevó a cabo en la localidad de El Refugio perteneciente al municipio de Ciudad Fernández, San Luis Potosí; localizada en la zona media del estado. Su principal actividad económica es la agricultura, es una zona con intensa actividad de irrigación por goteo y la aplicación de agroquímicos (plaguicidas organofosforados, organoclorados) es amplia y diversa. En la región se cultivan principalmente en dos ciclos, durante el ciclo primavera-verano se presentan cultivos perennes como los cítricos y alfalfa; además de maíz, frijol, chile, jitomate y tomate; para el ciclo otoño-invierno, solamente conservan los perennes y el maíz. La segunda actividad económica de la población de estudio, es la elaboración de ladrillos, para lo cual utilizan diversos materiales de combustión desde biomasa, llantas, hasta la quema de aceites usados. Aunado a esto el Estado de San Luis Potosí fue considerado de baja transmisión de Malaria, durante el periodo de 1988 a 1999 el promedio anual de viviendas rociadas con DDT fue de 25,000 - 13,500, aplicándose un total de 13.9 toneladas de éste insecticida (SSA 2000).

El uso generalizado de los plaguicidas no sólo en la agricultura sino también en el sector agropecuario, en el sector salud y uso el hogar, puede provocar un deterioro en la biodiversidad, contaminar los mantos acuíferos y amenazar la salud humana tanto por la exposición directa como a través de los residuos en alimentos o en agua potable (Chelala, 2004). Este posible efecto no intencionado de los plaguicidas sobre organismo no blanco y a la salud ambiental obliga a realizar evaluaciones a modo de minimizar los impactos sobre estos organismos y en las diferentes matrices ambientales (Casarett et. al, 2001; Landrigan., 2001; Primo y Carrasco, 1986; Ecología Humana y Salud, 1983). Para el ambiente, como para los trabajadores, sus familias y los consumidores, el uso de plaguicidas representa un amplio riesgo a lo largo de su ciclo de vida, desde su producción, formulación, aplicación y disposición de residuos (Bejarano, 2012), ya que estos pueden contaminar el curso de las aguas por la eliminación de residuos durante el lavado de los equipos o por la aplicación en las área de cultivos cercanas a ríos y lagos, además de la mala disposición final de los envases de éstos productos (Chelala C., 2004).

Otros tipos de contaminantes ambientales de preocupación y que está presentes en nuestra comunidad de estudio son los bifenilos policlorados (BPCs) y el Plomo (Pb).



Los BPCs son compuestos químicos formados por cloro, carbono e hidrógeno y son considerados dentro del grupo de los contaminantes orgánicos persistentes (COP). Aunque su producción ha sido prohibida desde hace ya varias décadas en la mayoría de los países industrializados, su persistencia ambiental y su incorporación a la cadena alimentaria permite una exposición humana a bajas concentraciones, especialmente por el consumo de alimentos ricos en grasas (carnes, productos lácteos y pescados) (Zayas M. R. y Cabrera C. U. 2007).

El plomo, se encuentra de manera natural, pero una buena parte de su presencia en el medio ambiente se debe a su uso histórico en pinturas, gasolineras, en diversas actividades como la alfarería y la minería (Cortes-Lugo et al., 2003). La acumulación del plomo en el ambiente es el resultado del uso antropogénico, lo cual ha provocado su concentración en el ambiente (ATSDR, 2004). En nuestro país se han llevado a cabo acciones de sensibilización, detección de niveles de plomo en sangre y suelo, saneamiento de las áreas de trabajo y fomento de hábitos de higiene, mediante acuerdos para la certificación de la alfarería vidriada libre de plomo y reducir con ello los niveles de exposición a este metal (FONART, 2010). Los efectos para la salud que provoca la exposición a este metal, tanto aguda como crónica, obligan a una especial atención en la población infantil (Thomas D Matte, 2003). Diversos estudios han documentado daño a concentraciones sanguíneas de plomo cada vez más bajas, tanto en la población infantil, como en la adulta (López-Mariluz PY, 2006; Lanphear et al., 2004; Chanteri-Pérez et al., 2003; Carpenter DO., 2001).

En este tipo de escenario no solo los trabajadores agrícolas sino también los diferentes miembros de una familia que viven en o próximo a los sitios agrícolas y dependiendo de la actividad que realicen, será el grado de riesgo que presenten. Los niños representan el grupo más vulnerable comparado con los adultos a los efectos a la salud producidos por la exposición a diversas clases de sustancias químicas (plaguicidas, BPCs, metales, etc), debido a que pueden estar expuestos a estos compuestos a través del aire, el agua, el suelo, el polvo de los hogares, los alimentos, en los entornos tanto interiores como exteriores, donde viven, aprenden y juegan. Adicionalmente los niños son más vulnerables ya que sus órganos y sistemas metabólicos, enzimáticos, endocrinos e inmunes se desarrolla rápidamente en los primeros meses o años de vida (Curwin et al., 2002).



Existe preocupación por entender los efectos que tienen las múltiples sustancias químicas peligrosas sobre todo en exposición crónica a bajas dosis sobre el ambiente y la salud humana, en especial sobre las poblaciones susceptibles como los niños (Adgate y Sexton., 2001; Aprea et al. 2000), ya que puede interferir con las funciones respiratorias y neurológicas de los niños, pudiendo estar asociada a cánceres infantiles y disrupción endocrina (Soruco et al., 2009). Esto ha generado que en los últimos años se incrementen los estudios dirigidos a esta población (Wilson et al., 2004; Landrigan et al., 2001; Freedman et al., 2001; Karmaus et al., 2001).

Sin embargo, la mayoría de estos estudios se han centrado en evaluar el daño por la exposición a sustancias químicas de manera individual, en un medio ambiente específico a través de una ruta o vía de exposición [Sexton et al. 2007: U.S. Environmental Protection Agency (EPA) 2003]. Son escasos los estudios que se han realizado para medir la exposición ambiental y los efectos a la salud por la exposición a múltiples sustancias químicas en niños de distintas edades (Rocha-Amador et al, 2009; Trejo-Acevedo, 2009; Torres-Sanchez, 2007; Sexton et al. 2006; Wilson et al. 2003; Yañez, 2002; Needham y Sexton 2000). La mayoría de estos estudios, concluyen que uno de los principales efectos adversos que presentan estas sustancias, es sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) (Bellinger DC., 2012; Bouchard et al., 2011; Wasserman et al., 2004), afectando el desarrollo neurológico y cognitivo, en particular ante exposiciones crónicas a dosis bajas. Dentro de estas sustancias químicas se encuentran los plaguicidas organoclorados (POC) y Organofosforados (OF); los Bifenilos policlorados, comúnmente conocidos como PCBs (por sus siglas en inglés) y algunos metales como el Plomo (Pb).

Si bien es cierto que los trastornos del aprendizaje, conducta y desarrollo en los niños son claramente el resultado de complejas interacciones entre distintos factores físicos, químicos, biológicos, psicológicos, sociales y genéticos durante los períodos vulnerables del desarrollo, ocasionando cambios profundos, permanentes e incapacidades de por vida en las poblaciones expuestas con un gran costo familiar, social y económico (Landrigan et al. 2001), es de suma importancia realizar estudios para evaluar como la exposición a mezcla de contaminantes ambientales contribuyen a este daño neurológico.



## II. Antecedentes

### 2.1 Esquema general de los plaguicidas

Los plaguicidas son de los grupos de agentes químicos más ampliamente utilizados por el hombre, tanto para proteger de organismos nocivos su producción y calidad de las cosechas, como para el control de vectores y plagas importantes en salud pública, estos también son empleados en el área pecuaria y en el hogar (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO por sus siglas en inglés) define a los plaguicidas como *“cualquier sustancia o mezcla de sustancias químicas destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga”* (Ecolástico et al., 2000). El término plaga se define como *cualquier organismo (animales, plantas y microorganismos) que al aumentar su población en forma descontrolada causa daño al cultivo perjudicando su normal desarrollo, causando pérdidas económicas.* (Alavajan MC et al., 2004).

Es bien conocido que el uso de plaguicidas ha mejorado el rendimiento de las cosechas y ha disminuido la frecuencia de enfermedades transmitidas por vectores, pero su uso frecuente puede ocasionar efectos adversos a la salud de la población en general y al ambiente, ya sea por exposición directa o indirecta (WHO 1986; en González-Arias et al., 2010), aguda o crónica (Lara et al., 2000). Los plaguicidas causan alteraciones en los ecosistemas al actuar sobre la fauna y la flora, provocando una biomagnificación por el aumento de la concentración de estos compuestos químicos en la cadena trófica y la contaminación en lugares en donde nunca se han empleado, debido a su capacidad de transportarse a grandes distancias, a su alta actividad biológica y en algunos casos a su persistencia en el ambiente, (Badii y Landeros, 2007; INE, 2004). Por lo que las fuentes de exposición pueden ser por alimentos, agua, aire y suelo, constituyendo un grave problema de salud pública (Escolástico, 2000). La magnitud del daño que produce el uso masivo de los plaguicidas depende de la toxicidad del compuesto y del tipo de exposición (ocupacional o no ocupacional) (Wilbur, 2010). La exposición a un plaguicida se relaciona con el tiempo, la cantidad absorbida, la concentración, la vía de absorción al cuerpo, y la susceptibilidad de la persona.

Un compuesto agroquímico es persistente si su vida media en agua es mayor a dos meses o si es mayor a seis meses en suelo o sedimento (Ortega et al., 1994). Los plaguicidas que persisten por más tiempo



en el ambiente, tienen mayor posibilidad de interaccionar con los diversos elementos que conforman los ecosistemas (Rivero et al., 2001; Ortega et al., 1994). El transporte de los plaguicidas en el suelo se da desde las capas superficiales hacia abajo, a través del proceso de lixiviación y la percolación del agua (Klassen et al., 2001; Manual de Plaguicidas, 1999). Los organismos los absorben directamente por partición entre el agua y los tejidos a través de la piel, durante la respiración o por medio de la alimentación (Pitarch, 2001). La eliminación de estos compuestos puede llevarse a cabo por excreción o por biotransformaciones metabólicas. Los parámetros que afectan estos procesos son la solubilidad en agua, la liposolubilidad, el grado de ionización, la estabilidad química y el tamaño molecular del compuesto.

En el estudio del comportamiento de los plaguicidas en la biota se distinguen tres procesos diferenciados: bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación. La bioconcentración es el proceso por el cual los organismos, especialmente los acuáticos, pueden absorber y concentrar estas sustancias, directamente del medio (agua) que les rodea, a través de su superficie respiratoria y de su piel; la bioacumulación es el proceso durante el cual el organismo acumula sustancias químicas de forma que estas alcanzan concentraciones más elevadas que las concentraciones en el medio o en los alimentos y la biomagnificación es la totalidad de procesos por los cuales la concentración tisular de un compuesto químico incrementa a medida en que se avanza en el nivel trófico en la cadena alimentaria (Pitarch EA, 2001).

Los efectos ecológicos de los plaguicidas (y otros contaminantes orgánicos) son muy variados y están con frecuencia interrelacionados. Se considera que los efectos producidos en los organismos y en el medio ambiente constituyen una advertencia de las posibles repercusiones en la salud humana. Los principales tipos de efectos varían según el organismo expuesto y tipo de plaguicida, tales como cáncer, tumores, supresión del sistema inmune, daño reproductivo, daño en el sistema endocrino, efectos teratogénicos, entre otros.

Si bien los plaguicidas se usan en todo el mundo, algunas regiones están más afectadas que otras. Por ejemplo en Centroamérica, anualmente se usan 1.5 kg de plaguicidas por persona, cantidad que supera a la de cualquier otra región (Chelala, 2004; Creel, 2002).



En México el uso de plaguicidas agrícolas no es estrictamente vigilado por las autoridades, estos son de fácil adquisición para los agricultores, además de que no existe un registro confiable de la compra, almacenamiento y disposición final de estos productos. De acuerdo a datos de la Comisión Intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas (CICOPLAFEST, 2004), en México se autorizó el uso de 158 plaguicidas, 102 herbicidas, 125 fungicidas, 15 rodenticidas, 8 fumigantes y 21 compuestos entre molusquicidas, nematocidas, protectores de semillas, atrayentes y feromonas. Del total de los 414 ingredientes activos con registro autorizado en México (excluyendo atrayentes, repelentes y estimulantes) un 18.6% tienen alta toxicidad aguda según la clasificación de la OMS, y la tercera parte (133) están dentro de la lista de posibles o probables causantes de cáncer (clasificados por la Agencia Internacional de Investigación de Cáncer, la EPA de Estados Unidos y/o la Unión Europea) o causan disrupción endocrina (Bejarano, 2012).

No hay datos precisos sobre la cantidad de plaguicidas que se usan actualmente en el país. Sin embargo, el mercado de plaguicidas ha registrado un constante aumento: en 1960 se vendieron 14 mil toneladas; en 1977, 22 mil; en 1983, 34 mil, y en 1986, alrededor de 60 mil (Ortega-Ceseña et al., 1994). Durante el 2011 el volumen de producción de los insecticidas para uso agrícola fue de 28,713 toneladas, fertilizantes fosfatados de 1,203,023 toneladas, fertilizantes nitrogenados de 634,686 toneladas y herbicidas 33,170 toneladas (INEGI 2011). No se cuenta con datos actualizados sobre el consumo de estas sustancias, pero el último registro data del 2009, en el que el consumo de plaguicidas fue de aproximadamente de 51 mil toneladas (INEGI 2009).

Actualmente, en nuestro país los insecticidas ocupan en promedio el mayor porcentaje del mercado (51%), seguidos por los herbicidas (31%) y los fungicidas (15%), en estos datos se incluyen diversos grupos o familias de compuestos: organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides y triazinas, entre otros (Gonzalez-Arias et al., 2010; Ortega-Ceseña et al., 1994). Dentro de los insecticidas, los productos que más se venden y se utilizan son los organofosforados (Gonzalez-Arias et al., 2010; Hernández y Hansen, 2011), seguidos de los piretroides y carbamatos. Los plaguicidas organoclorados constituyen sólo el 7.7% de todos los insecticidas, de ellos el endosulfán es el más comercializado (Gonzalez-Arias et al., 2010).



En México son relativamente escasos los estudios sobre el uso, disposición final y la distribución geográfica de los plaguicidas, éstos se centran principalmente en los plaguicidas organoclorados (Hernández y Hansen, 2011; Albert, 1999), así mismo son pocos los estudios que establecen la relación de la exposición a estos compuestos con el daño a la salud de la población humana (Salinas et al., 2000).

Según el informe “Intoxicación infantil por plaguicidas: información para la promoción y la acción” publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO), el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), todos los años se registran en el mundo entre un millón y cinco millones de casos de intoxicación por plaguicidas. El informe resalta que la mayoría de los casos se presentan en las zonas rurales de los países en desarrollo, donde la protección suele ser inadecuada o inexistente (FAO/OMS, 2011).

Dentro de las principales causas de estas intoxicaciones se debe a que, un gran número de trabajadores desconocen la escritura y significado de los pictogramas en su mayoría en inglés, además de que utilizan los envases vacíos como recipientes para almacenar agua, transportarla y/o beberla. Un ejemplo de esto es lo reportado por Ruíz-Nájera et al., (2011) con respecto a las indicaciones de la etiqueta del envase de los plaguicidas, el 98% de los agricultores ignora el color que representa la categoría toxicológica, la fecha de caducidad, la dosis recomendada según el cultivo vegetal, así como el insecto plaga y el ingrediente activo, además de que no detecta ningún grado de deterioro del envase.

La mayoría de las veces, se usan los plaguicidas sin ningún tipo de medidas de seguridad, por lo que la intoxicación se produce por vía dérmica, ya que el compuesto químico puede absorberse a través de la piel y/o por vía respiratoria al inhalar los vapores y microgotas suspendidas en el aire producidas en la aplicación de los mismos (García et al., 1998). Los casos de intoxicación aguda por plaguicidas son causa de morbilidad y mortalidad; los países en desarrollo son particularmente vulnerables, dado que coincide con una escasa regulación, la falta de sistemas de vigilancia, un menor cumplimiento de las normas y un acceso insuficiente a los sistemas de información (Gonzalez-Arias et al., 2010).



En México, el promedio de la tasa de incidencia de casos de intoxicados en el periodo de 2005 a 2010 fue de 3.2 por cada 100,000 habitantes. En la tabla 1 se reporta la incidencia de intoxicados en el grupo de edad de 5 a 14 años en el periodo de 2005 a 2010. Es sobresaliente observar que para el periodo de 2008 a 2009 en San Luis Potosí (SLP), no se reportaron casos de intoxicación por plaguicidas, esto no significa que no estén expuestos, sino que las cifras no reflejan la magnitud real del problema, ya que en las estadísticas es evidente el subregistro, debido a la relativa inaccesibilidad a los servicios de salud, la capacitación inadecuada para diagnosticar de los médicos que visitan las comunidades rurales, los casos no registrados por los médicos en la práctica privada, la falta de conocimiento sobre la verdadera población en riesgo, la falta de entrenamiento en el manejo seguro de sustancias tóxicas en el centro de trabajo (Gonzalez et al., 2001; Tinoco y Halperin 2001), así como la inadecuada legislación y normatividad vigente, la que se enfoca a normar el registro y la comercialización (Ortiz et al., 2002; Arcury et al. 2001).

**Tabla 1. Incidencia de Intoxicación por plaguicidas por grupos de edad en la República Mexicana y en el estado de San Luis Potosí (S.L.P.)**

<b>Año</b>	<b>Incidencia Nacional</b>	<b>Incidencia S.L.P.</b>	<b>Incidencia Nacional niños de 5-14 años</b>	<b>Incidencia S.L.P. niños de 5-14 años</b>
<b>2005</b>	3.67	2.91	1.63	1.95
<b>2006</b>	3.42	1.61	1.33	0.18
<b>2007</b>	3.37	1.50	1.45	0.36
<b>2008</b>	2.87	0.85	1.15	0.00
<b>2009</b>	3.07	0.68	1.47	0.00
<b>2010</b>	2.83	0.48	1.32	0.40

Incidencia por cada 100,000 habitantes. FUENTE: Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica/Dirección General de Epidemiología/SSA

Al menos la mitad de las personas intoxicadas y el 75% de los que mueren por esta causa son trabajadores agrícolas, en donde los niveles de educación son bajos, las advertencias son escasas y los métodos y la reglamentación del uso y disposición de estos compuestos son insuficientes. Esto conlleva a considerar la falta de una cultura ambiental que contemple el uso y manejo adecuado de los mismos (Salas et al., 2000, OMS, 1999).



En las zonas asperjadas durante los programas de control de vectores, la principal exposición de la población, se produce en el hogar (Lara et al., 2000). Esta ruta importante de exposición a insecticida en las zonas rurales se da a través del polvo tanto de la vivienda como de las zonas cercanas a las áreas agrícolas, es una fuente significativa de exposición para los niños, especialmente para los más pequeños, debido a que permanecen por largos periodos jugando en estos lugares en contacto con el polvo y tierra, al poner los objetos y sus manos en la boca (Needham et al., 2005; Wessels et al., 2003). Aunado a lo anterior, es común que en estas zonas endémicas, la agricultura sea una actividad habitual, en donde frecuentemente los padres de familia que trabajan en el campo, inconscientemente acarrearán residuos de plaguicidas a su hogar principalmente en sus ropas y herramientas de trabajo o por la espiración de los padres, favoreciendo el riesgo de exposición de los niños (Lambert et al., 2005; Curwin et al., 2002). Aunque los residuos son poco probables que causen intoxicación, pueden contribuir a la exposición crónica (Wilbur et al., 2011).

Los niños son especialmente vulnerables debido a que su sistema reproductor, nervioso e inmune se desarrolla rápidamente en los primeros meses de vida, por ejemplo en los primeros años en el Sistema Nervioso Central (SNC) se desarrollan las estructuras y conexiones vitales, por lo tanto si los compuestos como los plaguicidas destruyen las células cerebrales y/o alteran la modulación de las células gliales, podría haber un alto riesgo de que se produzcan disfunciones permanentes e irreversibles, que podrían expresarse con disminución de la inteligencia y/o trastornos del comportamiento. Por otro lado los niños metabolizan un xenobiótico de forma diferente que un adulto (Zaya y Cabrera, 2007). Además están más expuestos a los peligros medioambientales porque proporcionalmente comen más alimentos por kilogramo de peso, beben más líquidos y respiran más aire que los adultos, por lo que los sistemas respiratorios, gastrointestinales y dérmicos también pueden verse afectados (Zaya y Cabrera, 2007; Curwin et al., 2002; Eskenazi, 1999).

En los hogares de bajos recursos económicos, los niños colaboran con el trabajo en la parcela familiar y los adolescentes son quienes a menudo aplican los plaguicidas sin el equipo de protección adecuado. Por otra parte, es común que las madres lleven consigo a sus bebés al campo agrícola, incrementándose aun más la exposición para los infantes (Needham et al., 2005). En las comunidades agrícolas, aún los niños cuyos padres no son agricultores están en riesgo de exposición a los



plaguicidas, al asistir a una escuela ubicada cerca de las parcelas o bien que su casa esté cerca de los campos de cultivo. En estas circunstancias, los niños pueden estar expuestos por la deriva o desplazamiento en el aire de la nube de plaguicidas hacia un lugar no deseado y esto ocurre cuando los plaguicidas se aplican descuidadamente o en condiciones climáticas desfavorables, como por ejemplo mucho viento, poca humedad y altas temperaturas (Wilbur et al., 2011).

Los plaguicidas se clasifican en función de algunas de sus características principales, como son la toxicidad aguda, la vida media, la estructura química y su uso, entre otros (tabla 2). En 1978, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación basada en su peligrosidad o grado de toxicidad aguda, definida ésta como la capacidad del plaguicida de producir un daño agudo a la salud a través de una o múltiples exposiciones, en un período de tiempo relativamente corto. La toxicidad se evalúa a través de la dosis letal media (DL50) o de la concentración letal media (CL50). Ambos parámetros varían de acuerdo a factores como la presentación del producto (sólido, gel, líquido, gas, polvo, etc.), la vía de absorción (oral, dérmica, respiratoria), la temperatura, el sitio de uso, la dieta, la edad y el sexo del individuo entre otros.



Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas

<b>CRITERIOS PARA LA CLASIFICACIÓN DE PLAGUICIDAS</b>	<b>Concentración</b>	<b>a) Ingrediente Activo</b>	Compuesto químico que ejerce la acción plaguicida
		<b>b) Plaguicida Técnico</b>	La máxima concentración de ingrediente activo obtenida como resultado final de su fabricación, de la cual se parte para preparar un plaguicida formulado.
		<b>c) Plaguicida formulado</b>	Mezcla de uno o más plaguicidas técnicos, con uno o más ingredientes conocidos como "inertes", cuyo objeto es dar estabilidad al ingrediente activo o hacerlo útil y eficaz, constituye la forma usual de aplicación de los plaguicidas.
	<b>Organismo que controlan</b>		Insecticida, bactericida, acaricida, molusquicida, rodenticida, avicidas, fungicidas, herbicidas, nematocida, ovidas.
		<b>Modo de Acción</b>	De contacto, de ingestión, sistémico, fumigantes, repelentes, defoliantes, entre otros.
	<b>Composición Química</b>		Organoclorados, carbamatos, dinitrofenoles, piretroides, carboxamidas, triazinas, organoazufrados, tiocarbamatos, tricloropicolínico, organofosforados, ftalimidas, derivados de la urea, aceites minerales, organoestánicos, compuestos de cobre, clorofenoxi, bupiridilicos, guanidinas y naftoquinonas, derivados de los ácidos tricloroacético y tricloropicolínico.
	<b>Formulaciones comerciales</b>		Sólidos (polvos y granulados), líquidos, gases
<b>Uso al que se destinan</b>		Agrícola, forestal, urbano, para jardinería, pecuario, doméstico, industrial entre otros.	

Fuente SEMANART 2007

## 2.2 Plaguicidas Organoclorados

Los plaguicidas Organoclorados (POCs) son insecticidas cuya estructura química general es la de los hidrocarburos clorados aromáticos, algunos de ellos contienen además otros elementos, como el oxígeno y el azufre constituyendo tres clases químicas distintas: estructuras relacionadas con el diclorodifeniletano, con el ciclodieno clorado, así como con el benceno y el ciclohexano clorados (Casarett et al, 2001). Son compuestos que han sido incluidos en la lista de los denominados

Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs). Entre ellos se encuentra el DDT, aldrín, endrín, dieldrín, heptacloro, hexaclorobenceno, heclorociclohexano, toxafeno, clordano y mirex entre otros (figura 1).

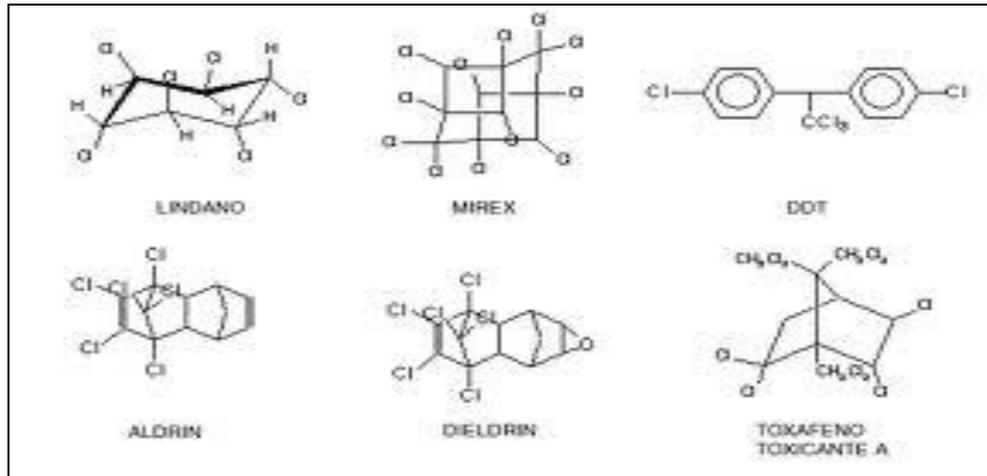


Figura 1: Estructura química de algunos compuestos organoclorados

Los plaguicidas Organoclorados se caracterizan por ser compuestos de alta toxicidad, de baja volatilidad, de alta estabilidad química lo que les otorga una mayor persistencia en el ambiente, son lipofílicos y de baja biotransformación. Estas características, les confieren la propiedad de ser insecticidas muy efectivos. Además presentan las propiedades de bioconcentración y biomagnificación, se transportan a largas distancias de zonas cálidas a frías (efecto saltamontes), donde se depositan y difícilmente son degradados (Grimalt, et al., 2003; Ritter et al., 1995; Fernández y Grimalt, 2003). Por ello, se han detectado residuos de DDT en todos los niveles de la cadena trófica del Círculo Polar Ártico, a pesar de que nunca se haya utilizado este insecticida en estas regiones (Metcalf et al, 1973; Caballero et al., 2001).

Los organoclorados pueden absorberse por vía oral, inhalatoria o dérmica. Por ejemplo, el DDT es poco absorbido por la piel, mientras que los aldrines (aldrín y endrín) lo hacen con mayor rapidez y en mayor proporción. Cuando éstas sustancias se encuentran disueltas en grasas animales o vegetales, se incrementa su biodisponibilidad (Casaret, 2001). Una vez absorbidos son distribuidos por todo el organismo; estableciéndose un equilibrio de concentraciones entre los elementos grasos y protéicos constitutivos de la sangre y otros tejidos ricos en grasas, especialmente el tejido adiposo. También se pueden distribuir al hígado, riñones y cerebro, dependiendo de la dosis absorbida y el tiempo de



exposición. La acumulación de estos plaguicidas en el tejido adiposo impide que lleguen a sitios críticos del Sistema Nervioso. Sin embargo, cuando ocurre una remoción súbita de la grasa, como puede ocurrir en situaciones de anorexia, embarazo o enfermedad, estos compuestos se movilizan y retornan a la sangre en concentraciones suficientes para causar signos de intoxicación aguda (Casarett et al., 2001; Troisi et al., 2001).

Los plaguicidas organoclorados tienen la habilidad de atravesar la barrera placentaria alcanzando concentraciones importantes en el feto (Lemaire et al., 2004; Herkowitz et al., 2003). El metabolismo de los OCs, se lleva a cabo muy lentamente en el hígado por acción de las enzimas microsomales, a través de mecanismos de oxidación (epoxidación) y conjugación, transformando así a las moléculas liposolubles en hidrosolubles que pueden eliminarse lentamente por vía urinaria (Casarett et al., 2001; Troisi et al., 2001).

El principal efecto tóxico de los OCs es sobre el Sistema Nervioso Central (SNC), estos compuestos interfieren con el flujo de iones  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Cl}^-$  a través de las membranas de las células nerviosas, aumentando de esta forma la excitabilidad de las neuronas. Los OCs también afectan la permeabilidad de los iones potasio, lo que reduce el transporte de éstos a través de la membrana celular, a su vez estos compuestos alteran los canales de los iones sodio; la membrana se despolariza de modo normal, pero el proceso de polarización se ve afectado, lo que interfiere con el transporte activo del sodio hacia fuera del axón nervioso durante la repolarización (Casarett et al., 2001). También se ha reportado inhibición de la actividad de la ATPasa dependiente de calcio-calmodulina e incremento de la degradación de serotonina y noradrenalina. Por tales razones, se interfiere con la transmisión de los impulsos nerviosos (en especial en el sistema nervioso central) y se aumentan los niveles de neurotransmisores excitadores como glutamato. El resultado final son las descargas nerviosas repetidas y un estado de hiperexcitabilidad del sistema nervioso (Peña et al., 2009).

Los compuestos ciclodienos, el lindano y el toxafeno antagonizan la acción del neurotransmisor ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), que induce la captación de iones cloruros por las neuronas. Por lo que hay una repolarización parcial de la neurona y un estado de excitación no controlada. Los insecticidas ciclodienos también son potentes inhibidores de la  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPasa}$  y a la  $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPasa}$ . La inhibición de estas



enzimas da por resultado la acumulación de iones calcio intracelular, generando un desequilibrio en los impulsos nerviosos (Peña et al., 2009; Casarett et al., 2001).

Después de la ingesta de plaguicidas organoclorados, los primeros síntomas de intoxicación son náuseas y vómito, seguidos de cefalea y excitación; estos síntomas van acompañados por diversos signos neurológicos, incluso debilidad de los músculos, temblores, desorientación mental, parestesia y convulsiones que, a menudo, son epileptiformes (Arias et al., 1990). Sin embargo, cuando la vía de absorción es dérmica, puede haber confusión mental y/o temblores, como únicos síntomas. La hiperexcitabilidad progresiva del SNC puede llegar a producir convulsiones y parestesias bucales y de la lengua, con hiperestesia facial y de las extremidades (Peña et al., 2009; Neisheim et al., 2005). Los plaguicidas organoclorados más poderosos como convulsivantes son: Lindano, endrín, dieldrín, clordano y heptacloro. También suelen aparecer trastornos respiratorios y del ritmo cardíaco de origen central. A menudo, pueden sobrevenir depresión y apnea (Pesticidas: Salud y Seguridad, 2009).

La intoxicación crónica, se produce por una exposición prolongada a concentraciones bajas, los efectos clínicos que se observan son dificultades para respirar, desórdenes nerviosos, insuficiencia renal, anorexia, pérdida de peso, signos polineuríticos, alteraciones hepáticas, trastornos del ritmo cardíaco, lesiones oftalmológicas tales como conjuntivitis alérgica, blefaritis, angiopatía de la retina y otros (Peña et al., 2009; Casarett et al., 2001).

Otros efectos tóxicos provocados por los OCs son defectos al nacer, cáncer, problemas reproductivos, trastornos congénitos, daño al sistema inmunológico y respiratorio, problemas reproductivos, inductores de enzimas hepáticas, desórdenes de índole sexual, periodos de lactación más cortos, desórdenes endocrinos, (Flower et al, 2004; Cantor et al, 2003; Weiderpass et al., 2000), apoptosis (Pérez-Maldonado et al., 2004), alergias, hipersensibilidad, daño al sistema nervioso, desórdenes neurológicos de comportamiento y desarrollo (Gillette et al., 1998), pérdida de la memoria a corto plazo y cáncer (de próstata, testicular, de mama y de tiroides) (IPCS, 2002; NHANES, 2003; Demers et al., 2000).

Estudios realizados por Planner (1999) en la comunidad de El Refugio, Municipio de Cd. Fernández, SLP, demostraron la presencia de insecticidas organoclorados en pozos de agua utilizados para el



consumo humano, aunque las concentraciones cuantificadas están en los límites de los valores de referencia, resulta preocupante por los posibles efectos nocivos asociados con la exposición crónica a concentraciones bajas a través del consumo de este líquido. Lo que representa un riesgo a la salud para esa comunidad.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), a través de su Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, considera a muchos de los OCs como potenciales carcinógenos humanos. Por lo que el 23 de Mayo del 2001 noventa países firmaron el Convenio de Estocolmo, donde se reconocen los efectos tóxicos que causan los OCs en la salud pública y la biocumulación que producen en el ambiente, llegándose a un acuerdo para su reducción y eliminación gradual. Este convenio fue ratificado internacionalmente en mayo de 2004, en donde el Gobierno Mexicano también participó (Yarto et al., 2003).

### **2.2.1 DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano)**

El DDT ( $C_{14}H_9Cl_5$ ) es un insecticida organoclorado sintético de amplio espectro. Su formulación en grado técnico está constituido por una mezcla de compuestos organoclorados (principalmente *p* p' DDT, *o* p' DDT, *p* p' DDE y *o* p' DDE). Es un compuesto muy estable, se metaboliza en gran proporción en diclofenildicloroetano (DDE), quedando solamente un pequeño porcentaje como *o* p' DDT (ATSDR, 2004; Sanchez-Torres, 2007). El DDE es poco soluble en agua y presenta una alta afinidad por los lípidos, tiene una alta persistencia en el ambiente y se incorporan fácilmente a la cadena alimentaria. La principal fuente de exposición no ocupacional al DDE, es a través del consumo de alimentos contaminados (Snedcker SM., 2001). Una vez que el DDE es ingerido junto con los alimentos, entra en la circulación sanguínea y se une a los lípidos para posteriormente depositarse en el tejido adiposo (ATSDR, 2004).

La principal ruta de eliminación de este compuesto es a través de la leche materna y en el caso de los hombres y mujeres no lactantes su eliminación es mucho más lenta, mediante la vía urinaria (ATSDR, 2004). Una vez suspendida la exposición a DDT la eliminación del 50% de la carga corporal del DDT



tomaría de 6 a 10 años, reduciéndose a menos de 2 años en mujeres que han dado lactancia materna (Torres-Sanchez, 2007; López Carrillo et al., 2001).

El DDT, es el plaguicida organoclorado mejor conocido y fue ampliamente utilizado en los programas de control de vectores en México durante 40 años, se estima que en la región de América Central incluyendo a México, se aplicaron cerca de 85 mil toneladas de este insecticida, de las cuales cerca de 70 mil toneladas fueron usadas en México (ISAT, 2001).

No obstante que en nuestro país se dejó de aplicar desde el año 2000, dada sus características de alta persistencia, el escenario nacional es ahora de una exposición crónica residuos de DDT y DDE (su principal metabolito). Estudios realizados en México para determinar los niveles de exposición a DDT, tanto en población ocupacionalmente expuesta, así como, en las poblaciones en general, en diversos estados de la República Mexicana, tanto en áreas tropicales (Veracruz, Chiapas y Oaxaca) y no tropicales (Ciudad de México, SLP, Puebla y Morelos, respectivamente), han reportado la presencia de DDT o de sus metabolitos (DDE) tanto en sangre, tejido adiposo y leche materna. Los resultados obtenidos en estos estudios demuestran una mayor exposición a DDT en zonas tropicales (debido a su uso histórico en las campañas de salud). Reportando que los niveles encontrados en niños son mayores que lo reportado en adultos residentes en las mismas comunidades de estas zonas tropicales (Trejo et al., 2009; Rocha-Amador et al., 2009; De Jager et al., 2006; Herrera-Portugal et al., 2005; Waliszewski et al., 2004; Pérez-Maldonado et al., 2006; Barraza et al., 2004; Yáñez et al., 2002,).

Los efectos tóxicos del DDT y algunos de sus metabolitos son: irritabilidad y temblores, convulsiones, sudor excesivo, dolor de cabeza, náusea, vómitos y mareo.

Los efectos por exposición crónica son: alteraciones en el sistema inmunológico, endocrino, enzimático, períodos de lactación más cortos, alteraciones en el desarrollo fetal y alteraciones en el Sistema Nervioso Central.

La neurotoxicidad del DDT ocasiona alteraciones en el aprendizaje, en el desarrollo psicomotor; en los niveles de algunos neurotransmisores, entre otros. (Ortega-García et al., 2005; ATSDR 2004).



### **2.2.2 Lindano ( $\gamma$ -Hexaclorociclohexano)**

Otro plaguicida organoclorado ampliamente utilizado en las zonas rurales (incluida nuestra zona de estudio) es el Lindano, compuesto utilizado en la agricultura, en el sector pecuario y en el sector salud, como tratamiento de la pediculosis y la escabiasis (Mendoza y León, 2005). Es uno de los isómeros del hexaclorociclohexano (HCH), altamente persistente en el ambiente, concentrándose en agua, aire, suelo y sedimentos, donde puede contaminar a los organismos expuestos, bioacumularse en los tejidos grasos y bioconcentrarse a través de la cadena alimenticia (ATSDR, 2004).

Las principales rutas de exposición de la población en general al lindano, son como la de otros compuestos organoclorados, a través de la ingestión de alimentos (plantas, animales y agua contaminada). Debido a que este insecticida tiene un uso extensivo en el sector agrícola, pecuario e inclusive en el de la salud humana, no es difícil imaginar que los humanos, animales y ecosistemas en general se encuentren expuestos a este compuesto (Avalos y Ramírez, 2003). Sin embargo, después de varios años de investigación, ha dejado de ser una opción conveniente ya que su toxicidad a largo plazo es más peligrosa que sus posibles efectos benéficos (Mendoza y León, 2005).

En México, el lindano se empleó hasta el año 2006, en donde los medicamentos conteniendo este insecticida estaban incluidos en el Cuadro Básico de la Secretaría de Salud (SSA, 2006). Posteriormente nuestro país inicio acciones sobre este compuesto (Avalos y Ramírez, 2003) y propuso a los isómeros de  $\gamma$ -HCH (lindano) como candidatos para el Convenio de Estocolmo (Humphreys et al., 2008) y eliminar su uso.

Las manifestaciones clínicas en las intoxicaciones agudas o crónicas pueden ser: ataxia, deambulación; trastornos oculares, visión deficitaria, destellos luminosos, constricción del campo visual periférico, vértigo, pérdida de memoria reciente; trastornos psicológicos (agresividad, irritabilidad, hiperactividad, depresión con ansiedad, temores, confusión, insomnio), así como anorexia, disfagia, entre otros.

Estudios realizados por Trejo et al. (2009; 2012), en poblaciones infantiles de diferentes comunidades rurales en México, demuestran una alta exposición a estos compuestos, confirmando que el uso principal de este insecticida es con fines terapéuticos.

### 2.3 Plaguicidas Organofosforados (OFs)

Los OFs surgen como una alternativa del uso de los OCs. Son fundamentalmente ésteres del ácido fosfórico, se descomponen con mayor facilidad como consecuencia de su degradación por reacciones de hidrólisis en medios alcalinos de los suelos, lo que les confiere baja persistencia en el ambiente con relación a los OCs, por ello es necesaria su aplicación con mayor frecuencia para mantener su eficacia, son peligrosos para el hombre debido a su alto grado de toxicidad (Badii y Valera, 2008).

En la figura 2 se muestra la estructura química general de los plaguicidas organofosforados, donde R1 y R2, pueden ser sustituyentes alquilo o arilo enlazados directamente al átomo de fósforo (en fosfinatos) o enlazados vía -O- ó -S- (en los fosfatos). El grupo sustituyente (X) puede ser un grupo alifático, aromático o heterocíclico, sustituidos o ramificados, unidos al fósforo vía -O- ó -S-. Los compuestos organofosforados pueden ser derivados del ácido fosfórico (P=O) o del ácido fosforotióico (P=S) (Matsumura et al., 1985; Moretto y Johnson, 1978).

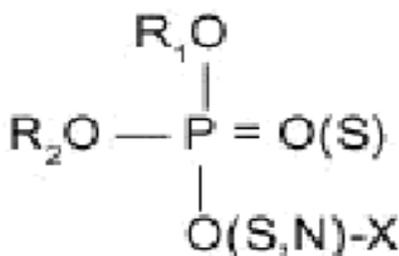


Figura. 2. Estructura química general de los organofosforados

Entre los OFs más utilizados en la agricultura por su gran potencial insecticida, se encuentran el malatión, el paratión y el diclorvós.



Los organofosforados son absorbidos perfectamente por todas las vías: dérmica, respiratoria, digestiva y conjuntiva. Cuando el ingrediente activo se disuelve en un solvente orgánico, se facilita la absorción del producto a través de la piel. Por lo que la absorción dérmica es responsable de un alto porcentaje de intoxicaciones. Por inhalación se absorbe cuando se trabaja durante su formulación, mezcla, aplicación, almacenamiento o cuando se presentan incendios o derrames. El ingreso por vía oral ocurre mediante ingestión voluntaria, accidental o por alimentos contaminados (Escolastico, 2000). La vida media de los OFs y sus metabolitos es relativamente corta (2 a 48 hrs). Son biodegradables y no se acumulan en el organismo. La mezcla de plaguicidas OFs produce efectos de sinergismo por adicción y/o potenciación. Por ejemplo, estudios realizados con enzimas que metabolizan xenobióticos en el hígado y cerebro de ratas, demostraron que el endosulfan puede aumentar la toxicidad del malatión al inhibir las enzimas responsables de formar el metabolito no tóxico (Casarett et al., 2001; Escolástico et al., 2000).

Entre el 75 y el 100 % de los OFs administrados experimentalmente por vía oral, se metabolizan a compuestos polares, su vida media de eliminación oscila entre 2 a 48 horas después de una exposición aguda (Lambert et al., 2005; Wesseles et al., 2003). Debe tenerse en cuenta, no obstante, que la absorción por vía dérmica puede ser más lenta, por lo que la vida media de absorción es mayor y, en consecuencia, la eliminación prolongarse más allá del referido plazo, La principal vía de eliminación es la urinaria y en menor grado la biliar y por el aire espirado (Fenkense y Day, 2005; Curwin et al., 2002). Atraviesan la barrera hematoencefálica y la placentaria, encontrándose en la sangre fetal concentraciones iguales o superiores a la materna.

Los compuestos fosforados orgánicos son ésteres que se metabolizan por las esterasas orgánicas A y B. Las esterasas de tipo A dan lugar por hidrólisis a productos polares y por lo tanto de fácil excreción. Las B-esterasas, entre las que se encuentran las colinesterasas, son inhibidas por los metabolitos oxidados de los organofosforados. El malatión es relativamente poco tóxico para los mamíferos, ya que el hígado posee una esterasa que lo destoxifica rápidamente; el paratión, por el contrario, se oxida por el citocromo P450 generando un enlace fósforo-oxígeno, conocido como paraoxón el cual es 10 veces más tóxico, reacción que tiene lugar con especial intensidad en la pared intestinal (Casarett et al., 2001; Murphy et al., 1986).



El principal efecto tóxico de los plaguicidas organofosforados es la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE). Estos compuestos compiten con la acetilcolina por la AChE. El átomo central de fósforo (paraoxón) muestra una deficiencia de electrones y esta configuración electrónica es favorable para la atracción hacia el sitio estérico de la AChE que posee un excedente de estos. Después de que el grupo paraoxón se une al sitio esteérico de la enzima, el otro extremo de la molécula es atraído por el sitio aniónico induciendo un rompimiento entre el fósforo y el resto de la molécula. El fósforo forma entonces un enlace covalente con el grupo nucleofílico de la AChE, por lo que impide su regeneración libre y activa, a menos que sea administrado un antídoto tipo oxima (Welsseles et al, 2003; Manual de Plaguicidas, 1999). El grupo alquilfosfato liberado y el cual es característico para cada uno de los plaguicidas OPs, es eliminado por orina (Casarett et al., 2001).

Un total de hasta 8 alquilfosfatos diferentes son formados, los 6 más frecuentes son: el dimetilfosfato (DMP), dietilfosfato (DEP), dimetiltiofosfato (DMTP), dietiltiofosfato (DETP), dimetilditiofosfato (DMDTP), dietilditiofosfato (DEDTP); mientras que el dimetilfosforotiolato (DMPT<sub>h</sub>) y el dietilfosforotiolato (DEPT<sub>h</sub>) son los menos frecuentes (Maroni et al., 2000). Es importante hacer notar que los dialquilfosfatos que se encuentran en la orina, no siempre provienen del rompimiento de la molécula cuando el fósforo (oxón) se une al sitio catalítico de la AChE. Estos pueden también formarse durante su proceso de metabolismo a través del citocromo P450 (Casarett et al, 2001; Paris et al., 2002).

La fosforilación (inactivación de la AChE) detiene la hidrólisis de la acetilcolina, por lo que ésta se acumula en cantidades excesivas en las pre-sinapsis ganglionares periféricas, sistema nervioso central y órganos efectores. Los síntomas son, por lo tanto, principalmente de naturaleza colinérgica (Sogorb-Sanchez et al., 2004), como convulsiones, hipersecreciones, incontinencia urinaria y de heces, bradicardia, e hipotensión, entre otros, pudiendo llegar a producir inclusive la muerte si el grado de exposición es muy alto (Paris et al., 2002).

Algunos organofosforados inhiben también a la esterasa neurotóxica (NTE) y esta inhibición, junto con el incremento del Ca<sup>2+</sup> intracelular por la alteración de la enzima calcio-calmodulina-quinasa II, constituyen el mecanismo por el cual se genera la neuropatía retardada. Por lo que la NTE puede ser utilizada como un biomarcador de efecto, por la exposición organofosforados (Manual de Plaguicidas, 1999; Jamal,



1997). La neuropatía retardada es una polineuropatía predominantemente motora, de tipo flácido, pero también con manifestaciones de tipo sensorial, que afecta a los músculos distales de las extremidades en grado variable, incluso tetraplejia, aunque, en general, resultan más afectadas las piernas (Namba, 1971; Weinbaum et al., 1995).

Los efectos agudos que causan las sobredosis intencionales o accidentales por compuestos organofosforados (OFs) o los que se producen por la exposición a altas concentraciones de los mismos, en labores agrícolas, son bien conocidos (bradicardia, hipotensión, miosis, broncorrea, hipertensión, taquicardia, midriasis, depresión del sistema nervioso central, hipotonía y convulsiones) e incluye la disfunción neurológica que resulta de la inhibición de la acción de la acetilcolinesterasa en el tejido neural (Welsels et al., 2003). Se ha reportado que la leucemia linfocítica crónica es mayor en sujetos expuestos a plaguicidas OFs, especialmente a crotoxfós, diclorvós y fampur bajo exposiciones agudas (Prado et al., 2002).

La exposición crónica a organofosforados se ha asociado con síntomas psiquiátricos como psicosis, ansiedad, depresión, alucinaciones, agresividad e incluso se ha asociado como una de las causas de la enfermedad de Parkinson y Alzheimer (Hurtado MC y Gutierrez MS, 2005; Salvi R et al., 2003). Existen reportes en la literatura donde se ha demostrado que estos compuestos incrementan las enfermedades infecciosas (Pitarch et al., 2001), sobre todo del tracto respiratorio.

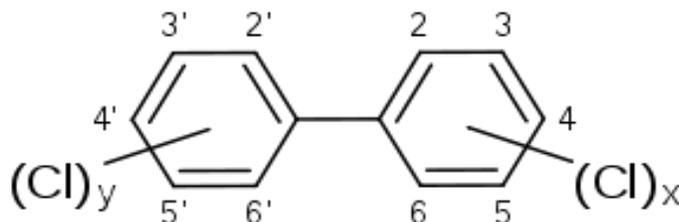
La biomonitorización de estos compuestos es un proceso relativamente nuevo y difícil de evaluar, debido a que la exposición a plaguicidas OFs ocurre por múltiples rutas y la variabilidad existente entre los individuos (Curl et al., 2002; Lu et al., 2001). Aproximadamente el 75% de los plaguicidas OFs registrados se metabolizan en cantidades cuantificables de metabolitos de alquil-fosfatos (EPA). Por lo que la cuantificación urinaria de éstos, es el mejor método para valorar la exposición a estos plaguicidas (Needham et al., 2005; Curl et al., 2002; Lu et al., 2001).

La presencia de estos metabolitos sugiere una exposición reciente a los plaguicidas OFs. Cada uno de los seis metabolitos de alquifosfatos (AF) se puede producir a partir de más de un plaguicida OFs, por lo que la detección de estos metabolitos permite evaluar la exposición a diversas clases de éstos. Las

mediciones de los metabolitos AF se han utilizado para documentar la exposición ocupacional en granjeros, agricultores y fumigadores. En estos estudios, las concentraciones de AF fueron superiores por un factor de 50 veces a los niveles observados en la población no ocupacionalmente expuesta (Quant et al., 2010; William et al., 2005; Needham et al., 2005; Wessels, et al., 2003).

## 2.4 Bifenilos Policlorados (BPCs)

Los bifenilos policlorados o PCB (por sus siglas en inglés), son una familia de más de 209 compuestos químicos estructuralmente relacionados (congéneres), formados por cloro, carbono e hidrógeno (figura 3), comúnmente llamados askareles o aroclors. Su fórmula general es  $C_{12}H_{10-n}Cl_n$ , cada BPC consta de dos anillos bencénicos y de uno a diez átomos de cloro. Estos compuestos se forman por cloración electrofílica del bifenilo con gas cloro en alguna de las 10 diferentes posiciones (figura 3). El número (1-10) y la posición de los átomos de cloro determinan sus propiedades físico-químicas, son mayoritarios los BPC que tienen de dos a siete cloros. Dependiendo de la posición del átomo de cloro en los enlaces de carbono-carbono de los anillos aromáticos, se designan como *orto*, *meta* y *para* (Miller-Pérez et al., 2009; CCA, 2003; ATSDR 2001).



**Figura 3.** Estructura química básica de los PCB. Los números 2-6 y 2'-6' representan posibles posiciones del átomo de cloro dentro de cada anillo bencénico.

En cuanto a la relación estructural con la toxicidad, los BPC se dividen en dos categorías, conocidas como coplanares o no coplanares. Los miembros del grupo coplanares tienen una estructura bastante rígida, con los dos anillos de fenilo en el mismo plano, esto le da a la molécula una estructura similar a las dibenzo-*p*-dioxinas y dibenzofuranos policlorados, lo que les permite actuar en la misma forma que estas moléculas, es decir, son agonistas del receptor de aril-hidrocarburos (AHR). Este tipo de congéneres de BPC se consideran como contribuyentes a la toxicidad de la dioxina en general (Miller-



Perez et al., 2009; ATSDR, 2004; Ribas-Fito et al., 2001). Por otra parte, los PCB no coplanares con átomos de cloro en las posiciones *orto*, no se les ha demostrado capacidad para activar al receptor AHR, y no se consideran parte del grupo de las dioxinas (Miller-Perez et al., 2009; ATSDR, 2004).

Son compuestos química y térmicamente estables, insolubles en agua, no son inflamables, no conducen la electricidad, tienen baja volatilidad a temperaturas normales, se degradan a altas temperaturas, son biodegradables y son bioacumulables. Precisamente, por algunas de estas propiedades los BPC fueron importantes para el sector industrial y comercial. Se utilizaron como aislantes térmicos en transformadores, capacitores y equipos de transferencia de calor, en fluidos hidráulicos, pigmentos para pinturas, barnices, tintas para impresión, balastos, ceras, plastificantes de resinas y hules, papel para copia sin carbón, interruptores de alta tensión y bobinas reguladoras (SEMARNAT, 2003).

La estructura lipofílica de los BPC permite su difusión al interior de la célula por difusión pasiva. Diversos efectos biológicos de los BPCs y las dioxinas están mediados por la activación del receptor aril-hidrocarburo, un factor de transcripción ligando dependiente (AhR). El mecanismo de acción propuesto es que en el citosol, los BPCs funcionan como ligandos del receptor AhR, al que se unen con una alta afinidad en el rango nanomolar. El AhR es miembro de la familia de los receptores esteroides y es un factor de transcripción activado por ligandos que controla la expresión de varios genes, entre los que están los de los citocromos (Miller-Pérez et al., 2009; ATSDR, 2004). Los cambios en la expresión génica conducen a alteraciones de los procesos celulares y sus funciones (Martínez et al., 2002). Uno de éstos es el incremento de la actividad del citocromo P-450 1A1, que provoca la generación de metabolitos tóxicos (Deninson et al., 2003).

Los efectos en la salud por exposiciones a altas concentraciones a BPCs, son náuseas, vómito, pérdida de peso, dolor en el bajo vientre, incremento de secreciones oculares, ictericia, edema, cansancio, pigmentación de las uñas, además de efectos hepatotóxicos a mediano y largo plazo, problemas gastrointestinales, depresión y fatiga (ATSDR, 2004). Los efectos asociados con exposición crónica a BPCs entre otros: alteración del sistema nervioso central, del metabolismo, de la acción de hormonas y disminución de la respuesta del sistema inmunológico (Herbstman BJ. et al., 2010; Miller- Pérez et al., 2009; Black KK et al., 2006). Además estos compuestos han sido considerados como probables



cancerígenos en humanos, por la Agencia de Protección al Ambiente (EPA) y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés).

El grado de toxicidad de los BPCs es directamente proporcional al grado de cloración de la molécula, y dentro de esta escala los BPCs coplanares son más tóxicos que sus congéneres no coplanares (ATDSR, 2004; Beivik K et al., 2002).

Los BPCs se encuentran entre las sustancias neurotóxicas más ampliamente estudiadas. Estudios previos han evaluado el desarrollo cognitivo y psicomotor de los niños utilizando diferentes pruebas, en distintas edades y sumando los niveles de los distintos congéneres de BPCs en diferentes matrices, sin embargo los resultados son inconsistentes (Jean Pan et al., 2009; Stewart et al., 2008; Gray et al., 2005; Jacobson et al., 2003)

## **2.5 Plomo (Pb)**

Es un metal pesado, ampliamente distribuido en la naturaleza, su principal mineral es la galena. Es muy blando, denso, fusible, forma sales, óxidos y compuestos organometálicos. Industrialmente, sus compuestos más importantes son los óxidos de plomo y el tetraetilo de plomo. El plomo forma aleaciones con muchos metales y, en general, se emplea en esta forma en la mayor parte de sus aplicaciones (ATSDR, 2004).

Las vías de absorción del plomo inorgánico en el organismo, son fundamentalmente la respiratoria y la digestiva. Por la vía inhalatoria se absorbe entre el 30 y el 50% del plomo inhalado. Por la vía digestiva se absorbe el 10% (50% en los niños). Una vez absorbido, es transportado por la sangre y alrededor del 90% se fija en los glóbulos rojos (Bergdahl IA et al., 2006; Brito JA. Et al., 2005; Bellinger DC. 2004).

En el organismo sigue un modelo tricompartmental: el sanguíneo (2% del contenido total, con una vida media de 5 semanas), el de los tejidos blandos (8%, con una vida media de 6 a 8 semanas) y el óseo (representa el 90% del contenido total y con una vida media que oscila entre los 10 y 28 años). La vía principal de eliminación es la renal (Bressler et al., 2005; Brito et al., 2005).



El plomo tiene gran afinidad por grupos imidazol, sulfhídrico, amino, carboxilo y fosfato, y como consecuencia de ello presenta una fuerte unión a las membranas biológicas, proteínas y numerosas vías metabólicas como la fosforilación oxidativa y la síntesis de la hemoglobina. La inhibición de la pirimidin-5'-nucleotidasa podrían ocasionar depósitos de ácidos nucleicos en los hematíes ocasionando el punteado basófilo de los hematíes (Bradman et al., 2001). El plomo es desmielinizante y puede ocasionar degeneración axonal. Altera fundamentalmente los procesos bioquímicos de todas las células y los sistemas del organismo.

Puesto que el plomo es químicamente similar al calcio (mismo radio iónico), interfiere con diversos procesos dependientes de éste. Activa la proteína C quinasa (PCQ) (Atchison et al., 2004; ATSDR 2004), que es una enzima dependiente del calcio vinculada con el crecimiento y la diferenciación celular, la conservación de la barrera hematoencefálica y la potenciación a largo plazo que se sospecha tiene que ver con la memoria. De hecho, la proteína C quinasa tiene una mayor afinidad por el plomo que por el calcio (Bleecker et al., 2005; Blessler et al., 2005; Bellinger et al., 2003).

El plomo tiene efectos tóxicos en muchos órganos, sistemas y procesos fisiológicos, incluyendo el desarrollo de los glóbulos rojos, los riñones, el sistema cardiovascular, el aparato reproductor y, probablemente el aspecto de mayor gravedad, el desarrollo del sistema nervioso central, provocando deficiencias en el desarrollo intelectual de niños expuestos a este metal, incluso a concentraciones relativamente bajas. En los riñones la exposición a plomo produce nefropatías que normalmente son de tipo crónico, aunque en los niños puede presentarse un síndrome de tipo agudo. La toxicidad del plomo también se refleja en el sistema cardiovascular y reproductor (ATSDR 2004; Brady et al. 2000). La naturaleza de las manifestaciones de toxicidad depende no sólo de la magnitud de la exposición, sino también de la edad de las poblaciones en riesgo; la toxicidad del plomo es más crítica para el feto en desarrollo y el niño en crecimiento que para los adultos (Atchinson et al., 2004; Bellinger et al., 2003).

Existen una gran cantidad de datos experimentales y en la población humana que demuestran efectos deletéreos importantes en el funcionamiento neurológico debido a los niveles de plomo en sangre por arriba de 10 µg/dL, entre estos, se encuentra la disminución del CI, problemas conductuales, alteraciones de la memoria, problemas psicomotores y afectaciones graves en el rendimiento escolar (Lamphear et al., 2005; Lamphear et al., 2002; Yule et al., 1981).



Sin embargo en años recientes diversos estudios han documentado daño a concentraciones de plomo en sangre cada vez más bajas, tanto en la población infantil, como en la adulta (López-Mariluz et al., 2006; Lamphear et al., 2004; Chanteri-Pérez et al., 2003; Carpenter et al., 2001).

Debido a la toxicidad y a los daños a la salud y al ambiente causado por la exposición a plomo, México inició en 1986 con acciones para disminuir la exposición a este metal, mediante la introducción de gasolina sin plomo y la incorporación de los convertidores catalíticos en los automóviles de nueva manufactura (Cortez-Lugo et al., 2003). Sin embargo, uno de los factores de exposición no ocupacional a plomo que persiste es el uso de barro vidriado (Meneses-Gonzalez et al., 2003; Azcona et al., 2000). No obstante de existir normas (NOM-231-SSA1-2002) para el control de este material en la elaboración de loza vidriada, sigue siendo una práctica en los talleres de fabricación de este tipo de vasijas y, el uso, aún de las técnicas de "cura" de la vasija de barro en casa, hace que los niveles de plomo persistan de manera importante (Cantú-Martínez y Reyes-Sanchez, 2004; Meneses-Gonzalez et al., 2003).

En nuestro país se han llevado a cabo acciones de sensibilización, detección de niveles de plomo en sangre y suelo, saneamiento en las áreas de trabajo y fomento de hábitos de higiene. Por lo que en el 2010 se generó un acuerdo para la certificación de la Alfarería vidriada libre de plomo y reducir con ello los niveles de exposición a este metal (FONART, 2010).

## **2.6 Efecto Neurotóxico por contaminantes ambientales**

Se entiende por *neurotoxicidad* a la capacidad de inducir efectos adversos en el sistema nervioso central, los nervios periféricos o los órganos de los sentidos. Se considera que un producto químico es neurotóxico cuando es capaz de inducir un patrón constante de disfunción neural o cambios en la actividad enzimática o la estructura del sistema nervioso (Merger D., 2007; Peter y Leif, 2007). Por lo general, la neurotoxicidad se manifiesta como un continuo de síntomas y efectos que dependen de la naturaleza del producto químico, de la dosis, de la duración de la exposición y de las características del individuo expuesto (WHO 1986; Peter y Leif, 2007).



La exposición a compuestos tóxicos puede afectar a diversos sistemas biológicos de diversas maneras, pero el sistema nervioso humano es especialmente vulnerable. Esto es debido a que este sistema está compuesto de una disposición compleja e integrada de compuestos químicos, electrofisiológicos y sistemas morfológicos. La exposición a sustancias tóxicas, puede interferir con la integridad del sistema nervioso, situación que puede resultar en la alteración de sus funciones y en casos graves, cambios patológicos irreversibles. Como ejemplo de éstos están los plaguicidas, los solventes orgánicos, los metales pesados y los gases nocivos (WHO, 1986). En el caso de los niños, la exposición a un sólo agente, puede presentar alteraciones en el aprendizaje y la conducta, dependiendo de la región del cerebro donde se estén llevando los procesos de neurodesarrollo en el momento de la exposición (Tellerias LC y Paris E., 2008)

Para evaluar los efectos ocasionados por la exposición a estas sustancias contaminantes se ha recurrido a la utilización de Baterías de Pruebas Neuroconductuales, para determinar el daño en la función cognitiva y psicomotora (Anger et al. 2000). Las baterías de pruebas neuroconductuales, incluyendo las recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (Anger et al. 2000), han sido utilizadas para evaluar el daño en la función cognoscitiva y psicomotora por la exposición a plaguicidas. Las pruebas comúnmente utilizadas son: Bayley Scales of Infant Development, Brazelton Neonatal Behavioral Assessment Scale, Neurobehavioral battery, the Kaufman Brief Intelligence test, Test Santa Ana, Stanford Binet copy, finger tapping, The Grooved pegboard test, The Verbal Cancellation test y Wechsler Intelligence Scale for Children (WISC), entre otras (Sagiv et al., 2012; Jodzio K and Biechowsk D., 2010; Eskenazi et al., 2006; Lezak et al., 2004; Ribas- Fito et al., 2003; Grandjean et al. 2001 Stewart et al., 2000; Ryan et al., 2000; Darvill et al., 2000). Estas pruebas evalúan el coeficiente intelectual, la memoria a corto plazo, la atención, procesos visoespaciales, motricidad, el lenguaje y otros aspectos de la función cognoscitiva. Dentro de estas pruebas la más ampliamente utilizada es la escala WISC, esta prueba está basada en las observaciones de David Wechsler sobre la inteligencia, la cual dividió en dos áreas principales: área verbal y área de ejecución (no-verbal) (Stewart et al., 2008). Esta escala constituye una de las pruebas de Inteligencia más conocidas y utilizadas por parte de los diferentes profesionales de la salud y educación infantil.



En la presente investigación aplicamos la versión estandarizada para la población Mexicana, que es el WISC-IV. La cual evalúa el Coeficiente Intelectual Total del niño (CIT) y el funcionamiento en las principales áreas específicas de la inteligencia, incluyendo memoria de trabajo y velocidad de procesamiento. Esta prueba es sensible a la exposición de compuestos neurotóxicos a bajas dosis, como está demostrado en los estudios de toxicidad del plomo en niños de 6 a 7 años de edad (Jusko et al., 2008; Chiodo et al., 2005).

La exposición a compuestos tóxicos ambientales provoca alteración de los procesos del neurodesarrollo y desórdenes, con consecuencias y cambios profundos y permanentes, e incapacidades perdurables de por vida con un gran costo familiar, social y económico (Tellerías LC y Paris E. 2008). Los trastornos del aprendizaje, de la conducta y del desarrollo en los niños son claramente el resultado de complejas interacciones entre factores ambientales (físicos, químicos, biológicos, psicológicos y sociales) y genéticos, durante los períodos vulnerables del desarrollo. La OMS establece que los problemas del aprendizaje pueden estar afectando entre un 5% y un 10% de los niños en edad escolar.

Algunos autores han reportado efectos por la exposición prenatal y ambiental a compuestos OC como el *p' p'* DDE; *p' p'* DDT y BPCs, encontrando una asociación con el déficit de desarrollo cognitivo y psicomotor (Rocha-Amador et al., 2009; Torres-Sanchez et al., 2007; Beard et al., 2006; Weiss et al., 2004; Ribas-Fito et al., 2003; Faroon et al, 2001). Mientras que otros autores no han encontrado una asociación entre la exposición a BPCs y DDE y la inteligencia (Gray et al., 2005; Darvill et al., 2002).

Existen muy pocas investigaciones con respecto a los efectos sobre el SNC debido a la exposición a plaguicidas en niños, los estudios existentes han demostrado que los efectos del DDT en útero provoca en los niños una disminución en las habilidades verbales, de memoria y de atención (Jurewicz and Hanke, 2008, Eskenazi et al., 2006).

Un estudio realizado con niños Yaquis en el norte de México, expuestos a plaguicidas, encontró una disminución en el desarrollo motor, en las habilidades de coordinación ojo-mano, en la memoria y en el lenguaje, como una disminución en la capacidad intelectual (Guillette et al., 1998). Ribas (2003) evaluó la asociación entre la exposición a OCs y la lactancia materna, sobre el desarrollo neuroconductual de



niños de un año de edad, se estudió la relación entre el índice de desarrollo mental, índice de desarrollo psicomotor, y los niveles de OC medidos en suero del cordón umbilical, encontrando que la exposición a organoclorados afecta negativamente al desarrollo neurológico y conductual infantil, aunque la lactancia materna prolongada puede ayudar a contrarrestar estos efectos.

Respecto a los plaguicidas OP, un estudio realizado en Mississippi y Ohio sobre los efectos neuroconductuales en niños expuestos a OP, encontraron alteraciones de la memoria de trabajo y la atención, categorizando los niveles de exposición ambiental, respecto a los metabolitos de los OP, lo que ayudó a relacionar la exposición a bajos niveles de exposición y los efectos (Ruckartz PZ et al., 2004).

Rauh et al. (2009) examinó la relación entre los niveles sanguíneos maternos del plaguicida dietilfosfato durante el embarazo y el desarrollo del niño a los tres años de edad utilizando la Escala Bayley de desarrollo infantil, encontrando que los niños con altos niveles de clorpirifos en cordón umbilical presentaron más problemas en el desarrollo psicomotor y mental. Esta misma asociación fue observada en el estudio de cohorte de los hijos de 24 meses de edad de trabajadores agrícolas en el Valle de Salinas, California (Eskenazi et al., 2007).

Con respecto al plomo, algunos estudios epidemiológicos alrededor del mundo, han demostrado déficit en el comportamiento y cognitivo en ausencia de síntomas a concentraciones sanguíneas de este metal considerados inofensivas (Needleman et al., 2004). La mayoría de los estudios reportan importantes efectos en el funcionamiento neurológico debido a los niveles de plomo en sangre mayores a 10  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . Entre los principales efectos reportados, se encuentran disminución del Coeficiente Intelectual (CI), problemas conductuales, alteraciones de la memoria, problemas psicomotores y afectaciones graves en el rendimiento escolar (Lanphear et al., 2005; Canfield et al., 2003; Lanphear et al., 2000). Estos estudios han encontrado que la pendiente de la asociación inversa entre el plomo y el CI es más pronunciada a concentraciones sanguíneas menores a 7.0  $\mu\text{g}/\text{dL}$ .

Lanphear et al. (2005) evaluaron una muestra representativa de niños y adolescentes estadounidenses de 6 a 16 años de edad y encontraron una asociación inversa entre los niveles de plomo en sangre y el



desempeño académico a concentraciones menores a 5  $\mu\text{g}/\text{dL}$  de este metal. Resultados similares fueron reportados en el estudio realizado por Miranda et al. (2007), reportando que niveles de plomo en sangre menores a 5  $\mu\text{g}/\text{dL}$  medidos en niños de cuarto grado, estuvo asociado con una disminución en las escalas de matemáticas y lectura.

Es muy importante destacar que los cambios neurológicos subclínicos representan efectos perjudiciales para la salud infantil, debido a que no existen ajustes homeostáticos o fisiológicos por la exposición de plaguicidas. Por lo que es muy importante realizar estudios de los posibles efectos a la salud por la exposición a estas sustancias químicas, ya que el desarrollo de los procesos del conocimiento a partir de las imágenes suministradas por los órganos sensoriales (gnosias), las habilidades motoras adquiridas (praxias), la atención, el lenguaje, la memoria y la percepción son la clave de un buen desarrollo funcional (Navarro et al., 2001).



### III. Justificación

La falta de conocimiento sobre los daños a la salud en poblaciones infantiles ocasionados por la exposición crónica a plaguicidas organoclorados y organofosforados, remarca la necesidad de realizar investigaciones sobre la caracterización toxicológica y la evaluación epidemiológica que permitan conocer la magnitud de esta problemática (Ortega et al., 1994). En México, investigaciones realizadas en el valle de Mexicali, demostraron que la población rural es la más afectada, sobre todo aquella que vive cerca de las parcelas, en viviendas carentes de servicios básicos (Salas et al., 2000), con problemas de analfabetismo, desnutrición y continua exposición a plaguicidas durante su aplicación, o por consumo de productos asperjados recientemente, como el caso de las hortalizas o por el contacto con agua contaminada (Salas et al., 2000). En México, la mayor parte de los estudios sobre los efectos de los plaguicidas en la salud se han enfocado a exposiciones agudas. Esto se refleja en la instrumentación de programas de vigilancia epidemiológica para casos de intoxicación a estos contaminantes (Bejarano et al., 2012)

Las sustancias neurotóxicas interfieren directa o indirectamente en los procesos del neurodesarrollo, directamente aceleran o retardan los procesos y alteran la formación de mielina, potenciándose con las deficiencias nutricionales en el período del desarrollo y el lugar del cerebro donde se estén llevando estos los procesos. En este sentido, hay que tener en cuenta que existen períodos críticos de vulnerabilidad donde la exposición puede tener impacto sobre la función cerebral de por vida. De la exposición al mismo agente tóxico pueden resultar efectos diferentes sobre el aprendizaje y la conducta; esto depende de la acción indirecta sobre la función placentaria y de si los agentes tóxicos actúan como disruptores endocrinos y alteran la acción o metabolismo de las hormonas (Tellerias et al., 2008; Pohl et al., 2008; Mielzynska, 2006).

Es importante mencionar sobre la necesidad de identificar los efectos potenciales en salud, por exposiciones individuales y múltiples a contaminantes ambientales. Y que son pocos los estudios sobre salud y desarrollo infantil que evalúan el efecto potencial de la interacción entre dos o más contaminantes (Bellinger, 2008; Mielzynska, 2006; Pohl, 2008), por lo que realizar investigaciones



donde se evalúe la asociación entre las exposiciones ambientales y las alteraciones en el desarrollo infantil es un reto complejo que debe abordarse sin demora.

La evaluación Neurotoxicológica permite conocer las capacidades de producir alteraciones fisiológicas y neurológicas por la exposición a compuestos tóxicos. La exposición crónica a bajas dosis, puede producir alteraciones neurotóxicas que se expresan inicialmente en cambios sutiles de la función psicológica y en el comportamiento del individuo (Stewart AJ y Cater J., 2009; Tellerias LC y Parías E., 2008; Bjørling-Poulsen et al., 2008; Ortega et al., 2005). El diagnóstico de estas alteraciones en estadios tempranos resulta de gran importancia para la salud de la población infantil, evitando con ello la aparición de efectos negativos a nivel conductual y de personalidad. Estos efectos se pueden evaluar mediante la aplicación de baterías neuropsicológicas, las cuales permiten realizar un diagnóstico temprano y completo, mediante la evaluación de los déficits funcionales antes de que se presenten las manifestaciones clínica, es decir, permiten la evaluación de daños en una etapa reversible, lo que daría la capacidad de realizar acciones preventivas antes de que el daño sobre el SNC sea irreversible.

Por lo anteriormente expuesto y atendiendo a la necesidad de evaluar la exposición a mezclas de compuestos tóxicos en la población infantil, en el presente trabajo se realizó un monitoreo biológico mediante el análisis de biomarcadores de exposición para plomo, compuestos organoclorados (14 plaguicidas OCs y 14 BPCs) y 5 metabolitos alquilfosfatos de los plaguicidas organofosforados en muestras de sangre y orina respectivamente, con el objetivo de evaluar la exposición ambiental a esta mezcla de contaminantes y sus posibles efectos neurológicos en niños de 6 a 14 años de edad que viven en la comunidad agrícola de El Refugio, municipio de Cd. Fernandez, San Luis Potosí.



## **IV. Objetivo General**

Evaluar el efecto neurocognitivo por la exposición a una mezcla de contaminantes ambientales, compuestos Organoclorados (POCs y BPCs), Organofosforados (OFs) y Plomo en la población infantil que vive en la zona agrícola de El Refugio, Cd. Fernández, SLP.

### **4.1 Objetivos Específicos**

**4.1.1** Estandarización y validación del método analítico y cromatográfico para la cuantificación en plasma de 14 plaguicidas organoclorados y 14 congéneres de BPCs.

**4.1.2** Estandarización y validación del método analítico y cromatográfico para la cuantificación en orina de 5 metabolitos alquilfosfatos (DMTP, DMDTP, DEP, DETP, DEDTP) de los plaguicidas organofosforados.

**4.1.3** Cuantificación de los compuestos organoclorados (14 plaguicidas OCs y 14 BPC) en plasma de niños que hayan nacido y vivan en la comunidad de El Refugio.

**4.1.4** Cuantificación los metabolitos alquilfosfatos (DMTP, DMDTP, DEP, DETP, DEDTP) en orina de niños que hayan nacido y vivan en la comunidad de El Refugio.

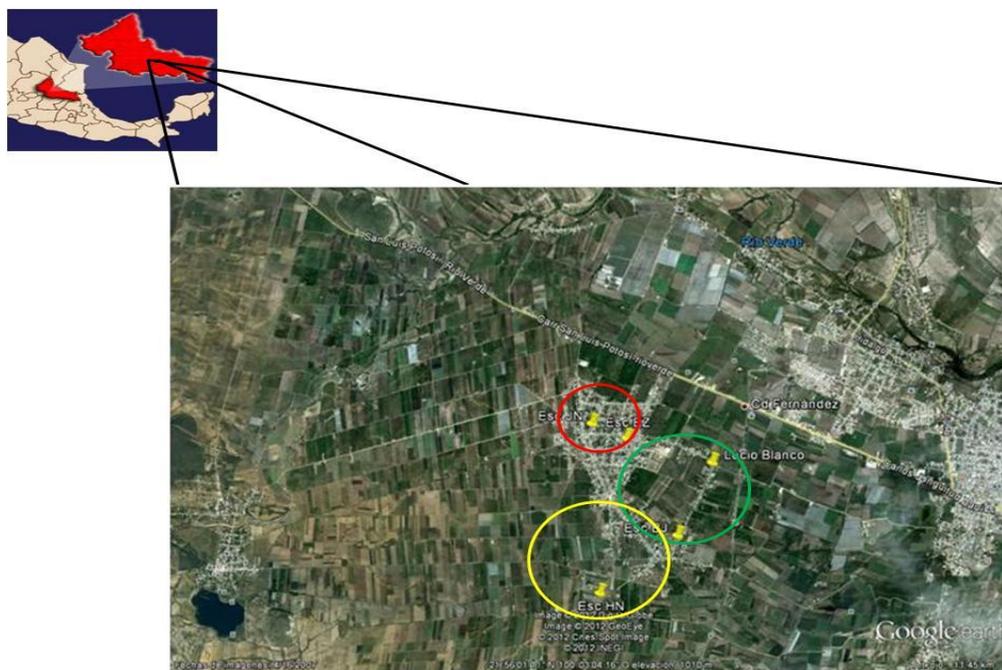
**4.1.5** Determinar las concentraciones de Plomo por el método de Espectrofotometría de Absorción Atómica, en sangre de niños que hayan nacido y vivan en la comunidad de El Refugio.

**4.1.6** Evaluación de los efectos neurocognitivos en la población infantil, mediante la aplicación de las pruebas de la Escala Wechsler de Inteligencia para niños (WISC-IV), la Figura Compleja de Rey-Osterrieth (FCRO) y el Tablero de Clavijas y Ranuras (Grooved Pegboard).

## V. Metodología

### 5.1 Área de Estudio.

El presente estudio se llevó a cabo en la localidad de El Refugio perteneciente al Municipio de Ciudad Fernández, San Luis Potosí; localizada en la zona media del estado (W: 100°22'19"; N22°01'50"), a una altura de 1280 metros sobre el nivel del mar (Fig. 4). Su principal actividad económica es la agricultura de irrigación por goteo, la aplicación de agroquímicos es amplia y diversa (organofosforados, organoclorados, piretroides, carbamatos y herbicidas, entre otros). En la región se cultiva principalmente en dos ciclos, durante el ciclo primavera-verano cultivos perennes como los cítricos y alfalfa, además de maíz, frijol, chile, jitomate y tomate; para el ciclo otoño-invierno, solamente conservan los perennes y el maíz. La segunda actividad económica de la población es la elaboración de ladrillos, para lo cual utilizan diversos materiales de combustión desde biomasa, llantas, hasta la quema de aceites.



**Figura 4.** Localidad de El Refugio situada en la zona Agrícola de Ciudad Fernández, San Luis Potosí, México. Zona I centro (rojo): las viviendas como las escuelas están lejos de los campos agrícolas, Zona II parte media (verde): las viviendas y las escuelas se encuentra a medio kilómetro de los campos agrícolas y zona III periferia (amarillo): muy cerca de los campos de cultivo.



## 5.2 Selección de la Población de Estudio

La población de estudio estuvo conformada por 140 niños de 7 a 14 años de edad. La comunidad fue dividida en 3 zonas de acuerdo a la distribución de los campos agrícolas: zona I denominada como centro: debido a que tanto las viviendas como las escuelas están lejos de los campos agrícolas; zona II parte media: las viviendas y las escuelas se encuentra a medio kilómetro de los campos agrícolas y zona III periferia: muy cerca de los campos de cultivo (Fig. 4). En cada una de estas zonas, se encuentran ubicadas dos escuelas Primarias Públicas. De cada una de ellas fueron seleccionados al azar 25 alumnos de ambos sexos, considerando los siguientes criterios de inclusión: clínicamente sanos, con una antigüedad en la comunidad de al menos 5 años y que los padres estuvieran de acuerdo en que su hijo participara en el estudio, por medio de la firma de un consentimiento informado.

Los niños con enfermedad neurológica diagnosticada por un médico y/o reportado por algunos de los padres fueron excluidos del estudio. Se aplicó a las madres de los niños un cuestionario, con el cual se recabo información sobre las principales actividades de los padres, nivel socioeconómico, ocupación, uso y frecuencia de aplicación de plaguicidas, exposición residencial y antecedente de intoxicación por el uso de estos compuestos (anexo I). Para la generación de la variable socioeconómica, se realizó en base al índice de Bronfman (Bronfman, 1988), considerando las siguientes variables a) material del piso de la vivienda; b) disponibilidad de agua entubada; c) infraestructura para la eliminación de excretas; d) número de personas que habitan la vivienda; e) número de cuartos; y f) escolaridad del jefe(a) de familia. De la información obtenida se generó una base de datos por zona. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

## 5.3 Toma de muestras biológicas

El muestreo se realizó durante la primera semana del ciclo de cultivo primavera-verano. Se colectaron en ayunas muestras de sangre de los niños participantes, por punción de la vena cubital, empleando tubos con vacío y heparina como anticoagulante, utilizando siempre material nuevo, estéril y personal especializado. El plasma se obtuvo por centrifugación a 3000 rpm y fue transferido con pipetas pasteur (previamente lavadas con hexano) a viales de vidrio color ámbar debidamente etiquetados para su posterior identificación. Las muestras fueron trasladadas en contenedores especiales al Laboratorio de



Género, Salud y Ambiente de la Facultad de Medicina de la UASLP y almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

Debido a que la exposición a plaguicidas OF's ocurre por múltiples rutas, además de que su proceso de metabolismo y excreción ocurre dentro de 24-48 horas de exposición (OMS 1996) y aunado a la variabilidad existente entre los individuos, hace que la evaluación de la exposición a compuestos OF's sea un proceso relativamente nuevo y una técnica difícil. Por lo que es necesario entender la cinética de excreción de los metabolitos AF para poder determinar el tiempo óptimo de colecta de orina y el número de muestras necesarias para poder detectar y cuantificar estos metabolitos (Griffin et al. 1999). No existe una metodología recomendada como tal para la realización de los muestreos de orina para la cuantificación de estos metabolitos, ya que existen diferencias en la literatura con respecto al tiempo y número de muestro a realizarse, hay quienes recomiendan realizar una única toma de muestra, colectando la primera orina de la mañana otros recomienda realizar muestreo cada 12, 24 o 48 hrs. posteriores a la exposición. (Eskenazi et al. 2008; Needham L.L 2005; William et al., 2005; Wessels, et al, 2003). Por lo que en el presente estudio se colecto primera orina de la mañana en un frasco de boca ancha y debidamente etiquetado, durante la primera semana del ciclo agrícola de la zona (marzo-abril), colectándolas las muestras cada 24 hrs por 5 días. Las muestras fueron inmediatamente refrigeradas y luego congeladas dentro de las 4 horas posteriores a la colecta a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

#### **5.4 Validación del método instrumental**

La validación de un método analítico se define como el establecimiento de la evidencia documental de que un procedimiento analítico conducirá, con un alto grado de seguridad a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos. Con la finalidad de establecer la confiabilidad de los resultados obtenidos en la cuantificación de los niveles de compuestos organoclorados (Plaguicidas OCs y BPCs) en plasma y los metabolitos de los plaguicidas organofosforados, alquilfosfatos (AF) en orina, se realizó la validación y estandarización del método instrumental y analítico correspondiente a cada grupo de compuestos. Para ello se determinaron los siguientes parámetros: selectividad, repetibilidad, reproducibilidad, linealidad y porcentaje de recobro.



Se determinó los límites de detección (LD) y el límite de cuantificación (LC) para cada uno de los analitos. Todo el procedimiento se encuentra detallado en los anexos II y III

### **5.5 Metodología analítica para la cuantificación de los compuestos organoclorados (OCs).**

La determinación de los compuestos organoclorados en las muestras de plasma, se realizó de acuerdo al método desarrollado por el Instituto Nacional de Salud Pública de Québec, Canadá, el cual permitió analizar 14 diferentes insecticidas organoclorados (DDT, DDE, Aldrín, Heptaclor epoxido, alfa Clordano, gama Clordano, Cis Nonaclor, Trans Nonaclor, Oxyclordano, hexaclorobenceno, alfa HCH, Beta HCH, Gama HCH y Mirex) y 15 congéneres de BPCs (28, 52, 44, 101, 99, 118, 153, 105, 138, 187, 183, 128, 156, 180 y 170). En la figura 5 se muestra el esquema de la metodología de extracción de los compuestos organoclorados.

A 2 mL de plasma se le adicionaron 2 mL de alcohol desnaturalizado, para desnaturalizar las proteínas. Posteriormente se agregó una mezcla de Sulfato de Amonio (2 mL) y Hexano (6 mL), se centrifugó 2300 rpm por 8 min y la fase orgánica se traspasó a otro tubo. El extracto se pasó a una columna de florisil SPE (1000 mg/6 mL) previamente acondicionada con un volumen de diclorometano, uno de acetona y uno de hexano. Las muestras se eluyen con un volumen de columna con una mezcla de diclorometano: hexano 25 % (x 2). El eluato se concentró a un volumen aproximado de 100 µL con corriente de nitrógeno y a 37°C. La muestra se analizó por Cromatografía de Gases-Masas empleando un cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 6890 con automuestreador y un inyector split/splitless, operando en modo splitless pulsado, la temperatura del inyector fué de 270°C, con una presión de 50 psi. El análisis cuantitativo se llevó a cabo por medio del monitoreo de ion selectivo, utilizando un espectrómetro de masas modelo HP 5973. Una columna HP5-MS J & W Cientific de 60 m DI, 0.25 ml, de 0.25 µm de película, con una temperatura inicial del horno de 100°C/2 min y una rampa de temperatura con incrementos de: 20°C/min hasta 200°C, 10°C/min hasta 245°C /10 min, 4°C/min hasta 280°C/5 min, 30°C/min hasta 310°C /5 min. La temperatura del Espectrómetro de masas 280°C. Las concentraciones obtenidas fueron ajustadas por los niveles de lípidos determinados por un método colorimétrico (Woodman y Price, 1972).

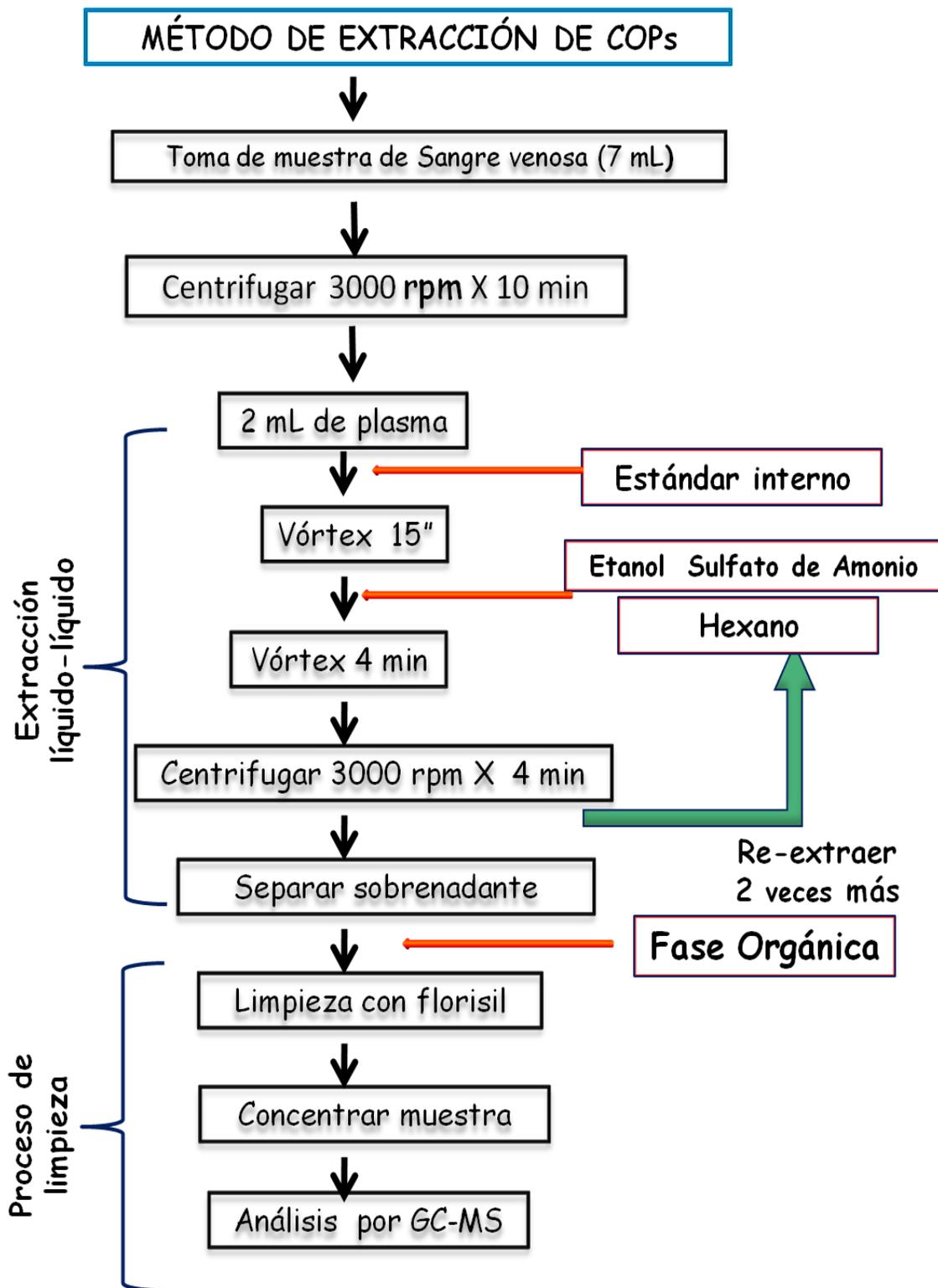


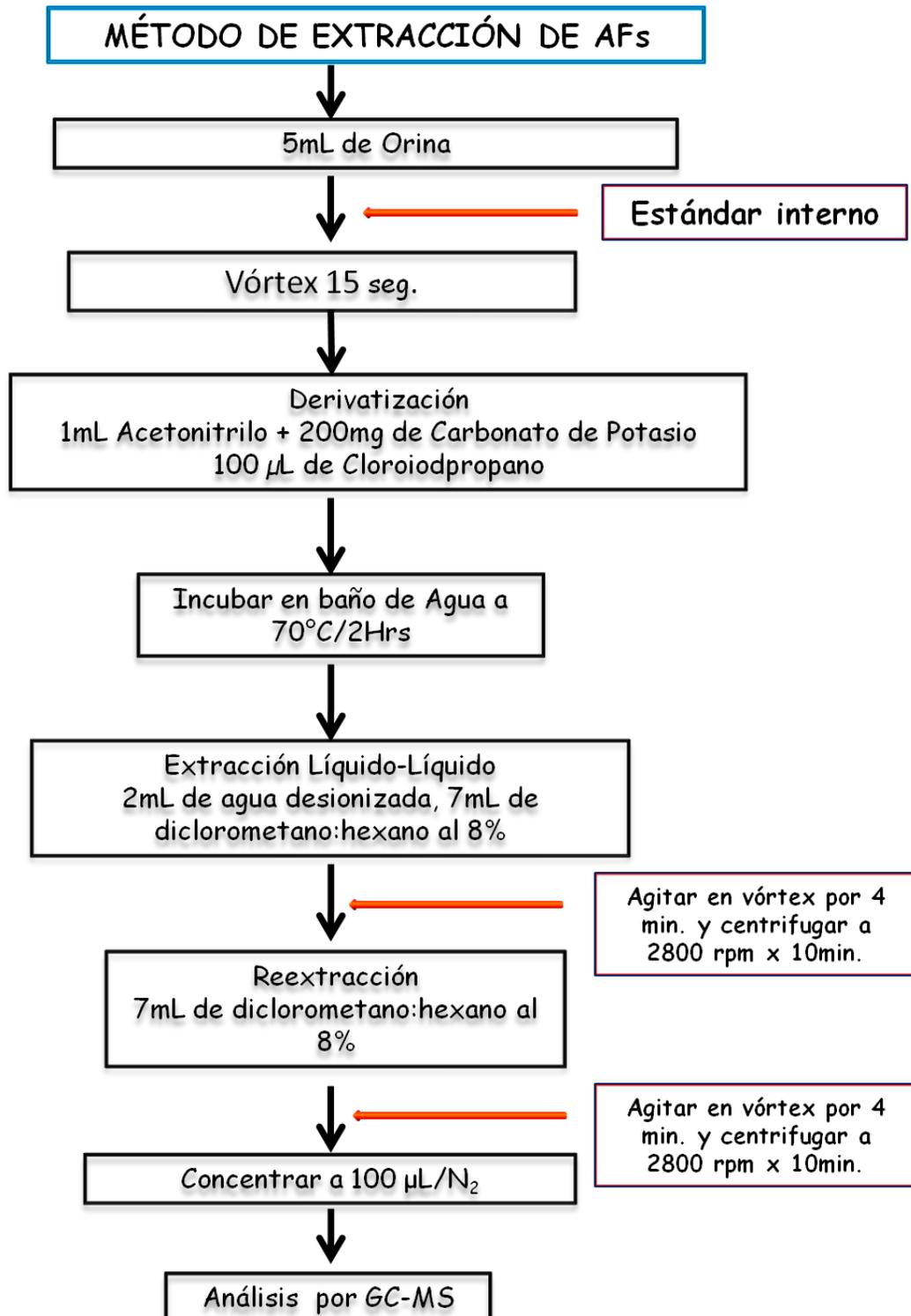
Figura 5. Esquema del método de extracción para la cuantificación de Compuestos Organoclorados en plasma. Estándar interno Endrin C<sup>13</sup> (25 ng/mL) y PCB141C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



## **5.6 Metodología analítica para la cuantificación de metabolitos de Organofosforados (OFs) Alquilfosfatos (AF).**

Se identificaron y cuantificaron 5 de los 6 principales metabolitos alquilfosfatos (AF) de los OF, en las muestras de orina de los niños participantes: dos metabolitos dimetilfosfatos (DM): [dimetiltiofosfato (DMTP) y dimetilditiofosfatos (DMDTP)]; y tres metabolitos dietilfosfatos (DE): [dietilfosfato (DEP), dietiltiofosfato (DETP) y dietilditiofosfatos (DEDTP)]. El método empleado fue el desarrollado por Valcke et al. (2006) con algunas modificaciones. En la figura 6 se muestra el esquema de la metodología de extracción de los metabolitos alquilfosfatos.

A 500  $\mu\text{L}$  de orina colocados en un tubo de vidrio de 15 mL con tapa de rosca y septa de teflón, se adicionó un estándar isotópico deuterado análogo de los alquilfosfatos (DETPd<sup>10</sup>, 25 ng/mL). La derivatización se llevó a cabo adicionando 0.8 mL de acetronitrilo, 200 mg de carbonato de potasio anhidro y 10  $\mu\text{L}$  de 1-3 Iodo-cloropropano, se mezcló en vórtex y las muestras se incubaron en baño de agua a 70°C por 2 horas. Posteriormente se colocaron en agua fría para detener la reacción. El derivado fue extraído con 2 mL de agua desionizada y 7 mL de diclorometano-hexano al 8%, con agitación en vórtex por 2 min y se centrifugó a velocidad máxima por 10 min. La fase orgánica se transfirió a tubos limpios previamente etiquetados, la fase acuosa se re-extrajo con 7 mL de diclorometano-hexano al 8%. La fase orgánica se evaporó bajo corriente de nitrógeno a 25°C hasta un volumen de 0.1 mL y se transfirió a un vial para su posterior inyección en el sistema CG-MS. Las muestras fueron analizadas en un cromatógrafo de gases (CG) marca Hewlett-Packard (HP) modelo 6890 con automuestreador acoplado a un espectrómetro de masas HP modelo 5973. El CG estaba equipado con una columna capilar HP-5MS, de 30 metros, 0.25 mm DI. Modo de inyección splitless, temperatura del inyector de 250°C, con una presión de 8.22 psi, se empleo helio como gas acarreador, con un flujo de 20 ml/min. Temperatura inicial del horno de 60°C durante 1 min, con una rampa de temperatura de 15°C/min, hasta 135°C por 2 min, 2.5°C/min, hasta 175°C por 2 min, 25°/min hasta 290° por 7 min. Temperatura de la línea de transferencia de 250°C.





**Figura 6.** Esquema del método de extracción para la cuantificación de los metabolitos alquilfosfatos (AF) en orina. Estándar interno DETPd<sup>10</sup> (25 ng/mL).

### **5.7 Cuantificación de Plomo en Sangre (PbS).**

En el presente estudio se consideró como un factor confusor la presencia de plomo en sangre, debido a que existe una gran cantidad de reportes en la literatura en modelos experimentales y en población humana que demuestran su efecto neurotóxico, sobre todo asociado con déficit intelectual (Min MO et al., 2009; Jusko et al., 2007; Surkan et al., 2007; Tellez-Rojo et al., 2006; Schaas et al., 2006; Belliniger and Needlman. 2003; Carpenter et al., 2001).

Se empleó el método descrito por Subramanian (1987). 100 µL de sangre completa se mezclaron con 400 µL de solución de tritón modificador (Tritón-X 100 al 0.5%, fosfato de amonio al 0.5% y HNO<sub>3</sub> al 0.2%). La cuantificación de PbS se realizó en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica con horno de grafito Perkin-Elmer modelo 3110. Como control de calidad se emplearon muestras de sangre del Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC, por sus siglas en inglés).

### **5.8 Cuantificación de Lípidos Totales por un Método Colorimétrico**

Para la cuantificación de los Lípidos Totales en las muestras de plasma, se utilizó un Kit comercial de la marca Randox®. El principio de esta prueba consiste en que los lípidos contenidos en las muestras de plasmas reaccionan con ácido sulfúrico, ácido fosfórico y vanilina para formar un complejo de color rosa.

Se utilizaron tres tubos de ensayo marcados como Blanco, Patrón y Muestra, al tubo marcado como patrón se le adicionaron 25 µl de la solución patrón de Lípidos totales (10 g/L) proporcionada por el Kit, al tubo marcado como muestra se le adicionaron 50 µl de plasma, enseguida a los tres tubos se les agregó 1000 µl de ácido sulfúrico y se mezclaron por inversión, se incubaron en baño de agua hirviendo durante 10 min. Después de ese tiempo los tubos se enfriaron en un baño de agua fría y se transfirieron a tubos de ensayo limpios.



De las soluciones anteriores se tomaron 50  $\mu$ l y se mezclaron con 1250  $\mu$ l de la Solución 2 (reactivo colorante) del Kit (ácido fosfórico a una concentración de 11.7 mol/L más vanilina a una concentración de 13 nmol/L). Se mezcló y se dejó reposar durante 30 min a una temperatura de 20-25°C. Las absorbancias de la muestra y del patrón se leyeron frente al blanco de reactivo, a una longitud de onda de 546 nm (530-560), con una cubeta de 1 cm de espesor, utilizando un espectrofotómetro marca SPECTRONIC 1001 PLUS.

## 5.9 Examen Físico-Clínico

A los niños participantes en el estudio se les realizó un examen físico-clínico, por médicos especialistas en Neuropediatría, con la finalidad de identificar signos neurológicos blandos y evaluar el desarrollo neurológico de los menores. Además durante esta evaluación se recabaron los datos de talla, peso y edad de cada niño, con esta información se calcularon los parámetros de talla para la edad (T/E), peso para la edad (P/E) e Índice de Masa Corporal (IMC), transformados a *z-score*, para ser empleados como indicadores de desnutrición crónica y aguda (WHO, 1986). Estos parámetros se calcularon con el programa NutStat de EPI-info™ versión 3.4.3, el cual utiliza como referencia las tablas del Centro Nacional de Estadística de Salud de los Estados Unidos (NCHS) (Dibley et al, 1987), que son las recomendadas por el CDC y la OMS.

## 5.10 Evaluación Neuropsicológica

A las madres de los niños se les pidió responder un cuestionario que tenía como finalidad la evaluación del desarrollo de su hijo (factores pre, peri y postnatales, de desarrollo cognitivo, escolar, familiar y social). Para la evaluación intelectual de los niños se empleó una batería de pruebas neuropsicológicas que fue diseñada específicamente para este estudio. Las áreas que se evaluaron fueron: *función intelectual, función motora, funcionamiento perceptual, memoria verbal y función ejecutiva*. La evaluación intelectual fue llevada a cabo por 4 Psicólogos, los cuales fueron entrenados y estandarizados previamente. En el anexo IV se encuentran descritos los procedimientos de aplicación y calificación de las pruebas aplicadas.



### **5.10.1 Escala Weschler de Inteligencia para Niños WISC-IV.**

Para evaluar la función cognitiva, se aplicó la prueba del WISC-IV (4<sup>a</sup> ed.). Este es un instrumento clínico de aplicación individual que mide la capacidad cognoscitiva de niños desde los 6 años 0 meses hasta los 16 años 11 meses de edad.

La escala Wechsler es una de las pruebas de Inteligencia más conocidas y utilizadas por parte de los diferentes profesionales de la salud y educación infantil. El WISC-IV evalúa el Coeficiente Intelectual Total del niño (CIT) y su funcionamiento en las principales áreas específicas de la inteligencia, incluyendo memoria de trabajo y velocidad de procesamiento. El WISC-IV proporciona cinco puntuaciones compuestas a partir de la ejecución de 10 pruebas principales y 5 optativas, proporcionando un CI total para representar la capacidad cognoscitiva general del niño y cuatro puntajes adicionales para representar el desempeño del niño en dominios independientes del funcionamiento cognoscitivo: El Índice de Comprensión Verbal (ICV), es una medida de la formación del concepto verbal y un buen predictor del rendimiento escolar; el Índice de Memoria de Trabajo (IMT) el cual evalúa la habilidad del niño para memorizar y retener nueva información, concentración y manipulación de la información; el Índice de Razonamiento Perceptual (IRP) mide la fluidez del razonamiento no verbal; y el Índice de Velocidad de Procesamiento (IVP), este índice evalúa la habilidad de la atención sostenida, discriminación y el ordenamiento de manera secuencial de la información visual; y la escala del Coeficiente Intelectual Total (CIT), el cual es una escala compuesta de la combinación de los cuatro índices.

Los puntajes obtenidos fueron normalizados de acuerdo a los valores normativos de una población Mexicana, siendo el intervalo esperado en cada una de las subpruebas, así como en los índices y CI total de:  $10 \pm 12$  y  $100 \pm 10$  puntos respectivamente, entre mayor sea el puntaje, mayor será el desarrollo de la función cognitiva y viceversa (Wechsler, 2007).



### **5.10.2 Figura Compleja de Rey - Osterrieth (FCRO).**

La figura compleja de Rey es un instrumento utilizado por los investigadores y los Psicólogos Clínicos para evaluar el funcionamiento neuropsicológico. Fue publicada en 1942 por el neuropsicólogo suizo André Rey, quien la diseñó para investigar la organización y la memoria visual de los pacientes con daño cerebral (Lezak et al., 1983). Es un estímulo compuesto de 18 unidades perceptuales organizadas alrededor de un rectángulo de base, dividido en 8 segmentos iguales por una línea horizontal y otra vertical, intersectadas por dos líneas diagonales, incluyendo una gran variedad de estímulos internos y externos (Galindo et al., 1996).

El procedimiento para la ejecución de esta prueba consistió en pedirle al niño que realizara dos tipos de tareas: en primer lugar, se le indicó que copiara con el modelo a la vista a mano utilizando distintos colores y sin límite de tiempo (Fase de Copia). Después de transcurridos 5 min y sin previo aviso, se le pidió al niño que dibujara la figura sin tenerla a la vista y sin recibir ninguna ayuda verbal que le permitiera identificar los elementos que la integran (Fase de Reproducción de Memoria). De esta manera se obtuvieron dos mediciones de la ejecución del niño; las cuales se calificaron por separado, las cuales fueron calificadas e interpretaron de acuerdo con los estándares psicométricos y cualitativos mexicanos (Castro et al., 1999; Galindo et al., 1996).

La primera que es la copia de la figura, la cual refleja el grado de precisión de la función viso-constructiva y la segunda que es la realización de la figura de memoria, evalúa la cantidad y calidad de la información original retenida en la memoria espacial. Cada uno de estos intentos se puntúa sobre una escala validada que oscila desde un mínimo de 0 a un máximo de 36 puntos (normalidad). La puntuación media de un adulto es de 32 puntos (Rey, 1999). En el anexo 4 se presenta la figura y la estrategia de calificación.

### **5.10.3 Tablero de clavijas y ranuras (Grooved Pegboard).**

Esta prueba evalúa la destreza manual, los movimientos finos de la mano, la coordinación y la percepción. Requiere de una coordinación motora-visual compleja y es de gran ayuda para evaluar



daños cerebrales laterales. Consiste en colocar 25 clavijas en los orificios de un tablero lo más rápido posible. Las clavijas están diseñadas de forma particular y deben ser giradas para ponerse en los orificios. La prueba se hace primero con la mano dominante y luego con la no dominante. Para cada mano se anota el tiempo en segundos requeridos por el niño para completar la prueba. En el anexo 4, se presenta la prueba y la estrategia de calificación.

## **5. 11. Análisis estadístico**

Se generó una base de datos incluyendo los resultados de los diferentes componentes del estudio: niveles de los biomarcadores de exposición analizados, información obtenida por el cuestionario, mediciones antropométricas y la evaluación neuropsicológica de cada uno de los niños participantes.

Los niveles de exposición de los metabolitos de los OF (alquilfosfatos) en el presente estudio, se presentan como el promedio de cada uno de los metabolitos obtenido en las cinco muestras de orina analizadas por niños. Se llevó a cabo un análisis exploratorio de pruebas de normalidad, (frecuencias, media, desviación estándar, mínimo y máximo) para las variables sociodemográficas, nutricionales, niveles de contaminantes en plasma y orina (OCs, BPCs, PbS y los metabolitos de los OF) y pruebas neuropsicológicas, para describir las características generales de la población de estudio. Se calcularon la media geométrica y percentiles para describir los niveles de los biomarcadores de exposición, los cuales fueron transformados a logaritmo para su normalización y posterior análisis estadístico.

A partir de los datos obtenidos del cuestionario, se construyó una variable para indicar el nivel socioeconómico de la familia con base en el índice de Bronfman (Bronfman, 1988), empleando las siguientes variables: a) material del piso de la vivienda; b) disponibilidad de agua entubada; c) infraestructura para la eliminación de excretas; d) número de personas que habitan la vivienda; e) número de cuartos; y f) escolaridad del jefe(a) de familia.

Para evaluar las diferencias entre los niños seleccionados de las 3 zonas, se empleó un análisis de varianza (Kruskal-Wallis) para datos continuos y pruebas de comparación de proporciones (prueba exacta de Fisher) para datos categóricos. Las variables de respuesta fueron los resultados obtenidos en cada una de las pruebas aplicadas para la evaluación neuropsicológica.



Los resultados de la prueba de FCRO y del Tablero de Clavijas y ranuras, fueron transformados a valores  $z$  (anexo V), con la finalidad de comparar los resultados obtenidos con valores de referencia para los diferentes grupos de edad y sexo (Trites et al., 1977; Roselli-Cock et al., 2004; Cortes et al., 1997). En el anexo 5 se presenta el cálculo del valor  $z$ . Se elaboraron curvas de distribución normal para observar la distribución de los datos y determinar el porcentaje de niños con puntajes menores a  $-1DE$  y/o a  $-2DE$ .

Se realizó un análisis bivariado (t-student,  $\chi^2$ -cuadrada) y multivariado (ANOVA y pos Hoc) para evaluar la diferencia entre las zonas de estudio. Finalmente para determinar la asociación entre los niveles de OCs, BPCs, AF y PbS y los resultados de las pruebas neuropsicológicas se calcularon correlaciones parciales y ajustadas para cada contaminante. La influencia de diferentes factores confusores de la asociación fue evaluada durante el análisis.

Las variables que fueron significativas en las correlaciones, se consideraron para incluirlas en los modelos lineales de efectos aleatorios, para explorar la asociación entre las diferentes variables de exposición y los resultados de las pruebas neuropsicológicas (Merlo et al., 2005). Para ello se consideraron los biomarcadores de exposición que presentaron más del 50% de las muestras con niveles detectables, de acuerdo a lo descrito por el método de la EPA. (2000) y Chen et al. (2001); ya que la inclusión de datos no detectables podría reducir el poder de análisis y no producir resultados concluyentes.

Se emplearon modelos lineales de efectos aleatorios para explorar la asociación entre las diferentes variables de exposición y las variables de respuesta, debido a que este tipo de modelos toma en cuenta la agrupación (*clustered data en inglés*) de los niños por asistir a una misma escuela y vivir en una misma zona de la comunidad (Merlo, 2005). Los efectos fijos en estos modelos se interpretan tal como los coeficientes en una regresión lineal. Los efectos aleatorios modelan la varianza a nivel individual y grupal e indican si hay una agrupación significativa a nivel grupal, en este caso las escuelas (Laird y Ware, 1982; Merlo et al, 2005). Los análisis se realizaron con el paquete estadístico Stata 11.0 y SPSS versión 16.0.



## VI. Resultados

### 6.1 Validación y estandarización del método

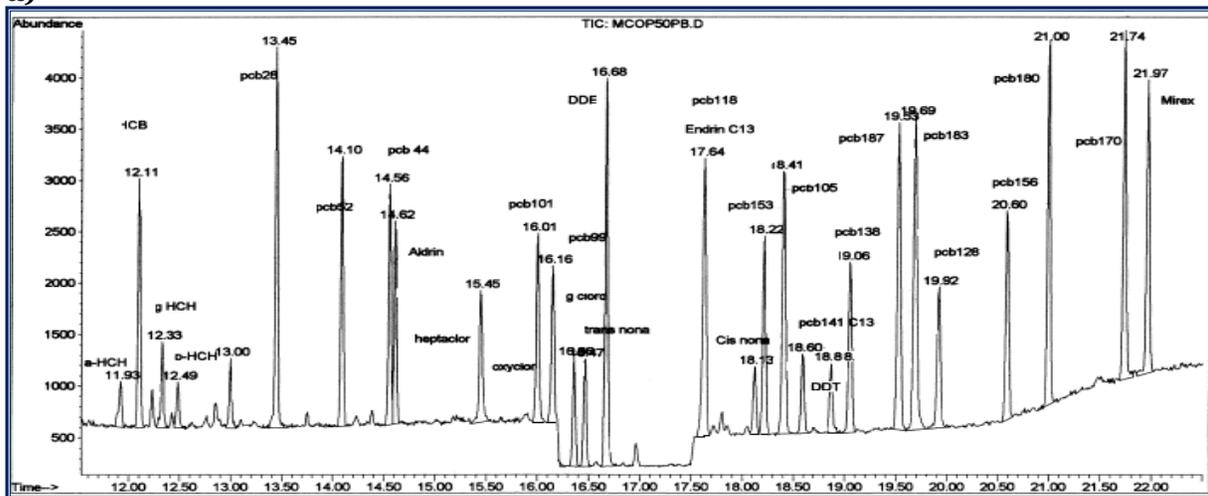
La identificación de cada uno de los analitos de los compuestos organoclorados (14 plaguicidas OC y 15 BPCs) y organofosforados (metabolitos AF), se realizó por Cromatografía de Gases acoplado a un Detector de Masas. La cuantificación se realizó interpolando la respuesta obtenida (área bajo la curva) en una curva de calibración generada a partir de cinco concentraciones diferentes de cada uno de los analitos en plasma y orina, utilizando el método de estándar interno (Endrin C<sup>13</sup> para plaguicidas organoclorados, el BPC141C<sup>13</sup> para los BPCs y el DETPd<sup>10</sup> para los metabolitos AF). La identificación se realizó por el método de ion selectivo y por sus tiempos de retención (tr) mediante Cromatografía de Gases Masas acoplado a un Detector de Masas.

Para asegurar la calidad de la cuantificación de los distintos analitos tanto de las muestras de plasma como de orina, se estimó el porcentaje de recobro de estándares de control de calidad, los cuales estuvieron en el intervalo para los OCs del 90 al 118% y para los AF entre el 84 y120%. Los resultados de este proceso se encuentran detallados en los anexos II y III.

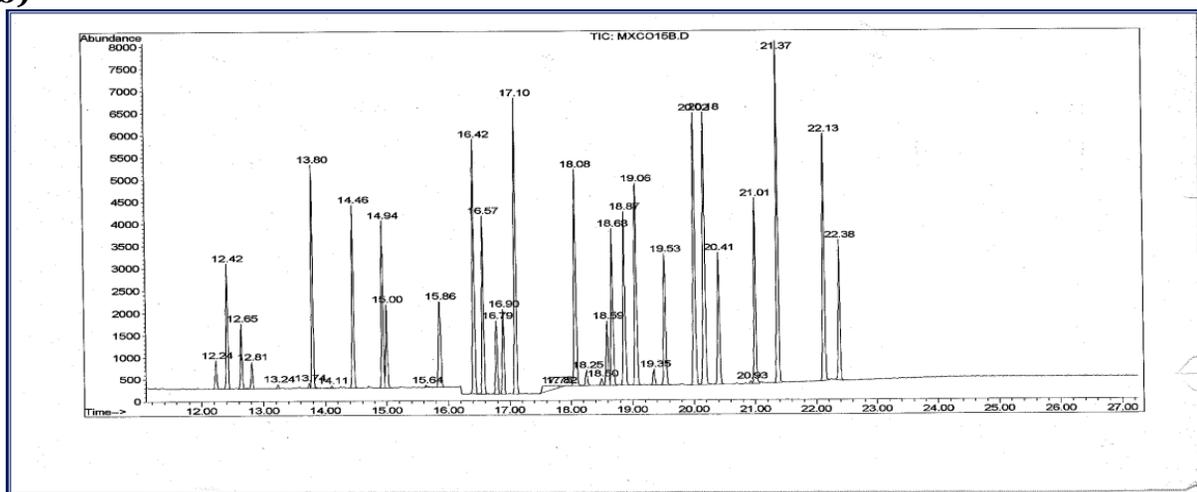
Los métodos analíticos utilizados para la cuantificación de POCs, BPC y metabolitos AF en la presente investigación, fueron validados y cumplieron satisfactoriamente los criterios de aceptación establecidos por la EURACHEM, 2011; Horwitz, 1982 y la AOAC Internacional, 2011. En la figura 7 se presentan los cromatogramas obtenidos de una mezcla en hexano de los compuestos organoclorados (14 plaguicidas y 15 BPCs), el obtenido de una muestra de plasma fortificada con los compuestos organoclorados (14 plaguicidas y 15 BPCs) y el de una muestra problema. En la figura 8 se presentan los cromatogramas obtenidos de una muestra de orina fortificada con los 5 metabolitos alquilfosfatos (DEP, DETP, DEDTP, DMTP y DMDTP) y un cromatograma de una muestra de orina problema.



a)



b)



c)

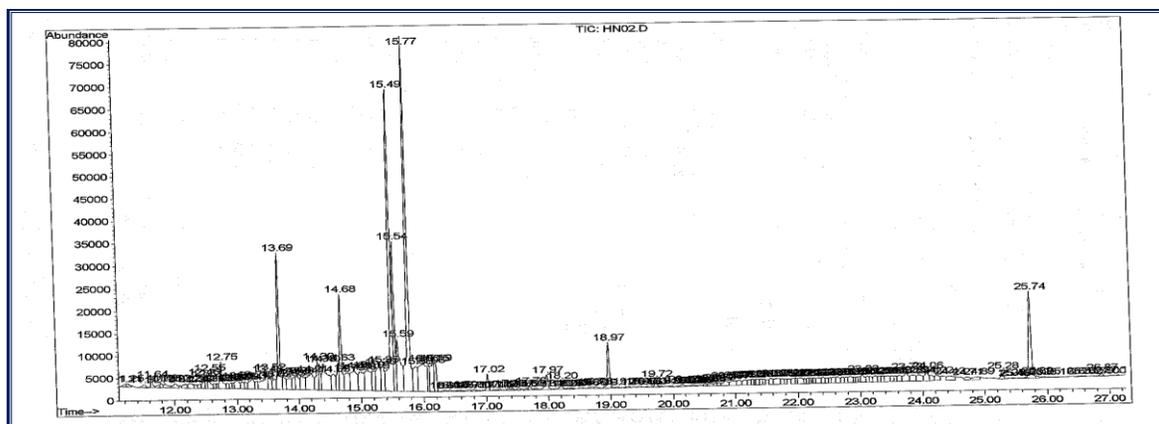
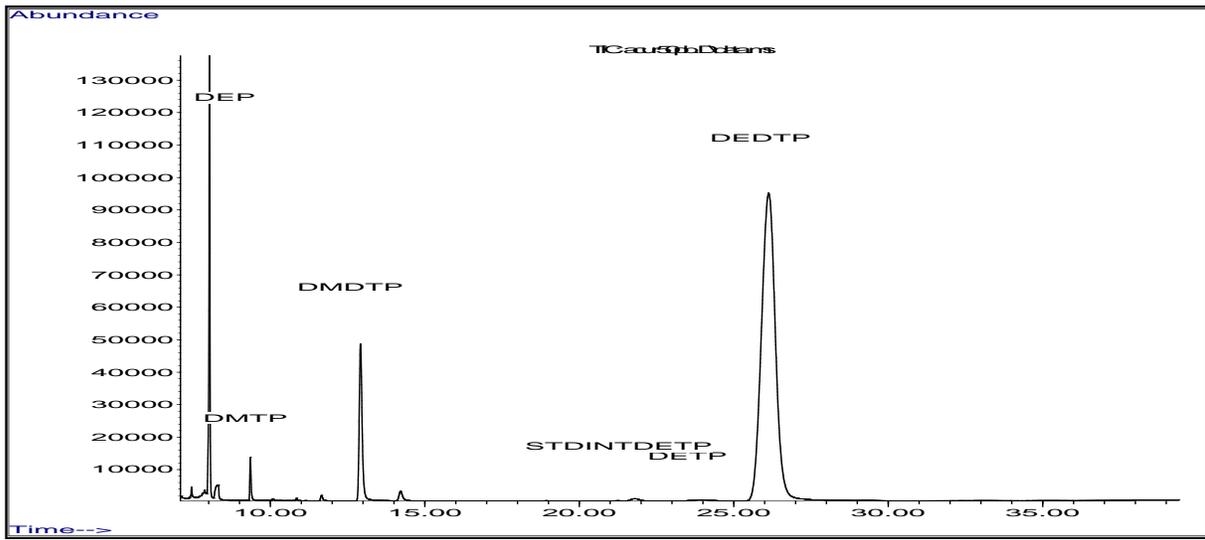


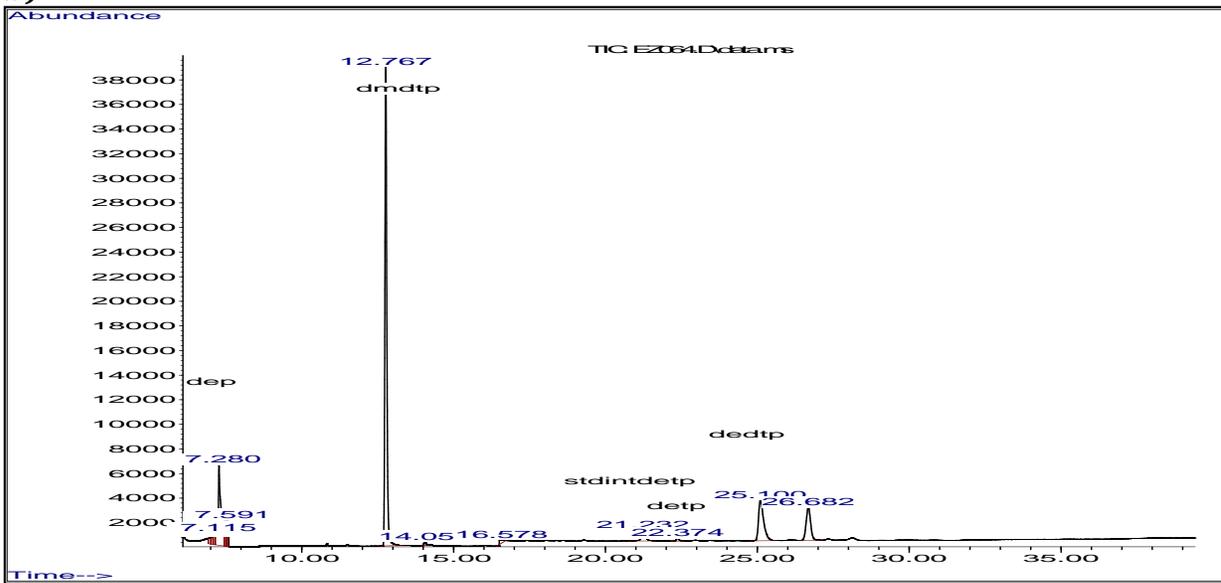
Figura 7. a) Cromatograma obtenido de una mezcla de Compuestos Organoclorados (14 POC y 14 BPCs) en hexano a una concentración de 1 ppm. b) Cromatograma obtenido de una muestra de plasma fortificada con Compuestos Organoclorados (14 POC y 14 BPCs) a una concentración de 1 ppm. c) Cromatograma de una muestra problema de uno de los niños participantes en el estudio. Estándar Interno EndrinC<sup>13</sup> y PCB14C<sup>13</sup>.



a)



b)



**Figura 8 a)** Cromatogramas obtenido de una muestra de orina fortificada con la mezcla de alquilfosfatos a una concentración de 50 ng/mL. DEP= Dietilfosfato, DMDTP= Dimetilditiofosfato, DETP= Dietilfosfato, DEDTP= Dietilditiofosfato. Estándar interno DETPd<sup>10</sup>. (25 ng/mL). **b)** Muestra de orina problema de uno de los niños participantes en el estudio.



## 6.2 Características Sociodemográficas de la población de estudio

La información sobre los datos sociodemográficos, principales actividades de los padres, nivel socioeconómico, ocupación, uso y frecuencia de aplicación de plaguicidas, exposición residencial y antecedente de intoxicación por el uso de estos compuestos fue recabada mediante la aplicación de un cuestionario (anexo I). En la tabla 3 se muestran algunas de las características sociodemográficas de los 140 niños seleccionados para el estudio. No se encontraron diferencias significativas entre las características socioeconómicas de las tres zonas. La proporción de niños respecto a las niñas en la zona 1 fue baja (44%), en la zona 2 esta proporción fue la más alta (59%) y en la zona 3 no hubo diferencias entre ambos sexos (49%). El promedio de edad de la población de estudio fue de 10 años. Se determinó la prevalencia de desnutrición crónica de la población a partir del valor de referencia de talla para la edad y aguda a partir de peso para la talla, de acuerdo a la OMS y a la Norma Oficial Mexicana NOM-031-SSA-1999 en la que establecen un punto de corte por debajo -2 desviaciones estándar (-2DE). La prevalencia más alta fue en la zona 3 con el 7% de los niños por debajo de este valor de referencia. En la zona 1 y 2 únicamente se detectó el 2% de los niños por debajo de este valor. Para la determinación de obesidad se tomó como referencia el parámetro de la OMS y la NOM-031-1999, de mayor a 2DE. La zona 1 y 3 presentaron el porcentaje más alto de niños con valores por arriba de 2DE (19 y 18% respectivamente). Las zonas 2 presentaron el 14% de la población infantil por arriba del valor de referencia respectivamente.

El nivel educativo de las madres fue más bajo en la zona 3, con el 30% de las madres sin educación. La ocupación del padre fue similar en las tres zonas (52% son agricultores). No hay diferencias significativas entre las zonas respecto al consumo de alcohol y tabaco de ambos padres (Tabla 3).

Con respecto al uso y aplicación de plaguicidas, el 68% de las personas encuestadas respondieron cultivar la tierra, siendo el 91% de riego. El 72% utiliza plaguicidas para proteger sus cultivos, empleando tanto la formulación en líquido como en polvo (60%). Con respecto a la frecuencia de la aplicación de los plaguicidas, el 38% la realiza durante los meses cálidos (sep-abr), el 31% los usa durante todo el año, el 5% en los meses fríos (oct-nov) y el 26% respondió no saber cuándo se emplean estos compuestos. La principal forma de aplicación de los agroquímicos fue con Bomba Aspersora (69%), mientras que el 27%



respondió realizarlo de forma manual. Al preguntarles sobre si utilizan algún equipo de protección personal, el 62% de los encuestados respondieron que no.

Al explorar sobre la participación de los niños en las diferentes actividades agrícolas, el 10% respondió que sus hijos les ayudan durante la siembra, cuidado y cosecha de sus cultivos, iniciando en algunos casos a la edad de 5 años (3%) y entre los 6 y 10 años de edad (7%).

Sobre el uso y aplicación de insecticidas en sus hogares, el 95% respondió utilizar productos comerciales con una frecuencia de aplicación de entre 1 y 3 días por semana (35%). Al realizar la comparación de estos resultados entre las distintas zonas en que se dividió el área de estudio, no se encontraron diferencias significativas.

### **6.3 Exploración Física**

Los resultados de la exploración físico-clínica neurológica y el desarrollo psicomotor de los niños evaluados, se presentan en la tabla 4. El 93% de los niños estuvieron dentro de los parámetros normales. Únicamente tres niños (menos del 2%) presentaron problemas de agresividad, atención, disminución auditiva y lenguaje.



Tabla 3. Características Sociodemográficas de la población de estudio

Características	Todos (n=140) <sup>a</sup>	Zona 1 (n=48)	Zona 2 (n=49)	Zona 3 (n=43)
<b>Sexo</b>				
Niños (%)	51	44	59	49
Edad(años) <sup>b</sup>	9.9 ± 2 (6-14)	9.8±1.8 (6-14)	9.5±1.8 (6-13)	9.8±2 (7-15)
Escolaridad de los niños (años)	4.1 ± 1.6 (1-7)	4.0 ± 1.5 (2-7)	3.5 ± 1.6 (1-7)	3.5 ± 1.6 (2-7)
z score Talla para la edad (% <-2DE <sup>c</sup> )	4	2	2	7
Sobrepeso. z score de Índice de Masa Corporal para la edad (%>2DE)	17	19	18	14
<b>Educación de la Madre (%)</b>				
Sin escolaridad	19	12	16	30
Primaria	44	38	47	46
Secundaria o más	37	50	37	24
<b>Educación del Padre (%)</b>				
Sin escolaridad	27	17	28	37
Primaria	42	41	33	56
Secundaria o más	41	42	39	7
<b>Ocupación del Padre (%)</b>				
Agricultor	52	50	47	63
Otro	48	50	53	37
<b>Nivel Socioeconómico<sup>d</sup></b>				
		Alto	Medio	Bajo

n=140

<sup>b</sup> Valores expresados como media aritmética ± desviación estándar y mínimos y máximos en paréntesis. Zona 1 (centro), zona 2 (media) and zona 3 (periferia). <sup>c</sup> Punto de corte para desnutrición severa crónica. Organización Mundial de la Salud y Norma Oficial Mexicana NOM-031-SSA-1999. <sup>d</sup> Índice de Bronfman del Estatus Socioeconómico.



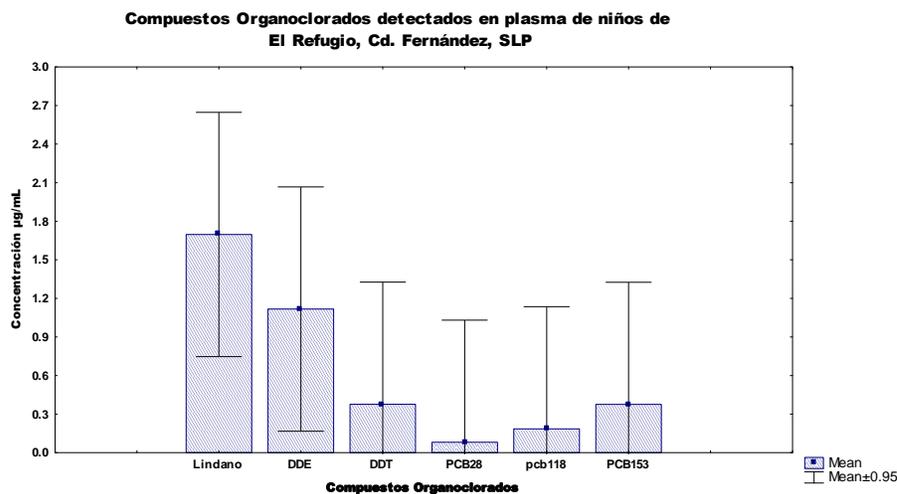
Tabla 4. Resultados obtenidos en la exploración Físico-clínica neurológica

	Si (%)	No (%)
Antecedentes Neurológicos en la Familia (Abuelos, tíos, primos) (Epilepsia, Crisis febriles, TDA-H, Trastornos del lenguaje)	36	64
Antecedentes Neurológicos de los Padres	9	91
Antecedentes de bajo rendimiento escolar de los niños evaluados (Reprobado al menos un año)	24	76
<b>Desarrollo psicomotor (%)</b>		
Normal	98	
<b>Resultado final de la exploración física (%).</b>		
Normal	93	
Con problemas	2	
<b>Principales problemas detectados en la población infantil.</b>		
Agresividad	1.2	
Atención	1.2	
Hipoacusia	1.2	
Lenguaje	3	

## 6.4 Biomarcadores de exposición

En los 140 niños seleccionados para el estudio se determinaron los niveles plasmáticos 14 plaguicidas OCs y 15 BPCs y la concentración de 5 metabolitos alquilfosfatos en orina por cromatografía de Gases-Masa. El número de mediciones válidas para cada analito, el porcentaje de muestras por arriba del límite de detección y la concentración de los compuestos individuales, así como la comparación con los niveles reportados en el 4to informe sobre exposición humana a sustancias químicas (CDC, 2009), se presentan en la tabla 5.

Los plaguicidas OCs detectados fueron: Lindano, *p,p'* DDE y *p,p'* DDT. El 74% de la población presentó exposición a lindano, con una Media Geométrica (MG.) de 1.69  $\mu\text{g/g}$  Lip. El *p,p'*-DDE se identificó en el 82% de los niños evaluados (MG 1.1  $\mu\text{g/g}$  Lip), mientras que el *p,p'*-DDT se presentó en el 19% de la población (MG 0.37  $\mu\text{g/g}$  Lip). Los congéneres de BPCs detectados fueron el 118, 153, 28, 52, 156 y 170. El BPC153 fue el más frecuente (82%) con una media geométrica de 0.37  $\mu\text{g/g}$  Lip. El BPC118 lo fue en el 47% (MG 0.18  $\mu\text{g/g}$  Lip), mientras que el BPC28 se determinó en solo el 16% de la población (MG. 0.08  $\mu\text{g/g}$  Lip). Los congéneres 52, 156 y 170 se detectaron en menos del 5% de la población por lo que no se consideraron para el análisis estadístico (Tabla 5). En la figura 9 se presenta la gráfica con las concentraciones promedio de los compuestos organoclorados detectados y cuantificados en plasma de la población de estudio.



**Figura 9.** Concentraciones promedio de los compuestos organoclorados detectados en plasma de la población en estudio.  $n=140$ . Lindano (MG= 1.69  $\pm$  1.57  $\mu\text{g/g}$  Lip.), *p,p'* DDE (MG= 1.1  $\pm$  1.69  $\mu\text{g/g}$  Lip.), *p,p'* DDT (MG= 0.37  $\pm$  0.072  $\mu\text{g/g}$  Lip); PCB28 (MG= 0.08  $\pm$  0.12  $\mu\text{g/g}$  Lip); PCB118 (MG= 0.18  $\pm$  0.03  $\mu\text{g/g}$  Lip); PCB153 (MG= 0.37  $\pm$  0.25  $\mu\text{g/g}$  Lip).



**Tabla 5. Concentración plasmática y urinaria de los diferentes analitos de la población de estudio de El Refugio, SLP.**

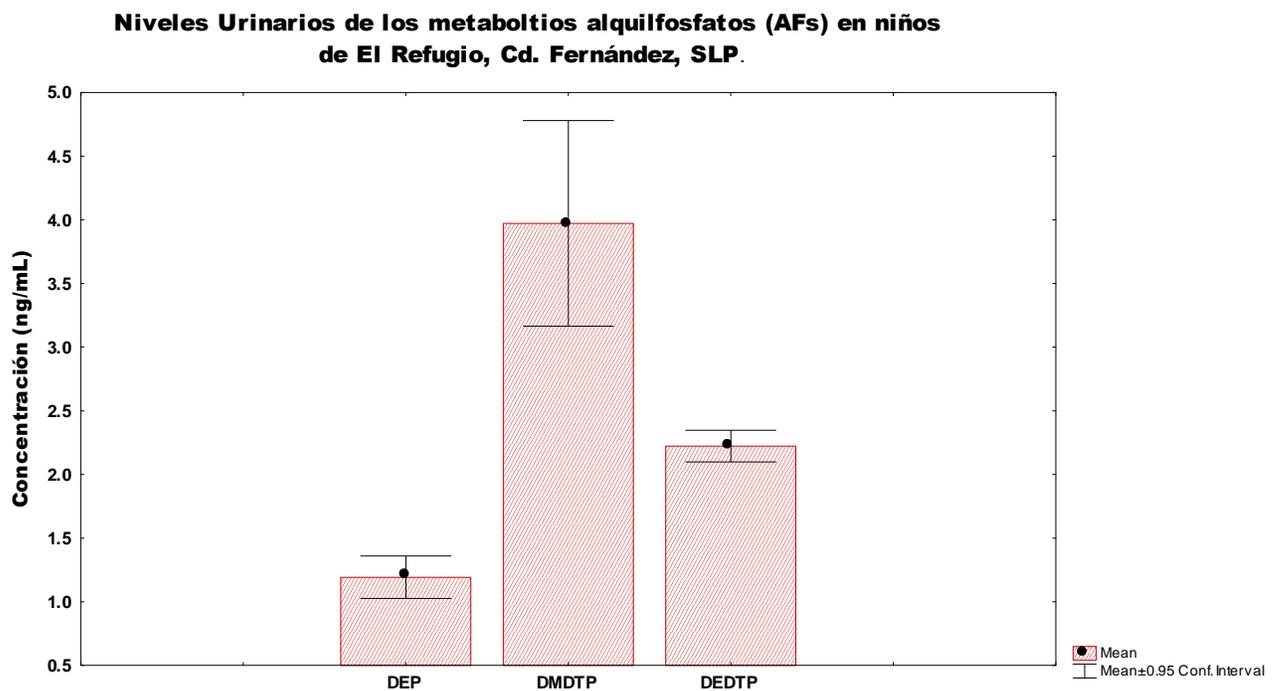
Analito ( $\mu\text{g/g}$ lipid)	% $\geq$ LD	<sup>1</sup> Media Geométrica $\pm$ DE	Mínimo	Máximo	<sup>2</sup> CDC2009 (95% Intervalo de confianza)
<b>HCB</b>	0	Nd	Nd	Nd	13.3 (12.5-14.1)
<b>Alfa HCH</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Beta HCH</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Lindano</b>	74	1696.95 $\pm$ 1571.9	42.3	7888.37	Nd
<b>Aldrin</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Heptacloro epóxido</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Oxyclordano</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Cis Nonaclor</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Clordano</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>DDE</b>	82	1117.36 $\pm$ 1697.6	34.2	10,556.3	105 (98.7 – 129)
<b>DDT</b>	19	376.68 $\pm$ 720.2	18.3	3241.96	Nd
<b>Trans Nonaclor</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Alfa Clordane</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Mirex</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>PCB28</b>	16	80.7 $\pm$ 120.8	17.2	618.3	5.02 (4.48 – 5.63)
<b>PCB52</b>	2*	Nd	Nd	Nd	3.16 (2.8 – 3.56)
<b>PCB99</b>	0	Nd	Nd	Nd	2.34 (2.08 – 2.64)
<b>PCB101</b>	0	Nd	Nd	Nd	1.93 (1.76 – 2.11)
<b>PCB 105</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>PCB 118</b>	47	185.2 $\pm$ 181.3	17.9	714.5	Nd
<b>PCB 128</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>PCB 138</b>	0	Nd	Nd	Nd	4.97 (4.45 – 5.55)
<b>PCB 153</b>	82	375.8 $\pm$ 277.7	18.3	1652.5	5.86 (5.25 – 6.55)
<b>PCB 156</b>	3*	Nc	Nd	Nd	Nd
<b>PCB 170</b>	5*	Nc	Nd	Nd	1.12 (0.974 – 3.54)
<b>PCB 180</b>	0	Nd	Nd	Nd	3.06 (2.65 – 3.54)
<b>PCB 183</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>PCB 187</b>	0	Nd	Nd	Nd	1.00 (0.859 – 1.17)
<b>Metabolitos AF (ng/mL)</b>					
<b>DEP</b>	51	1.0 $\pm$ 0.99	0.80	9.3	Nd
<b>DETP</b>	0	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>DEDTP</b>	75	2.2 $\pm$ 0.74	1.0	3.6	Nd
<b>DMTP</b>	7*	Nc	Nd	Nd	2.79 (1.64 – 3.92)
<b>DMDTP</b>	56	3.97 $\pm$ 4.8	0.50	30.6	Nd
<b>PbS (<math>\mu\text{g/dL}</math>)</b>	100	6.3 $\pm$ 2.5	2.3	12.6	1.55

n=140

%  $\geq$ LD = Porcentaje de muestras positivas como una respuesta cuantitativa del instrumento. <sup>1</sup>Valores expresados como media geométrica  $\pm$  Desviación estándar. Concentraciones en sangre se muestran en ng g<sup>-1</sup> lípidos, Mín.= Valor mínimo, Máx.= Valor máximo, nd= No detectado.\*Nc=No considerados para el análisis estadístico. <sup>2</sup>Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. CDC, 2009. DEP: dietilfosfato; DETP: dietiltiofosfato; DEDTP: dietilditiofosfato; DMTP: dimetiltiofosfato; DMDTP: dimetilditiofosfato.

Respecto a la evaluación de la exposición a plaguicidas OF, se identificaron y cuantificaron 4 de los 5 metabolitos analizados en las muestras de orina. Los resultados obtenidos son el promedio de cada uno de los metabolitos en las 5 muestras de orina analizadas por cada niño evaluado. El DEDTP se detectó en el 75% de las muestras con una media geométrica de  $(2.2 \pm 0.74 \text{ ng/mL})$ . El DMDTP lo fue en el 56% de la población (MG  $3.97 \pm 4.8 \text{ ng/mL}$ ), el DEP en el 51% (MG  $1.0 \pm 0.99 \text{ ng/mL}$ ) y el DMTP se detectó en el 7% de los niños estudiados por lo que no se considero para el análisis estadístico (tabla 5 y figura 10).

El valor medio del nivel de plomo en sangre de la población fue de  $6.3 \pm 2.5 \text{ } \mu\text{g/dL}$ , el 60% de los niños presentaron concentraciones por arriba del valor de referencia  $5 \text{ } \mu\text{g/dL}$  (tabla 5).



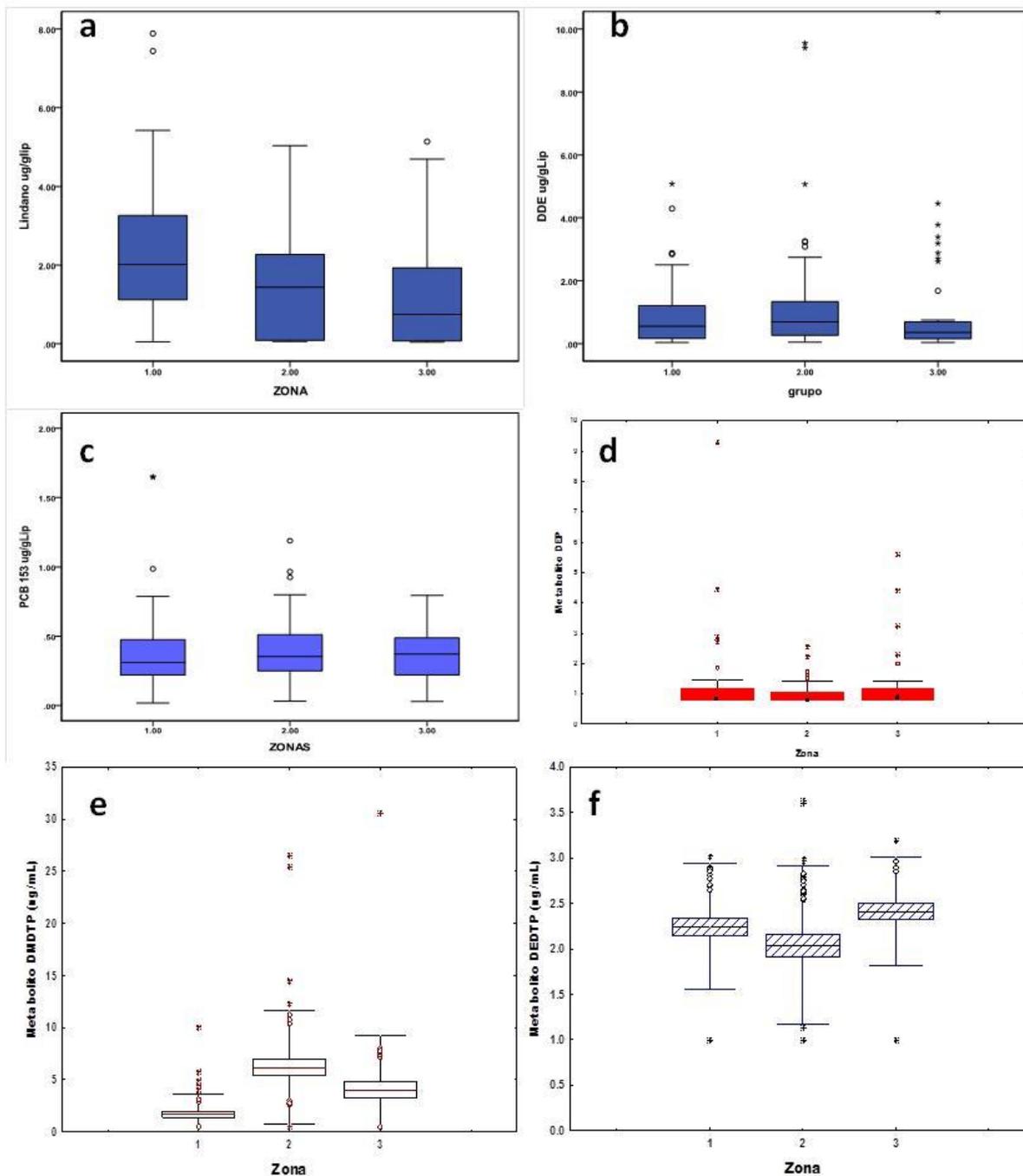
**Figura 10.** Niveles urinarios de los metabolitos alquilfosfatos en los niños de la comunidad de El Refugio, Cd. Fernández; SLP. **n=140**. DEP: dietilfosfato (MG=  $1.9 \pm 0.99 \text{ ng/mL}$ ); DEDTP: dietilditiofosfato (MG=  $2.2 \pm 0.74 \text{ ng/mL}$ ); DMDTP: dimetilditiofosfato (MG=  $3.97 \pm 4.8 \text{ ng/mL}$ ).



## 6.5 Resultados de los biomarcadores por zonas de estudio.

En el análisis para comparar los niveles de exposición entre las zonas de estudio, sólo se consideraron los biomarcadores que presentaron más del 50% de muestras positivas y con valores por arriba del límite de detección (LOD), estos son: Lindano, *p, p'*-DDE, BPC153; DMDTP, DEP y DEDTP y Plomo en sangre (PbS), se reportando los valores en las unidades de  $\mu\text{g/g Lip}$ .

Cerca del 96% de los niños en la zona 1 presentaron 2 veces más alta la concentración de lindano (MG=  $2.37 \mu\text{g/g Lip}$ ) respecto a las otras zonas. En la zona 2 el *p,p'*-DDE se detectó en el 87% de los niños con una MG de  $1.32 \mu\text{g/g Lip}$  (intervalo 0.047 – 9.5) (figura 11). En relación al PCB153, DMDTP, DEP y al DEDTP no hubo una diferencia significativa en los niveles de exposición entre las zonas de estudio (figura 11).

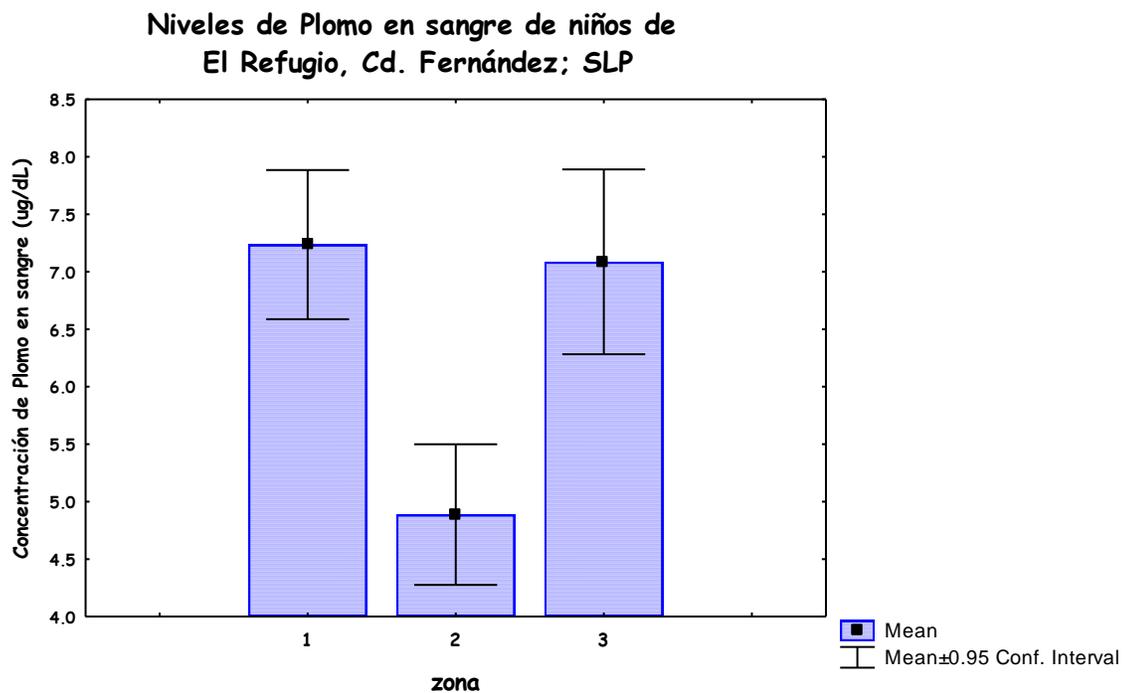


n=140

**Figura 11.** Biomarcadores de exposición a contaminantes ambientales. En la figura sólo se muestran aquellos compuestos que se detectaron en más del 50% de las muestras con valores por arriba del límite de detección (LOD) a) Lindano, b) p p'DDE, c) BPC153, valores expresados en  $\mu\text{g/g Lip}$ ; d) DEP (Dietilfosfato); e) DMPTP (Dimetilditiofosfato); f) DEDTP (Dietilditiofosfato,  $\text{ng/mL}$ ). En cada gráfico de caja el valor de la mediana está indicado por la línea horizontal en el centro, el percentil 25 y 75 están indicados por debajo y por arriba de las líneas horizontales respectivamente. La línea vertical representa el percentil 5 y 95. °Valores outlier (niños con niveles entre 1-5 -3 intervalos intercuartiles) \*Valores extremos (niños con niveles mayores a 3 intervalos intercuartiles).

Con lo que respecta a los niveles de plomo en sangre detectados en los niños de cada una de las zonas de estudio, se observó una diferencia significativa ( $p=0.05$ ) entre los valores obtenidos en la zona 2 con respecto a las zonas 1 y 3. La media geométrica obtenida en la zona 2 fue de  $4.8 \pm 2.13 \mu\text{g/dL}$  (intervalo 2.3-12.2), mientras que en las zona 1 y 3 fueron de  $7.2 \pm 2.2$  (intervalo 3.3 – 11.8) y de  $7.0 \pm 2.6 \mu\text{g/dL}$  (intervalo 2.8-12.6) respectivamente (figura 12).

Las zonas 1 y 3 presentaron la más alta proporción de niños con concentraciones de plomo en sangre por arriba del nivel de referencia de  $5 \mu\text{g/dL}$  (CDC, 2012), con un 79 y 77% respectivamente, mientras que en la zona 2 la proporción fue del 29%.



**Figura 12.** Niveles de plomo en sangre de los niños seleccionados para el estudio divididos por zona de estudio.  $n=140$ . Zona 1 (MG=  $7.2 \pm 2.2 \mu\text{g/dL}$ ); Zona 2 (MG=  $4.8 \pm 2.1 \mu\text{g/dL}$ ); Zona 3 (MG=  $7.0 \pm 2.6 \mu\text{g/dL}$ ).



## 6.6 Evaluación Neuropsicológica

### 6.6.1 Evaluación de la función cognitiva mediante la aplicación de la prueba WISC-IV.

El tiempo total de la aplicación del WISC-IV para evaluar la función intelectual de los 140 niños seleccionados para el estudio, se llevó a cabo en un promedio por sesión de 1h 30min de duración, lo cual dependía de las habilidades de cada niño evaluado.

Los resultados de esta prueba nos indican que el 32% de la población infantil obtuvo un coeficiente intelectual total (CIT) dentro del valor esperado (90-110 pts), con una media geométrica de  $96.9 \pm 5.6$  pts. El 67% obtuvo un CIT de  $83.6 \pm 12.2$  pts, valor que representa un promedio bajo ( $< 90$ pts) de acuerdo a los valores de referencia publicados para esta prueba (Wechsler D, 2007). Sólo el 1.4% obtuvo un CIT por arriba de los 110 pts (Tabla 6).

Tabla 6: Coeficiente Intelectual Total de los niños de El Refugio, Ciudad Fernández; SLP.

	Coeficiente Intelectual Total (%)			
	N	<90	90-110	>110
Todos	140	66.6	32	1.4
Zona 1	48	63	33	4
Zona 2	49	74	26	-
Zona 3	43	74	26	-
% Esperado		25	50	25
<b>Media de la población de estudio = <math>83.6 \pm 12.2</math> (promedio bajo)</b>				

n= 140; Valores esperados 90 – 110 pts. Wechsler, David. 2007.

En la tabla se muestra el porcentaje de niños que tuvieron un puntaje bajo ( $<90$  pts), normal (90-110 pts) y alto ( $>110$  pts).

Con respecto a los puntajes obtenidos en cada uno de los índices que componen esta prueba y considerando a toda la población infantil seleccionada para el estudio (n=140) fueron:  $83.3 \pm 11.9$  pts en el Índice de Comprensión Verbal (ICV);  $87.4 \pm 13.0$  pts en el índice de Razonamiento Perceptual (IRP);



82.6  $\pm$  12.1 pts en el Índice de Memoria de Trabajo (IMT) y 84.3  $\pm$  11.6 pts en el índice de Velocidad de Procesamiento (IVP).

Al comparar los resultados obtenidos entre las diferentes zonas de estudio se observa que en las zonas 2 y 3 la media de las puntuaciones obtenidas en el CIT fueron de 83.0  $\pm$  11.2 y de 82.2  $\pm$  11.4 respectivamente, teniendo un 74% de niños con puntuaciones por debajo del valor esperado (<90) utilizando el punto de corte publicado para esta prueba (90-110 pts). En la zona 1 se obtuvo un promedio de 85.9  $\pm$  13.7 pts, presentando el menor porcentaje (67%) de niños con puntuaciones por debajo del valor esperado (tabla 6).

En la tabla 7 se presentan las puntuaciones obtenidas de cada uno de los índices y las subpruebas que lo integran. Se puede observar que los niños de las zona 1 presentan una puntuación más alta en el ICV con una media de 85.7  $\pm$  13.5 pts. En el IRP las puntuaciones obtenidas fueron muy similares en las tres zonas. La zona 2 presentó 3 pts menos en el IMT con respecto a las otras zonas. El puntaje obtenido en el IVP fue más bajo en la zona 3 (81.8  $\pm$  9.9 pts) que en las zonas 1 y 2 (86.1  $\pm$  13.7; 84.6  $\pm$  10.8 pts) respectivamente.

Se observa que las puntuaciones obtenidas por los niños evaluados de cada una de las subpruebas que integran los índices del WISC IV, están por debajo de 1 a 2DE del valor esperado 10  $\pm$  2.8 pts (tabla 7).



**Tabla 7. Resultado de las puntuaciones obtenidas en cada uno de los subpruebas que componen a cada índice del WISC-IV aplicado a la población infantil de la comunidad de El Refugio, SLP.**

Índice	Todos *MG (DE)	Zona 1 MG (DE)	Zona 2 MG (DE)	Zona 3 MG (DE)
<b>Comprensión Verbal</b>	<b>83.3 (11.9)</b>	<b>85.7 (13.5)</b>	<b>83.1 (10.2)</b>	<b>80.9 (11.4)</b>
Similitudes	6.1 (2.1)	6.5 (2.1)	5.9 (1.8)	5.9 (1.89)
Vocabulario	7.6 (2.8)	7.7 (2.8)	7.9 (2.8)	7.0 (2.6)
Comprensión	7.4 (2.5)	8.1 (2.5)	7.0 (2.3)	7.0 (2.3)
Información	7.8 (2.6)	8.3 (2.7)	7.9 (2.7)	7.1 (2.3)
Razonamiento de palabras	7.3 (3.0)	8.3 (3.1)	6.6 (2.2)	7.2 (3.6)
<b>Razonamiento Perceptual</b>	<b>87.4 (13.0)</b>	<b>87.4 (12.2)</b>	<b>88.3 (14.0)</b>	<b>86.5 (12.8)</b>
Diseño con bloques	7.8 (2.8)	8.0 (2.6)	7.7 (2.9)	7.5 (2.9)
Conceptos con Dibujos	8.5 (2.9)	8.3 (2.9)	8.6 (3.0)	8.8 (2.9)
Matrices	7.4 (2.1)	7.4 (1.9)	7.9 (2.3)	6.9 (2.0)
Figuras Incompletas	7.7 (2.8)	8.1 (3.0)	7.4 (2.5)	7.8 (3.1)
<b>Memoria de Trabajo</b>	<b>82.6 (12.1)</b>	<b>83.3 (12.4)</b>	<b>80.4 (11.7)</b>	<b>83.3 (13.7)</b>
Dígitos	7.0 (2.1)	6.7 (2.0)	7.3 (2.0)	7.1 (2.4)
Sucesión de números y letras	6.7 (3.3)	7.3 (3.2)	5.9 (3.2)	7.0 (3.4)
Aritmética	9.4 (2.8)	9.9 (3.0)	9.6 (3.1)	8.6 (2.3)
<b>Velocidad de Procesamiento</b>	<b>84.3 (11.6)</b>	<b>86.1 (13.2)</b>	<b>84.6 (10.8)</b>	<b>81.8 (9.9)</b>
Claves	7.1 (2.4)	7.5 (2.9)	7.3 (2.0)	6.7 (2.2)
Búsqueda de Símbolos	7.1 (2.5)	7.5 (2.5)	7.1 (2.8)	6.6 (2.1)
Cancelación	7.6 (2.1)	7.7 (2.3)	7.4 (1.5)	7.7 (2.4)

n=140

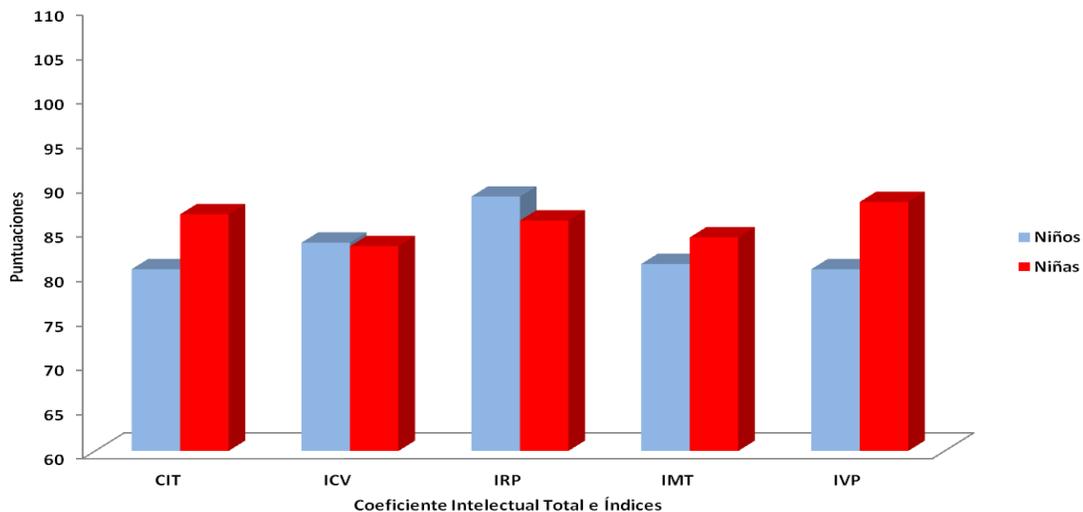
\*Media Geométrica  $\pm$  Desviación Estándar. Los Valores Esperados para los índices y escala total son de: 90-110 pts. Valores esperados para cada subpruebas: 10 pts  $\pm$  2.8. (Wechsler, 2007). Zona 1 (centro), zona 2 (media) y zona 3 (periferia).

Se observaron diferencias entre sexo de las puntuaciones obtenidas de los coeficientes intelectuales (WISC IV) (Fig. 13). En el Coeficiente Intelectual Total (CIT), las niñas obtuvieron 7 puntos más que los niños  $86.7 \pm 13.2$  vs  $80.5 \pm 10.0$ , respectivamente. En el índice de comprensión verbal (ICV), las puntuaciones medias fueron muy parecidas en ambos sexo ( $83.1 \pm 14.1$  niñas vs  $83.5 \pm 9.2$  niños). Mientras

que los niños obtuvieron una media superior en casi 3 pts a las niñas en el índice de razonamiento perceptual (IRP), siendo de  $88.7 \pm 11.9$  para los niños y de  $86.0 \pm 13.9$  para las niñas. Las niñas obtuvieron puntuaciones superiores a los niños en el índice de memoria de trabajo ( $84.1 \pm 13.1$  niñas vs  $81.1 \pm 11.8$  niños), y también en el índice de velocidad de procesamiento (IVP)  $88.1 \pm 11.8$  vs  $80.5 \pm 9.97$ , respectivamente.

Los índices en los que los niños (hombres) obtuvieron una baja ejecución fueron en el de memoria de trabajo y en el de razonamiento perceptual. Por el contrario, en el índice de velocidad de procesamiento es donde obtuvieron la mejor ejecución.

Estos resultados se podrían explicar debido a que la función mental de los hombres y de las mujeres está organizada de diferente forma. Diversas investigaciones demuestran que los hombres tienen más lateralidad, es decir, las funciones cerebrales están expresadas más exclusivamente por uno de los dos hemisferios. Por su parte, las mujeres utilizan más los dos hemisferios para razonar. Por lo que utilizan distintas áreas y circuitos cerebrales para resolver los problemas, procesar el lenguaje, experimentar y almacenar información (Quiros-García et al., 2011; Brizendine Louann et al., 2007; Hugo Liaño et al., 2007).



**Figura 13.** Comparación entre sexos de los resultados obtenidos en la prueba del WISC-IV en la población infantil de El Refugio, Cd. Fernández; SLP. n=140. CIT= Coeficiente intelectual total; ICV=Índice de comprensión verbal; IRP= Índice de razonamiento perceptual; IMT= índice de memoria de trabajo; IVP= Índice de velocidad de procesamiento. Valor esperado 90-110 pts. n=140.



## 6.6.2 Evaluación de la organización visuoespacial mediante la prueba de Figura Compleja de Rey Osterrieth (FCRO).

En la tabla 8 se presentan los puntajes promedio obtenidos correspondientes a la ejecución de copia y memoria de la FCRO, para el total de la población infantil en estudio ( $n=140$ ) y por sexo, así como la comparación con los valores obtenidos de un grupo normativo de 10 años de edad, de la población mexicana (Cortes et al., 1999; Galindo et al., 1996). La media obtenida para la ejecución a la copia fue de  $18.55 \pm 7.76$  pts, y para la ejecución de memoria fue de  $10.92 \pm 6.40$  pts, estos resultados están un punto por abajo del valor esperado (André Rey, 1999). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre sexos con los puntajes obtenidos en la versión copia y memoria de la FCRO, siendo las niñas en esta prueba las que obtuvieron el menor puntaje (copia  $20.5 \pm 7.4_{\text{niños}}$  vs  $17.7 \pm 7.1_{\text{niñas}}$ ;  $p=.027$ ; memoria  $12.6 \pm 6.7_{\text{niños}}$  vs  $9.7 \pm 5.6_{\text{niñas}}$ ;  $p= 0.25$ ). El porcentaje promedio de recuerdo obtenido para toda la población de estudio fue del 67%, las niñas obtuvieron el porcentaje más bajo en comparación con los niños (65 vs 69% respectivamente), sin embargo la diferencia no fue significativa.

**Tabla 8 Comparación del puntaje obtenido en la Figura Compleja de Rey entre el grupo normativo y el de los niños expuestos a plaguicidas de la Comunidad de El Refugio.**

Puntaje	Grupo Normativo**		Niños expuestos a plaguicidas. Comunidad El Refugio		% Recuerdo
	Media <sup>1</sup>	DE*	Media <sup>2</sup>	DE*	
<b>Ensayo de Copia</b>					
Población Total	20.9	5.6	18.55	7.76	67.18 (26.23)
Niñas	20.7	5.6	17.16	7.45	65.29 (24.80)
Niños	21.1	5.6	20.17	7.88	69.25 (27.83)
<b>Ensayo de Memoria</b>					
Población Total	11.5	4.6	10.92	6.40	
Niñas	11.0	4.4	9.55	5.64	
Niños	12.1	4.7	12.43	6.90	

<sup>1</sup>Media correspondiente al grupo Normativo de 10 años de edad de acuerdo a los estándares psicométricos y cualitativos mexicanos. <sup>2</sup> Media correspondiente a la población de estudio \*Desviación Estándar. \*\*Cortes et al., 1999 y Galindo et al., 1996. Población total  $n=140$ . Niños= 71; niñas= 69

Con la finalidad de determinar cuál es el porcentaje de la población que se desvía en -1DE (menos una desviación estándar) con respecto al promedio o media de la distribución normal de la población de referencia, las puntuaciones obtenidas en esta prueba fueron transformados a valores z. La proporción



de niños con valores z menores a -1DE en toda la población en estudio (n=140) fue del 33% tanto para la ejecución de copia como para la ejecución de memoria.

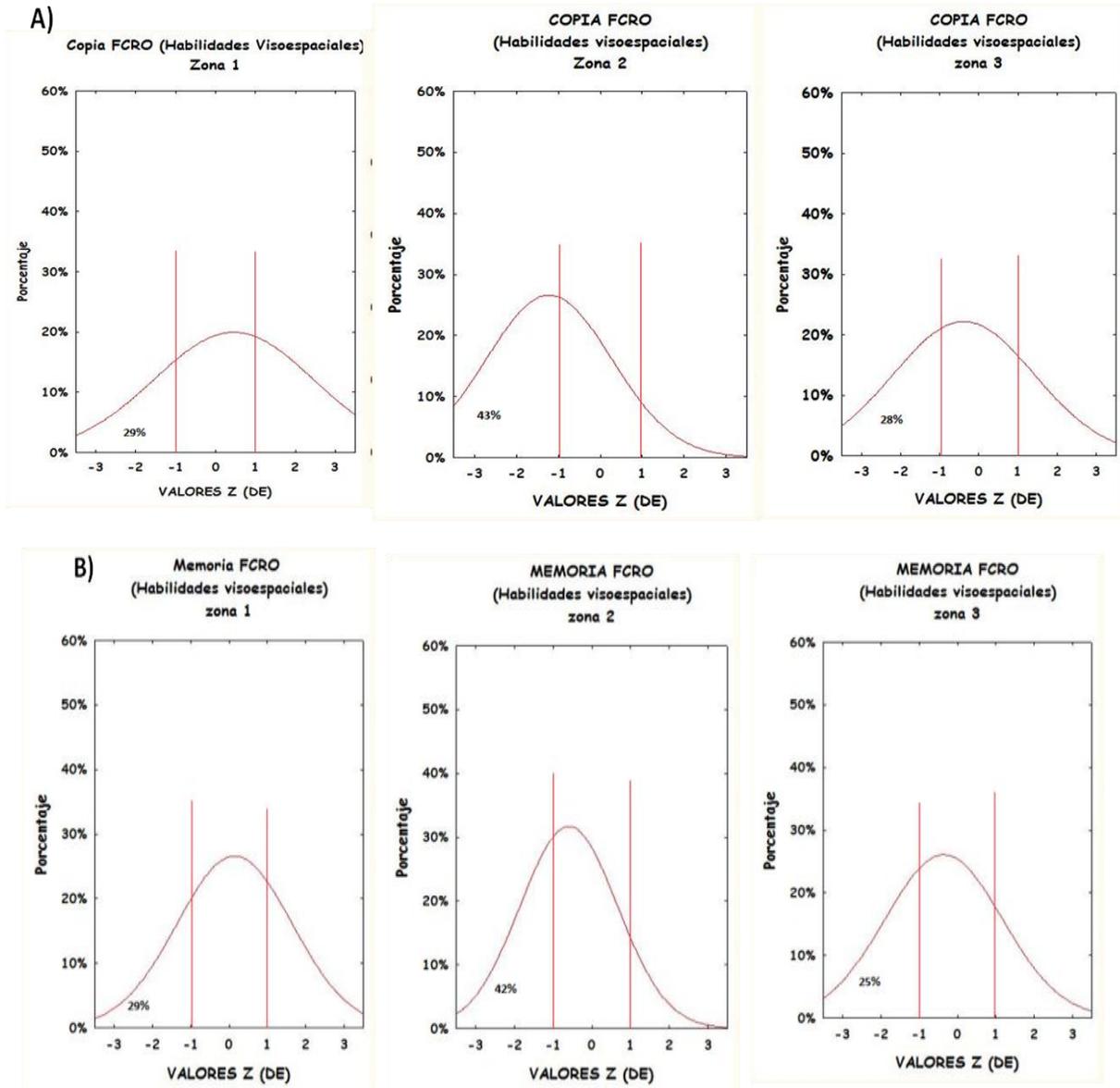
Al comparar estos resultados entre cada una de las zonas de estudio (tabla 9), se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la versión copia entre las zonas 1 y 2 ( $0.457 \pm 2.0$  vs  $-1.22 \pm 1.5$ ;  $p=.05$ ) y en la memoria  $0.146 \pm 1.5$  vs  $-0.59 \pm 1.26$ ;  $p=.029$ . La zona 2 presentó la proporción más alta de niños con puntaje por debajo de este valor: 43 y 42% para copia y memoria respectivamente.

En la figura 14 se presentan las curvas de distribución normal por zonas, de los resultados obtenidos en la prueba de FCRO versión copia y memoria aplicadas en la población infantil de El Refugio, Cd. Fernández, SLP. Dentro de las líneas rojas se presentan los límites de las desviaciones estándar con respecto al promedio (+1 y -1 DE), en donde se esperaría que estuviera el 68% de la población estudiada. La proporción más alta de niños con valores z por debajo de -1DE en la ejecución de copia de la FCRO, la presentó la zona 2 con un 43%, en la zona 1 y 3 los resultados fueron muy similares (29% y 28% respectivamente). Con respecto a los resultados obtenidos en la versión de memoria de la FCRO, la zona 2 presentó el 43% de los niños evaluados con valores por debajo de -1DE.

**Tabla 9. Puntajes obtenidos en la Figura Compleja de Rey-Osterrieth (versión copia y memoria) de cada una de las zonas de estudio de El Refugio, Cd. Fernández, SLP.**

Zona	*n	COPIA		MEMORIA	
		<sup>a</sup> Media $\pm$ DE (min-max)	% -1DE <sup>b</sup>	Media $\pm$ DE (min-max)	% -1DE <sup>b</sup>
Zona 1	35	$0.457 \pm 2.0$ (-4.80 - 4.30)	29	$0.146 \pm 1.5$ (-2.25 - 3.81)	29
Zona 2	35	$-1.22 \pm 1.53$ (-4.80 - 2.34)	43	$-0.599 \pm 1.26$ (-2.50 - 2.84)	42
Zona 3	32	$-0.386 \pm 1.85$ (-4.47 - 2.97)	28	$-0.356 \pm 1.53$ (-2.74 - 3.77)	25

\*n= Total de niños evaluados por zonas divididas para el estudio. Valores transformados a z-score, a) Media  $\pm$  Desviación Estándar min=mínimo, max= máximo.. b) porcentaje de niños que se desvían en menos una Desviación Estándar, con respecto al promedio o media de la población de referencia. Zona 1 (centro), Zona 2 (media) y Zona 3 (periferia)



**Figura 14.** Curvas de distribución normal de los resultados obtenidos en la prueba de la Figura Compleja de Rey Osterrieth (FCRO) versión copia y memoria aplicada a la población infantil de El Refugio, Cd. Fernández, SLP. A) Ejecución a la copia, B) Ejecución a la memoria. La líneas verticales rojas delimitan los límites de las desviaciones estándar esperadas con respecto al promedio (+1 y -1 DE).



### **6.6.3 Evaluación de la destreza manipulativa mediante la prueba de Clavijas y Ranuras (Grooved Pegboard).**

Con respecto al tiempo de ejecución de la tarea observamos que entre los distintos grupos de edad, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos con la mano dominante y no dominante. En la tabla 10 se presenta el tiempo de ejecución de la tarea en segundos, correspondiente a cada grupo de edad y dividido en niños y niñas de la población seleccionada. Al comparar el valor de referencia de ejecución en segundos contra los valores obtenidos por grupo de edad y sexo, observamos que los niños de 7 años tardaron más tiempo en ejecutar la tarea tanto con la mano dominante como con la no dominante ( $86_{\text{dominante}}$ ,  $87_{\text{no dominante}}$  vs  $48_{\text{dominante}}$ ,  $51_{\text{no dominante}}$  seg, respectivamente). En el grupo de 8 años, tanto los niños como las niñas tardaron más tiempo en realizar la tarea con ambas manos con respecto al valor de referencia ( $61$  y  $58$  vs  $38$  seg, respectivamente para mano dominante y  $67$  y  $62$  vs  $41$  y  $47$  seg, respectivamente para mano no dominante). Tanto niñas y niños comprendidos entre los grupos de edad de 9 a 10 y de 12 a 14 años, realizaron la ejecución de la tarea en menor tiempo comparado con los valores de referencia para esos grupos de edad. En el grupo de edad de 11 años, los niños tardaron más tiempo en ejecutar la tarea tanto con la mano dominante como con la no dominante con respecto al grupo de referencia ( $89.4 \pm 36.1$  vs  $76 \pm 18.1$  y  $100 \pm 32.9$  vs  $86 \pm 31.0$ , respectivamente).

**Tabla 10. Resultados obtenidos en el Tablero de Clavijas y Ranuras (Grooved Pegboard) por grupo de edad y sexo.**

Edad	Niños				Niñas			
	Mano <sup>a</sup> Dominante	<sup>b</sup> Valor de Referencia	Mano no <sup>a</sup> Dominante	Valor de <sup>b</sup> Referencia	Mano <sup>a</sup> Dominante	Valor de <sup>b</sup> Referencia	Mano no <sup>a</sup> Dominante	Valor de <sup>b</sup> Referencia
7	<b>86 ± 28.5</b>	<b>48 ± 24.6</b>	<b>87 ± 20.6</b>	<b>51 ± 22.0</b>	48 ± 10	53 ± 24.8	58 ± 28.0	58 ± 30.1
8	<b>61 ± 20.4</b>	<b>38 ± 9.02</b>	<b>67 ± 20.0</b>	<b>41 ± 14.6</b>	<b>58 ± 22.8</b>	<b>38 ± 10.4</b>	<b>62 ± 36.9</b>	<b>47 ± 26.8</b>
9	64 ± 20.9	84 ± 19.5	68 ± 23.7	92 ± 23.8	51 ± 18.8	90 ± 54.0	58 ± 29.5	96 ± 50.6
10	62 ± 26.4	83 ± 36.5	66 ± 31.7	90 ± 28.6	56 ± 24.5	84 ± 18.1	67 ± 23.0	92 ± 24.4
11	89 ± 36.1	76 ± 18.1	100 ± 32.9	86 ± 31.0	78 ± 27.6	79 ± 17.0	86 ± 27.4	92 ± 24.8
12	72 ± 25.7	78 ± 24.4	74 ± 29.0	85 ± 32.2	71 ± 19.7	80 ± 19.5	72 ± 19.4	87 ± 21.6
13	59 ± 33.5	78 ± 40.5	73 ± 32.8	81 ± 23.8	76 ± 18.9	81 ± 52.6	79 ± 22.2	84 ± 42.4
14	67 ± 55.5	79 ± 25.2	72 ± 55.9	86 ± 44.5	64 ± 13.4	77 ± 54.3	87 ± 11.3	78 ± 17.6

n=140.

a) Valores en segundos registrados de la población de estudio (Media ± DE). b) Valor de Referencia por edad y sexo (Media ± DE). Manual Lafayette Instrument.

Con la finalidad de comparar los resultados obtenidos con los valores de referencia publicados para esta prueba (Manual Lafayette Ins), los datos fueron transformados a valores z (anexo V). Considerando a toda la población infantil evaluada (n=140) se obtuvo un alto porcentaje que cae dentro del rango del valor esperado (-2DE a +2DE), durante la ejecución tanto con la mano dominante (81%) como con la mano no dominante (85%).

Al comparar los valores entre los diferentes grupos de edad y sexo obtenidos en cada una de las 3 zonas divididas, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los valores z obtenidos en cada una de las zonas, tanto para la ejecución con la mano dominante (-0.18 ± 2.1<sub>zona 1</sub>; -0.15 ± 1.6<sub>zona 2</sub> y -0.015 ± 2.1<sub>zona 3</sub>); como con la mano no dominante (-0.04 ± 1.8<sub>zona 1</sub>; -0.02 ± 1.0<sub>zona 2</sub> y -0.28 ± 1.3<sub>zona 3</sub>).

En la figura 15 se presentan las curvas de distribución normal de los resultados obtenidos de cada una de las zonas de estudio para la mano dominante (a) y no dominante (b), aplicada a los niños seleccionados para el estudio. El porcentaje más alto de niños con valores z por abajo de -2DE con

respecto al promedio esperado, para la mano dominante se obtuvo en la zona 1 (15%) en comparación con las zonas 2 y 3 (8 y 12% respectivamente). Esta misma tendencia se observó en la ejecución con la mano no dominante, es decir los niños que viven en la zona 1 presentaron el porcentaje más alto con valores z menores a -2DE que las zonas 2 y 3 (13% vs 6 y 7%, respectivamente).

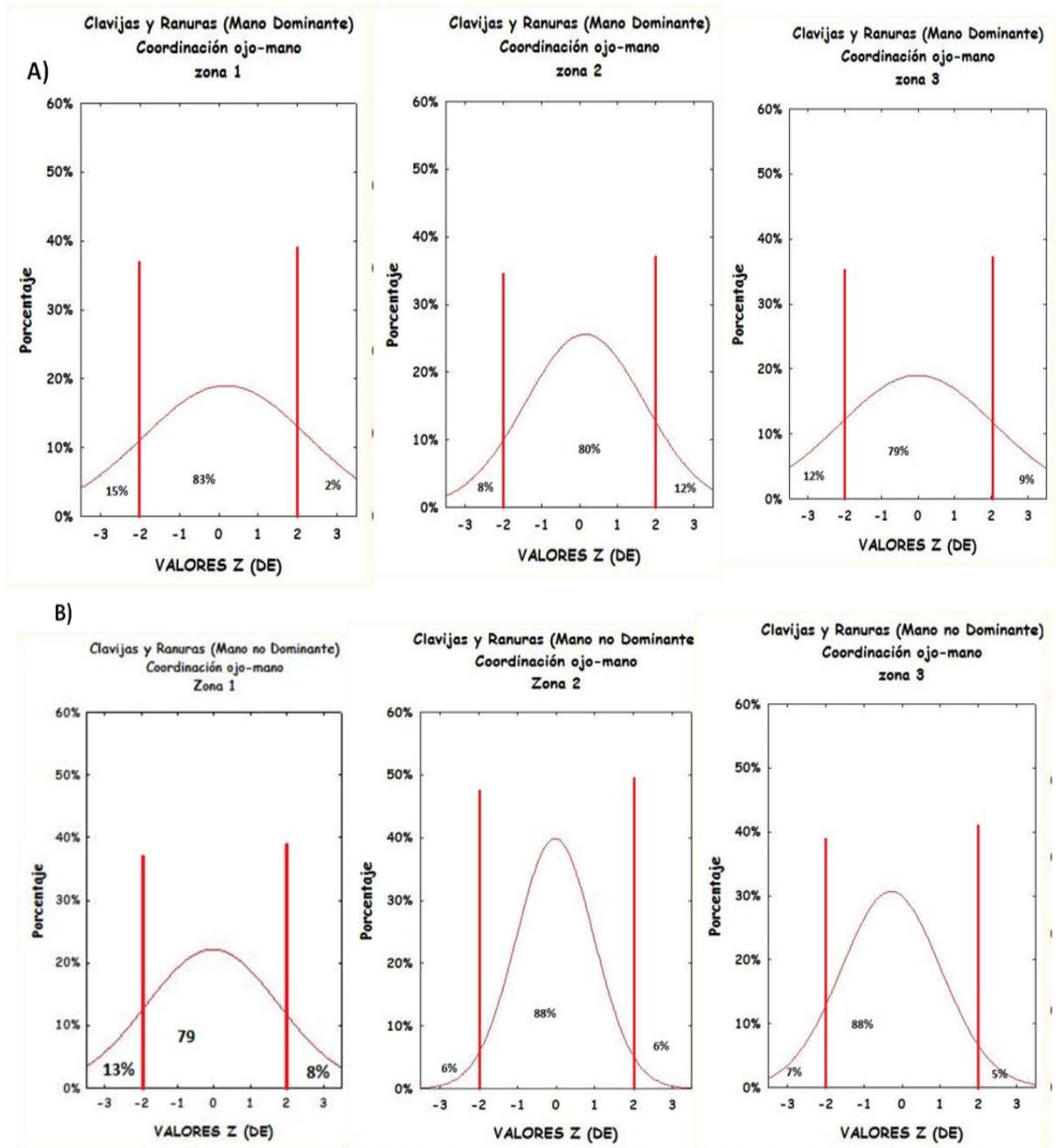


Figura 15. Curvas de distribución normal de los resultados obtenidos en el tablero de clavijas y ranuras aplicada a la población infantil de la comunidad de El Refugio, Cd. Fernández, SLP. A) mano dominante. B) mano no dominante. Las líneas verticales rojas delimitan los límites de las desviaciones estándar esperadas con respecto a una población de referencia (+2 y -2 DE).



## **6.7 Asociación entre los biomarcadores de exposición y la función cognitiva.**

Un número importante de factores del contexto socio demográfico pueden tener un efecto sobre la función intelectual de los niños, por ejemplo el nivel socioeconómico y la escolaridad de la madre. Además hay un efecto de variables del niño como género y estatus nutricional que pueden afectar esta relación. Por lo que se evaluó la posible asociación entre la exposición ambiental a los contaminantes, Organoclorados (POCs y BPCs) reportados en  $\mu\text{g/g}$  lípidos; metabolitos alquilfosfatos (AF) reportados en  $\text{ng/g}$  lípidos; los potenciales confusores (edad, género, escolaridad de la madre, nivel socioeconómico, indicadores antropométricos y concentración de plomo en sangre) y las variables de respuesta obtenidas en la evaluación cognitiva (WISC-IV, FCRO y Tablero de Clavijas y Ranuras) en niños de El Refugio, Cd. Fernández, SLP.

Debido a que no se observó una diferencia significativa entre los niveles de exposición en cada una de las zonas en que se dividió el estudio, se corrieron los análisis de correlación así como los modelos de regresión incluyendo a toda la población en estudio.

En la tabla 11 se presentan las correlaciones efectuadas entre los resultados de las pruebas aplicadas para evaluar la función cognitiva y el género, edad, nivel socioeconómico, indicadores antropométricos y escolaridad de la madre. El género presentó una correlación significativa con las variables de respuesta obtenida en el WISC-IV ( $p=.002$ ), en las ejecuciones a la copia ( $p=.020$ ) y memoria FCRO ( $p=.006$ ). La edad presentó una correlación significativa con los valores obtenidos en la ejecución del tablero con la mano dominante ( $p=.008$ ) y no dominante ( $p=.001$ ), y en la ejecución de la FCRO a la copia ( $p=.011$ ). No se observó correlación con el nivel socioeconómico, con los indicadores antropométricos, ni que con la escolaridad de la madre, pero este último como es una variable de relevancia en la educación de los niños se incluyó en los modelos finales.



Tabla 11 Correlación entre los resultados de las pruebas neurocognitivas y los factores Sociodemográficos y variables del niño.

	Género	Edad	NSE	Esc. Madre	P/E	T/E
	r	r	r	r	r	r
	Sig.	Sig.	Sig.	Sig.	Sig.	Sig.
CI total	0.278**	-0.031	0.116	-0.004	-0.010	0.034
	0.001	0.719	0.173	0.965	0.909	0.689
ICV	-0.039	-0.097	0.075	0.161	0.066	0.136
	0.650	0.255	0.378	0.057	0.440	0.109
IRP	-0.095	-0.016	-0.034	-0.024	0.194	0.120
	0.264	0.847	0.687	0.777	0.022	0.159
IMT	0.132	-0.101	0.078	0.130	0.124	0.164
	0.120	0.235	0.362	0.125	0.145	0.053
IVP	0.353**	0.044	0.118	-0.040	0.022	0.040
	0.000	0.604	0.165	.640	0.794	0.638
Z score	0.024	0.223**	-0.085	0.008	0.074	-0.038
Tab. Mano Dominante	0.781	0.008	0.320	0.922	0.384	0.657
Z score	0.015	0.328**	-0.080	0.002	0.087	-0.047
Tab. Mano no Dominate	0.063	0.000	0.345	0.977	0.305	0.585
Z score	-0.230*	0.251*	-0.064	0.026	0.141	0.014
Copia FCRO	0.020	0.011	0.526	0.794	0.115	0.887
Z score	-0.273**	0.174	0.136	0.035	0.140	0.066
Memoria FCRO	0.006	0.080	0.173	0.729	0.162	0.507

\*\*p&lt;0.01; \*p&lt;0.05; n=140 niños.

NSE= Nivel socioeconómico; P/E= Peso para la talla; T/E= Talla para la edad. r= Coeficiente de Spearman. CI total: Coeficiente Intelectual Total. ICV: Índice de Comprensión Verbal. IRP: Índice de Razonamiento Perceptual. IMT: índice de Memoria de Trabajo. IVP: índice de Velocidad de Procesamiento. FCRO: Figura Compleja de Rey Osterrieth.



En las tablas 12 y 13, se presentan los modelos de regresión simple y ajustada para cada biomarcador de exposición detectado en la población de estudio, ajustado por edad, género y escolaridad de la madre y los resultados obtenidos en la evaluación neuropsicológica.

No se encontró una asociación significativa entre los niveles de exposición a los plaguicidas organoclorados (Lindano y DDE) y al metabolito DEDTP y el riesgo de obtener puntuaciones bajas en el coeficiente intelectual total (CIT) así como tampoco con cada uno de los índices que lo componen. Esta misma no correlación se observó entre las habilidades visoespaciales, a través de la aplicación de la prueba de FCRO, la evaluación de la coordinación ojo-mano tanto con la mano dominante como con la no dominante, evaluada a través de la prueba de tablero de clavijas y ranuras (GroovedPegboard) y las concentraciones detectadas de Lindano, DDE y DETP.

En las tablas 12 y 13 se presentan los resultados obtenidos de el modelo de regresión lineal mixto. Se encontró una asociación negativa en el modelo sin ajustar y ajustado por las variables de edad, género, escolaridad de la madre y plomo en sangre, entre los niveles plasmáticos de BPC153 y el índice de razonamiento perceptual (IRP), en donde por cada aumento de una ppm ( $\mu\text{g/g}$  lípido) de este contaminante hay una disminución de 8.55 puntos de este índice ( $\beta = -8.55$ ;  $\text{IC}_{95\%}, -16.52, -0.57$ ;  $p=0.05$ ).

La asociación entre los niveles plasmáticos de este compuesto y el IRP se determinó por el efecto de este contaminante en las subpruebas del diseño en cubo (BPC153  $\beta -1.74$ ,  $p < 0.05$ ) y matrices (BPC153  $\beta -1.54$ ,  $p < 0.05$ ) ajustado por género, edad, escolaridad de la madre y PbS



Tabla.12 Asociación entre los biomarcadores de exposición y la función cognitiva de niños de El Refugio, Cd. Fernández; SLP. Modelos de regresión lineal mixtos (sin ajustar)

	CI Total	ICV	IRP	IMT	IVP	<sup>a)</sup> Tab. Mano Dominante	<sup>a)</sup> Tab. Mano no Dominante	<sup>a)</sup> Copia FCRO	<sup>a)</sup> Memoria FCRO
	$\beta$ (95%IC)	$\beta$ (95%IC)	$\beta$ (95%IC)	$\beta$ (95%IC)	$\beta$ (95%IC)	$\beta$ (95%IC)	$\beta$ (95%IC)	$\beta$ (95%IC)	$\beta$ (95%IC)
<b>Sin ajustar</b>									
<b>Lindano</b>	1.19 (-0.13, 2.51)*	0.90 (-0.39, 2.20)	0.82 (-0.58, 2.22)	0.16 (-1.22, 1.55)	1.18 (-0.07, 2.43)*	-0.199 (-.450 - .011)	-0.166 (-.319 - .013)	0.030 (-.213 - .290)	0.110 (-.080 - .300)
<b>p p' DDE</b>	0.74 (-0.40, 1.88)	0.97 (-0.16, 2.09)*	1.07 (-0.19, 2.33)*	1.04 (-0.14, 2.22)*	0.57 (-0.53, 1.66)	-0.150 (-.345 - .045)	-0.123 (-.256 - .019)	0.028 (-.250 - .305)	0.114 (-.096 - .325)
<b>BPC153</b>	-1.67 (-8.83, 5.48)	1.00 (-6.06, 8.07)	<b>-8.74</b> <b>(-16.45, -1.03)**</b>	1.33 (-6.09, 8.76)	-2.71 (-9.52, 4.10)	0.703 (-.493 - 1.89)	0.830 (-.040 - 1.7)	-0.903 (-2.29 - .485)	-0.566 (-1.6 - .480)
<b>DEDTP</b>	-0.73 (-3.40, 1.93)	-0.53 (-3.15, 2.11)	0.40 (-2.51, 3.32)	0.09 (-2.68, 2.86)	-0.90 (-3.43, 1.64)	0.062 (-.479 - .374)	-0.052 (-.368 - .256)	-0.106 (-.613 - .402)	-0.138 (-.52 - .277)
<b>PbS</b>	-1.72 (-6.40, 2.95)	<b>-5.00</b> <b>(-9.51, -0.50)**</b>	<b>-4.57</b> <b>(-9.59, 0.45)*</b>	-2.55 (-7.39, 2.30)	-0.92 (-5.37, 3.53)	0.774 (-.020 - 1.5)	0.435 (-.114 - .984)	0.870 (.062 - 1.8)	0.174 (-.533 - .881)
<b>PbS al cuadrado</b>	0.15 (-0.18, 0.47)	<b>0.39</b> <b>(0.08, 0.70)**</b>	<b>0.31</b> <b>(-0.04, 0.66)*</b>	0.19 (-0.15, 0.52)	0.09 (-0.22, 0.40)	-0.056 (-.110 - -.003)	-0.030 (-.069 - .009)	-0.063 (-.130 - .004)	-0.015 (.066 - .036)

n=140 niños; \* p<0.1; \*\* p<0.05. CI total: Coeficiente Intelectual Total, ICV: Índice de Comprensión Verbal. IRP: Índice de Razonamiento Perceptual. IMT: índice de Memoria de Trabajo. IVP: índice de Velocidad de Procesamiento. FCRO: Figura Compleja de Rey Osterrieth.

a) Valores transformados a Z score



**Tabla.13 Asociación entre los biomarcadores de exposición y la función cognitiva de niños de El Refugio, Cd. Fernández, SLP. Modelos de regresión lineal mixtos (ajustados).**

	CI Total β (95%IC)	ICV β (95%IC)	IRP β (95%IC)	IMT β (95%IC)	IVP β (95%IC)
<b>Ajustados</b>					
<sup>1</sup> PCB153	-3.77 (-11.10, 3.57)	-0.67 (-7.78, 6.44)	<b>-8.55</b> <b>(-16.52, -0.57)**</b>	-0.88 (-8.57, 6.79)	-5.20 (-11.99, 1.59)
<sup>2</sup> PbS	-1.03 (-5.74, 3.69)	<b>-5.39</b> <b>(-9.95, -0.82)**</b>	-5.10 (-10.2, 0.01)*	-2.61 (-7.54, 2.32)	-0.12 (-4.48, 4.24)
PbS <sup>2</sup>	0.08 (-0.25, 0.41)	<b>0.42</b> <b>(0.10, 0.74)**</b>	0.36 (-0.002, 0.72)*	0.18 (-0.16, 0.53)	0.01 (-0.29, 0.32)
Edad	-0.12 (-1.14, 0.91)	-0.94 (-1.93, 0.06)*	-0.34 (-1.46, 0.78)	-0.83 (-1.91, 0.25)	0.05 (-0.91, 1.00)
Sexo Femenino	<b>5.47</b> <b>(1.30, 9.64)**</b>	-1.57 (-5.61, 2.46)	-3.07 (-7.60, 1.46)	2.16 (-2.21, 6.52)	<b>7.38</b> <b>(3.52, 11.23)**</b>
Educación de la Madre					
Sin escolaridad					
Primaria	1.23 (-4.32, 6.77)	-0.17 (-5.54, 5.21)	1.31 (-4.74, 7.36)	0.64 (-5.18, 6.45)	0.55 (-4.59, 5.68)
Secundaria o más	-0.34 (-6.22, 5.53)	2.82 (-2.87, 8.51)	0.13 (-6.24, 6.51)	4.01 (-2.13, 10.16)	-0.99 (-6.43, 4.44)

n=140 niños; \* p<0.1; \*\* p<0.05. CI total: Coeficiente Intelectual Total, ICV: Índice de Comprensión Verbal. IRP: Índice de Razonamiento Perceptual. IMT: índice de Memoria de Trabajo. IVP: índice de Velocidad de Procesamiento. <sup>1</sup>ajustado por PbS, edad, sexo y escolaridad de la madre. <sup>2</sup> ajustado por BPC153, edad, género y escolaridad de la madre

En el análisis de regresión lineal mixto se observa en el 100% de los niños evaluados, una asociación significativa entre los niveles de plomo en sangre (PbS) y los índices de comprensión verbal (ICV) y razonamiento perceptual (IRP) (tablas 12 y 13). El modelo obtenido, estima una disminución de 5 puntos en el ICV (95% IC, -9.95, -0.82;  $p=0.05$ ) y en el IRP (95%IC, -10.2, 0.01) con niveles de PbS menores a 8 ug/dL, ajustado por BPC153, edad, género y escolaridad de la madre.

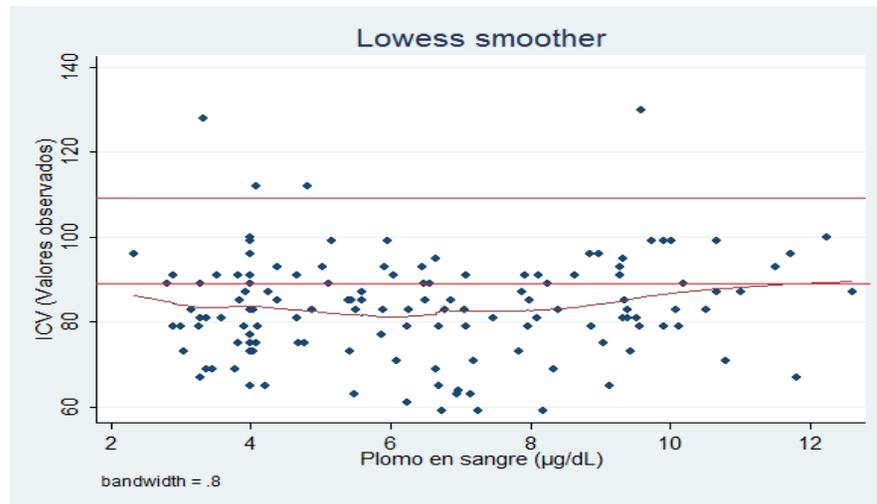
El efecto observado sobre el ICV se explica principalmente por la asociación negativa de este metal con las subpruebas de vocabulario, comprensión y palabras con claves. En el caso del IRP esta disminución



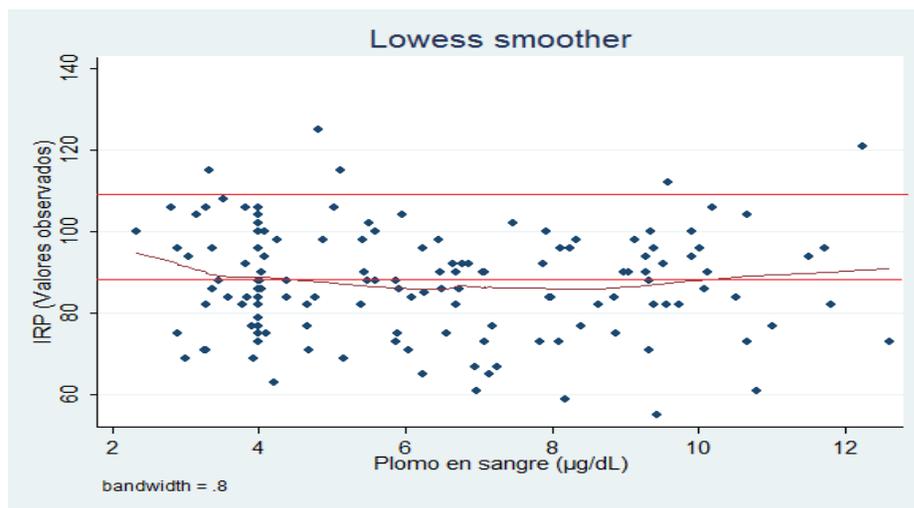
de los puntos obtenidos, se encuentra determinado principalmente por el efecto sobre las subpruebas de diseño con cubos y matrices.

Con la finalidad de ajustar el modelo para mostrar la no linealidad de la asociación entre el PbS y los ICV e IRP, repitió el análisis incluyendo el término cuadrático de las concentraciones de PbS, mediante una prueba de linealidad de regresión Lowess (Cleveland y Devlin; 1988). Este modelo lineal general (MGA) representa la mejor aproximación lineal a todo el conjunto de datos de cada variable explicativa y sirven para analizar la presencia de no linealidades en la relación entre la variable dependiente y cada una de las explicativas en el modelo. Los algoritmos de LOWESS (*locally weighted exponential smoothing*) estiman regresiones ponderadas utilizando un subconjunto de  $n$  observaciones contiguas denominado ancho de ventana. Para cada observación de la muestra, el algoritmo Lowess devuelve el valor ajustado mediante la regresión local y a la secuencia gráfica de dichos valores ajustados se le denomina regresograma. Este modelo fue realizado mediante el paquete estadístico Stata versión 11.0.

En las figuras 16 y 17 se presentan las gráficas de la no linealidad entre el PbS y los ICV e IRP respectivamente. La línea negra representa el ajuste lineal de los datos y las líneas rojas indican el puntaje esperado para cada uno de estos índices. Se puede observar la no linealidad del efecto del plomo en sangre sobre los índices de comprensión verbal y el de razonamiento perceptual, debido a que en ambas gráficas se observa que la pendiente de esta la relación se encuentra ligeramente más pronunciada a niveles menores de  $8 \mu\text{g/dL}$  que a concentraciones por arriba de  $10 \mu\text{g/dL}$ .



**Figura 16.** Regresión lowess entre las concentraciones de plomo en sangre y el índice de comprensión verbal (ICV) ajustado por edad, género y escolaridad de la madre. La línea negra representa el ajuste lineal. Las líneas rojas el valor esperado para este índice (90-110 pts).



**Figura 17.** Regresión lowess entre las concentraciones de plomo en sangre y índice de razonamiento perceptual (IRP) ajustado por edad, género y escolaridad de la madre. La línea negra representa el ajuste lineal. Las líneas rojas el valor esperado para este índice (90-110 pts).



## VIII. Discusión

Los procesos de validación y estandarización de los métodos instrumental y analíticos para la cuantificación de los compuestos organoclorados en plasma y los metabolitos alquilfosfatos de los plaguicidas organofosforados en orina, cumplieron con todos los parámetros exigidos de acuerdo a la Eurachem, garantizando de esta manera que los resultados obtenidos de la evaluación de la exposición a estos contaminantes fueron confiables.

Este estudio demostró que los niños de la comunidad agrícola de El Refugio, Cd. Fernández, SLP, están expuestos a distintos compuestos OC (*p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT, lindano) y BPCs (congéneres, 28, 52, 118, 153, 156 y 170), organofosforados y Plomo. Las concentraciones de *p,p'* DDE fueron 5 veces más altas que los reportados en la población infantil de 12 a 19 años de los Estados Unidos de América en el NHANES IV (CDC, 2009) y 9 veces más altas que las obtenidas en el estudio realizado en adolescentes de 12 a 19 años de edad, residentes en los Estados Unidos (Nedlham et al., 2005).

Estudios realizados en Alemania del Oeste y Este en una población infantil de 3 a 14 años de edad, reportan concentraciones de DDE de 190 ng/g Lip y de 413 ng/g Lip, respectivamente (Becker y Kolossa-Gehring, 2008), como puede observarse estas concentraciones están de 3 a 6 veces más bajas que las concentraciones encontradas en nuestra población infantil de estudio (1,117.36 ng/g Lip.).

Dada la alta persistencia del DDT en México diversos autores han detectado la presencia de este insecticida en muestras de polvo y suelo de comunidades de zonas endémicas de transmisión de paludismo, tanto en el norte (Díaz-Barriga Martínez, et al., 2012) como en el sur del país (Trejo-Acevedo et al., 2012; Martínez-Salinas et al., 2011), así como en muestras biológicas (Trejo-Acevedo et al., 2012; 2009; Pérez-Maldonado et al., 2010).

Cuando comparamos las concentraciones de DDT y DDE obtenidas de nuestra población infantil de estudio, podemos observar que son menores a las reportadas en diferentes comunidades de Estados localizados al suroeste de México, por ejemplo en Chiapas (Pérez Maldonado et al., 2010) se reportó una media de los niveles de DDE de 22,284 ng/g Lip, valor que está 20 veces más alto que el encontrado en nuestro estudio (1,117.36 ng/g Lip). En Quintana Roo las concentraciones reportadas de



este insecticida fueron 35 veces más altas que las obtenidas en el presente estudio (39,432.2 vs 1117.36 ng/g Lip) (Trejo-Acevedo et al., 2012).

Esta diferencia se debe a que el Suroeste de México es una zona endémica de transmisión de Paludismo, en donde se aplicó el DDT por más de 40 años. No obstante que el uso de este insecticida está prohibido en México desde el año 2000, aún es posible detectarlo y a su principal metabolito el DDE, dada su alta persistencia y a sus propiedades de bioacumulación y biomagnificación.

El polvo y el suelo son importantes rutas de exposición a plaguicidas, El Refugio comparte características a las de otras comunidades endémicas de paludismo, comunidades rodeadas por campos agrícolas en donde la exposición al polvo y el suelo son importantes, por lo que consideramos que estas rutas deben de ser evaluadas y determinar el aporte de cada una de ellas, en la exposición y en el potencial de riesgo a la salud para la comunidad de El Refugio.

Otro plaguicida ampliamente utilizado en México fue el lindano, isómero gamma del hexaclorociclohexano ( $\gamma$ -HCH) considerado como el más tóxico. En nuestro país éste fue utilizado para el control de la escabiasis y pediculosis humana y hasta el año 2006 estaba incluido dentro del cuadro básico de medicamentos (SSA, 2006). Nuestros resultados demuestran que el principal uso de este compuesto en la población estudiada (74%) fue con fines terapéuticos, comprobando el uso extensivo de este compuesto entre las poblaciones rurales de México. Actualmente es importante mencionar que México ha prohibido el uso de este insecticida como parte de los compromisos internacionales adquiridos.

Los efectos agudos observados en humanos por la exposición a Lindano, se deben a intoxicaciones accidentales o intencionales por ingestión, inhalación o absorción a través de la piel, ocasionando irritación de la piel, mareos, dolores de cabeza, diarrea, náuseas, vómito, convulsiones e inclusive la muerte (ATSDR 2011). Los efectos observados por exposición crónica a este compuesto en altas concentraciones, comprenden estimulación del sistema nervioso central, excitación, problemas motores y convulsiones, puede afectar al hígado, causar cáncer e inmunosupresión. (ATSDR 2011)

Al comparar los niveles detectados de este contaminante en esta investigación con los estudios realizados en nuestro país, podemos observar que las concentraciones aquí reportadas son más bajas



que las de niños de nueve comunidades de México, en donde reportan una media de 4,000 ng/g Lip (Trejo-Acevedo et al., 2009), contra 1,696.95 ng/g lípidos de este estudio. Sin embargo nuestros resultados fueron más altos que los reportados en niños que viven en áreas urbanas de Alemania, en donde la concentración de Lindano fue de aproximadamente menor a 15 ng/g Lip (Heudorf et al 2003) vs lo obtenido en nuestra población en estudio (1,696.95 ng/g lípidos). De igual manera fueron superiores a los reportados en el NHANES IV de una población infantil de 12 a 19 años de edad (CDC, 2009), que reporta los valores como no detectables.

Un hallazgo inesperado en nuestra población de estudio, fueron los niveles séricos detectados de los congéneres de BPCs, debido a que no hay en el área zonas industriales. Los congéneres de BPCs detectados fueron el 118, 153, 28, 52, 156 y 170. El congénere con mayor frecuencia cuantificado fue el BPC153 en el 82% de la población.

Las concentraciones plasmáticas detectadas de estos compuestos en nuestra población infantil de estudio, fueron más altas que las reportadas en los estudios realizados por el NHANES (CDC, 2009). Dada que la mayoría de estos compuestos ya no se usan, su presencia en plasma, generalmente reflejan una exposición en el pasado, o bien que la madre fué una importante fuente de exposición durante los periodos de gestación y lactancia ya que pueden permanecer en el cuerpo durante años después de la exposición. Dependiendo del número de cloros en la molécula, será la vida media del compuesto, es decir, aquellos con una vida media más grande permanecerán más tiempo en el organismo y se acumularán en niveles superiores (Apostoli et al., 2005; Park et al., 2007). Por lo tanto la lactancia, es una de las principales fuentes de exposición a BPCs, generando un aumento de los niveles de estos compuestos después del nacimiento del bebé, disminuyendo en la adolescencia debido a la dilución por el aumento de la masa corporal (Barr et al., 2006).

Al comparar nuestros resultados con los valores reportados en un estudio realizado en los Grandes Lagos, en donde la población infantil era alimentada con leche materna de mujeres intoxicadas por el consumo de alimentos contaminados, podemos observar que los niveles obtenidos en la población infantil de El Refugio, Cd. Fernández, son 2 veces más bajos que los reportados en ese estudio (5.1 µg/mL) (Jacobson, 1990). Por otro lado el consumo de pescado en esta misma región de los Grandes Lagos contribuyó con un aumento en el orden de 2 a 10 veces las concentraciones de BPCs



comparadas con la poblaciones de referencia (Turyk et al., 2006). Los niveles detectados en nuestra población de estudio son muy parecidos a los reportados en una población infantil nacida en una región con alta contaminación por BPCs en la República de Eslovaquia (0.35  $\mu\text{g/g}$  lípido vs 0.37  $\mu\text{g/g}$  lípido) debido a los desechos generados por una planta química (Trnovec et al., 2010).

En la mayoría de los estudios de biomonitorio realizados en distintas poblaciones, demuestran que los congéneres más frecuentemente detectado son 138, 153 y 180 (Patterson et al, 2009; Turyk et al, 2006; CDC, 2005; Heudorf et al, 2002). Un estudio realizado en Nueva Zelanda (Bates et al, 2004.), reportó que los niveles de los congéneres 138, 153 y 180, contribuyeron con una porción sustancial del total de la concentración BPCs detectada. En el presente estudio, los congéneres detectados con mayor frecuencia fueron 28, 52, 118, 153, 156 y 170.

En México en los últimos años distintos autores han reportado estudios en poblaciones expuestas a BPCs en diversos lugares y ambientes (Diaz-Barriga Martínez et al., 2011; Costilla-Salazar et al., 2011; Rocha-Amador et al., 2009; Trejo-Acevedo et al., 2009). Las concentraciones detectadas fueron superiores a las reportadas en los estudios realizados en el NHANES (CDC, 2009). Al comparar los niveles de BPCs detectados en nuestra población, con los reportados en estudios realizados en diferentes estados de la República Mexicana, encontramos que los niveles detectados en la población infantil de El Refugio, Cd. Fernández, SLP, son 4 veces más bajos que los reportados en una zona minera la cual es utilizada como confinamiento de BPCs, ubicada en la comunidad de San Felipe Nuevo Mercurio, Zacatecas (1.6  $\mu\text{g/g}$  lípido San Felipe vs 0.37  $\mu\text{g/g}$  lípido El Refugio)(Costilla-Salazar et al., 2011), y tres veces más bajas a los niveles reportados en la comunidad ladrillera de San Nicolás, en el Estado de Querétaro (Trejo-Acevedo et al., 2009), en donde se menciona que la posible fuente de exposición a BPCs, se debe a la quema de aceite contaminado durante la fabricación de ladrillos. Para el presente estudio, de igual forma podríamos atribuir, que los BPCs encontrados en el área de estudio tengan el mismo origen y ruta, debido a que se observó durante los periodos de muestreo y recorridos por las distintas zonas de estudio, que al interior de algunas casas se localizan aproximadamente 60 ladrilleras, las cuales utilizan diversos materiales de combustión para la fabricación de ladrillos, desde biomasa hasta la quema de aceites usados, de los que no fue posible determinar su origen.



Es importante determinar los niveles de exposición a contaminantes, pero lo es también establecer los probables efectos a la salud y el significado biológico de éstos. Estudios realizados en animales han observado que dependiendo de la posición y de los diferentes grados de clorinación de los congéneres de BPCs, éstos pueden causar distintos efectos neurotóxicos (Landrigan et al., 2001). Los reportes indican que los congéneres de *ortho* –*sustituídos*, son más activos que los BPCs no coplanares, en la alteración de los procesos cognitivos (ATSDR, 2011).

Los estudios realizados en humanos expuestos ambientalmente a BPCs son concluyentes en cuanto a que estos tóxicos, afectan la función de los sistemas endocrino, inmunológico y nervioso, entre otros (ATSDR, 2011; Millar-Pérez et al., 2009). Los efectos observados por la exposición prenatal a estos compuestos se han asociado con deficiencias en el neurodesarrollo del niño, déficit en el Coeficiente Intelectual, alteraciones neuropsicológicas en la atención, el aprendizaje, hiporeflexia y el desarrollo psicomotor. La exposición aguda o crónica a los BPCs se asocia con cefalea, insomnio, nerviosismo, irritabilidad, depresión y ansiedad (ATSDR, 2011; Torres-Sanchez et al., 2009; Eskenazi et al., 2007; Schantz et al. 2006. Ribas- Fito et al., 2003; Stewart et al., 2000).

La detección y cuantificación de los metabolitos alquilfosfatos (AF) en orina, ha sido utilizada para evaluar la exposición a plaguicidas organofosforados (OFs) en niños que viven en comunidades agrícolas (Bradman et al., 2011; Grandjean et al., 2007; Lambert et.al., 2005; Kissel et al., 2004; Shalat et al., 2003; Curl et al., 2002) y más recientemente en comunidades urbanas y peri-urbanas (Bouchard et al., 2011; Engel et al 2011; Valcke et al., 2006). Estos estudios han detectado regularmente al menos a uno de los 6 metabolitos AF en el 99% de las muestras analizadas.

Otros autores han comparado la exposición a OFs entre niños que viven en áreas urbanas y los que viven en áreas agrícolas, reportando que los niños que viven en éstas últimas presentan durante los periodos de fumigación, concentraciones de los metabolitos AF más altas, en el orden de 5 veces más que los niños que viven en comunidades no agrícolas (Bradman et al., 2011; Valcke et al., 2006; Lamber et al., 2005).

En el presente estudio, se demostró que los niños evaluados están expuestos a OFs, ya que se les detectaron tres metabolitos AF (DEP, DEDTP y DMDTP) de los cinco analizados, en más del 50% de las



muestras de orina, con valores ligeramente por arriba de los niveles reportados en la población infantil de 6-11 años de edad de los Estados Unidos de América (CDC, 2009).

Un estudio realizado por Bradman et al. (2011) en la comunidad agrícola del El Valle de Salinas, California, reportó una concentración media del metabolito DEP de 3.1 ug/L, valor tres veces por arriba de lo detectado en nuestra población (1.0 ug/L). Sin embargo a diferencia de nuestro estudio, ellos no reportan niveles detectables de los metabolitos DEDTP y DMDTP, las concentraciones obtenidas de estos metabolitos en nuestra población fueron de 2.2 y 3.97 ug/L respectivamente.

En nuestra población de estudio se detectó en un 51% de las muestras analizadas al DEP y en un 56% al DMDTP, estos resultados son similares a lo reportado por Bouchard et al. (2010), en un estudio realizado en sitios agrícolas de Estados Unidos, con niños trabajadores agrícolas y niños con hogares frecuentemente tratados con plaguicidas (53% y 42%) respectivamente.

En lo que respecta a estudios efectuados en América Latina, Grandjean et al. (2006) reportó la presencia del DEP en el 82% y del DMDTP en el 28% de las muestras analizadas de niños de una comunidad agrícola de El Salvador, al comparar los resultados podemos observar que la frecuencia de detección del metabolito DEP fue más alta que la obtenida en nuestra población en estudio (51%), sin embargo, con lo que respecta al DMDTP la frecuencia de detección fue 2 veces más baja (28% vs 56%).

En México, la evaluación de la exposición a estos plaguicidas, se ha llevado a cabo principalmente en poblaciones adultas ocupacionalmente expuestas, involucradas en las actividades de floricultura, en donde la aplicación de estos plaguicidas es amplia. Los datos sobre los niveles de exposición en la población infantil son escasos.

Es difícil comparar los resultados obtenidos de los niveles de los metabolitos AF de nuestro estudio, con los realizados en otras partes del mundo, debido a distintas razones: La diferencia en el periodo de muestreo, los niveles de exposición, el tipo de plaguicida, uso de mezclas o cockteles de plaguicidas y herbicidas así como las características geográficas y meteorológicas de las áreas agrícolas donde son aplicados. Por otro lado, las propiedades físico-químicas, su degradación y transporte en el ambiente.



Aunado a lo anterior no hay coincidencias en los tiempos de colecta de la muestra de orina y si una muestra de orina por voluntario es suficiente para evaluar la exposición (Valcke et al., 2006)

Otro factor importante que contribuye a la diferencia encontrada entre los distintos estudios analizados, en cuanto a los niveles y frecuencia de detección de éstos compuestos, se debe a la variabilidad de los individuos expuestos. En los niños su metabolismo, su capacidad de detoxificación así como otras funciones fisiológicas están aun en desarrollo (Muñoz et al., 2012; Bradman et al., 2010; Lambert et al., 2005; Pastor et al., 2003).

La presencia de los metabolitos AF en muestras de orina de niños, ha sido asociada con la dieta por el consumo de alimentos con residuos de estos plaguicidas, principalmente frutas y vegetales (Nacher et al., 2010, Valcke et al., 2006; Vida y Moreto et al., 2007; Barr et al., 2004). Tal y como lo demuestra el estudio realizado por Muñoz et al. (2012) en donde reportan que los niños que consumieron frutas y vegetales con residuos del plaguicida clorpirifos, presentaron 2 veces más altos niveles de AF que los niños que no consumen alimentos con residuos de este plaguicida. Esto es consistente con la teoría general de que la principal fuente de exposición crónica a bajos niveles de plaguicidas OFs en niños, se origina de la presencia de residuos de estos plaguicidas en los alimentos y ocasionalmente puntualizadas por eventos de exposición a altas dosis como resultado del uso específico de estos compuestos en los hogares o en la agricultura (Muñoz-Quezada et al., 2011; Valcke et al., 2006). Sin embargo, en el presente estudio no se consideró la contribución de la dieta en el total de la exposición, por lo que no fue posible determinar el porcentaje de participación de esta fuente de exposición en los niveles de los metabolitos detectados en la población infantil de El Refugio, Cd. Fernández, SLP.

En nuestro estudio se encontraron 3 metabolitos AF (DMDTP, DEP y DEDTP en el 56, 51 y 75% de las muestras de orina analizadas respectivamente), este resultado sugiere que en el área de estudio se utilizan derivados del ácido fosfórico, tales como paratión, clorpirifos, etión y malatión, mismos compuestos que fueron reportados por los agricultores como los de mayor frecuencia y amplio uso en la zona de estudio (información recabada del cuestionario que se les aplicó).

Estudios sobre la exposición y la absorción de OFs realizados en poblaciones infantiles que viven en comunidades agrícolas, han evaluado la influencia de la cercanía de las viviendas a los campos de



cultivo, encontrando que tanto los niveles ambientales como las concentraciones de plaguicidas en orina, fueron significativamente más altas en niños que vivían más cerca de los campos de cultivo (Barr et al., 2011; Fenske et al., 2000; McCauley et al., 2001). En nuestro estudio se analizó la cercanía de las viviendas a los campos de cultivos y los niveles de exposición, no encontrando diferencias significativas entre las variables, por lo que la proximidad de las casas no fue un factor importante en el nivel de exposición, por lo que es necesario considerar y evaluar otras fuentes y rutas de exposición en el área de estudio, como la fumigación aérea, deriva eólica de plaguicidas y sobre todo el aporte de la dieta.

Los niños pequeños durante la exploración a su ambiente, por el contacto con el piso y otras superficies pueden estar expuestos a diversas clases de sustancias químicas, los niños que viven en comunidades agrícolas, tienen el más alto riesgo de exposición a plaguicidas comparados con la población en general, debido a que en este escenario se presenta todas las vías y rutas de exposición (Barr et al., 2011; Lambert et al., 2005; Kissel et al., 2004; Eskenazi et al., 1999).

La exposición al plomo ambiental es un importante problema de salud pública dada su alta toxicidad, en los últimos años los valores de referencia de exposición para este metal han descendido progresivamente (Azcona-Cruz et al., 2000). Evaluaciones recientes realizadas por la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU (EPA), han establecido como valor mínimo permitido 5 µg/dL de plomo en sangre (CDC, 2012). En el presente estudio encontramos una media en el total de los niños evaluados (n=140) de  $6.3 \pm 2.5$  µg/dL. Cuantificándose además en el 60% de los niños concentraciones superiores al valor de referencia (5 µg/dL). Al comparar nuestros resultados en la población infantil de 6 a 11 años de edad de los Estados Unidos (CDC, 2009), se observa que los niños de El Refugio tienen niveles de hasta 5 veces superiores.

En el 2004 se realizó un estudio para evaluar la exposición a este metal en la población infantil de diez Estados de nuestro país (INE, 2004), los autores reportan una concentración media nacional de 4.5 µg/dL, concentración por debajo de la obtenida en nuestra población de estudio (6.3 µg/dL).

Sin embargo, existen otras fuentes de exposición sobre las cuales no se tiene el mismo control, como el polvo, el uso de loza vidriada (FONART, 2010) o por el consumo de dulces contaminados elaborados a base de tamarindo con chile. Tal y como demuestra el estudio realizado recientemente en poblaciones



infantiles de 4 comunidades en diferentes estados de nuestro país, reportan altas concentraciones en sangre de este metal en la población de estudio. Encontrando que en la comunidad de Ávalos, Chihuahua, cuya principal actividad económica es la fundición de plomo, la concentración media detectada fue de 32  $\mu\text{g/dL}$ . En dos comunidades del Estado de SLP, Morales ubicada en una zona metalúrgica compuesta por una fundición de cobre y una electrolítica de zinc, el nivel promedio fué de 31  $\mu\text{g/dL}$  y en la comunidad de Cedral, la cual forma parte de un sistema industrial-metalúrgico las concentraciones medias de este metal fueron de 22  $\mu\text{g/dL}$ , y por último en la comunidad de la Trinidad, Tlaxcala, con actividad histórica y tradicional en la elaboración de artesanías en barro vidriado, los niveles fueron de 52  $\mu\text{g/dL}$  (Rico-Escobar, 2011). Al comparar nuestro resultados con los obtenidos en este estudio, podemos observar que estos valores están de 3 a 9 veces más altos que los obtenidos en nuestra de población estudio (6.3  $\mu\text{g/dL}$ ). En este mismo trabajo analizan una muestra de 58 dulces con y sin chile recolectados en la comunidad de Ávalos, Chi., (la cual presentó la concentración media más alta de plomo en sangre), encontrando que 25 de estos dulces presentaban valores por arriba del valor de referencia recomendado por la FDA. Estos resultados son consistentes con los informes elaborados por esta agencia (FDA, 2006) en donde da a conocer los resultados del análisis de dulces mexicanos a los cuales se les detectaron concentraciones entre 0.12 y 0.19 ppm, valores 10 veces más altos del valor de referencia 0.1 ppm (Rico-Escobar, 2011).

En nuestro estudio no fue posible identificar ni la fuente de contaminación ni la ruta de exposición a plomo que nos permita explicar los niveles detectados en sangre de este metal en los niños de El Refugio, Cd. Fernández, SLP. Por lo que es importante realizar investigaciones para determinar las mismas.

### **7.1 Asociación entre los biomarcadores de exposición y la función cognitiva.**

Los niños son particularmente susceptibles a los efectos adversos por la exposición ambiental a compuestos neurotóxicos, durante el desarrollo fetal la placenta ofrece protección a un sin número de compuestos, pero no es una barrera efectiva contra la exposición a neurotóxicos ambientales (Grandjean et al., 2007; Pan et al., 2009). Por otro lado, la barrera hematoencefálica protege al cerebro adulto contra muchos agentes tóxicos, sin embargo, ésta no está completamente formada si no hasta



aproximadamente los 10 años de edad (Pan et al., 2009; Gilmore et al., 2007). Se ha encontrado que en la materia gris cortical de los neonatos, las regiones de las funciones visuales y motoras crecen rápidamente durante los primeros meses de edad, completando su funcionamiento hasta el primer año de edad (Tellerías LC y París E., 2008). Debido a que la maduración del cerebro no se realiza al mismo tiempo en todas las áreas, la exposición a compuestos tóxicos en diferentes tiempos, puede causar efectos adversos en los diferentes dominios del desarrollo (Tellerías LC y París E., 2008; Pan et al., 2009; Adams et al., 2000).

Estudios epidemiológicos han evaluado la asociación entre BPCs, DDT y DDE y el neurodesarrollo de los niños, pero los resultados han sido inconclusos (Eskenazi et al., 2007; Rocha-Amador et al., 2009; Torres-Sanchez et al., 2007; Beard et al., 2006; Gray et al., 2005; Weiss et al., 2004; Ribas-Fito, 2003; Darvill et al., 2002; Faroon et al., 2001). Sin embargo, en estos estudios se ha demostrado que la exposición crónica a esta clase de compuestos tóxicos, tiene su principal efecto sobre el Sistema Nervioso Central (SNC).

Pocos estudios han evaluado el efecto en el neurodesarrollo en la población infantil expuesta a múltiples compuestos químicos, lamentablemente no fueron reportadas las concentraciones detectadas. Como por ejemplo, en el estudio realizado en el noroeste de México, en el Valle del Yaqui, lugar en donde se utilizan ampliamente los plaguicidas organoclorados, organofosforados y piretroides, compararon dos grupos de niños de 4 a 5 años de edad, uno expuesto a plaguicidas y otro no expuesto (Guillette et al., 1998). Se encontró que los niños expuestos, presentaron baja escala de ejecución con respecto a la motricidad fina, coordinación ojo-mano, habilidad para pintar una persona y problemas de memoria, es importante recalcar que en este estudio no se midieron los niveles plasmáticos de los plaguicidas sino que la información fue obtenida a través de la aplicación de un cuestionario. Por otro lado, estudios realizados por Rohlmn et al. (2001) con un grupo de 96 adolescentes hispanos trabajadores agrícolas y 52 adolescentes no involucrados en trabajos del campo, evaluaron la función neuroconductual, mediante pruebas computarizadas, encontrándose que los jóvenes agricultores presentaron baja escala en las pruebas cognitivas comparados con los no expuestos, sin embargo, los autores además de no cuantificar los AF en orina no controlaron esta asociación con la educación y diferencias culturales entre los grupos evaluados. A diferencia de estos reportes, en el estudio que aquí



se reporta analizamos los niveles de exposición a 14 plaguicidas organoclorados, 5 metabolitos AF, 14 BPCs y Plomo y además de que se evaluó la asociación controlando los distintos factores confusores, encontrando que los niveles de  $p,p'$ -DDE, Lindano y los metabolitos AF no presentan un efecto negativo sobre la función cognitiva de los niños, evaluación realizada mediante la prueba del WISC-IV, FCRO y Tablero de Clavijas y Ranuras.

Sin embargo, estos resultados no implican que el efecto adverso de estos compuestos químicos no pueda surgir en edades avanzadas. Esto ha sido demostrado en estudios realizados con trabajadores agrícolas, en donde incluyeron a personas con antecedentes de intoxicación no sintomáticos, aplicadores de plaguicidas y ex trabajadores agrícolas, encontrando un deterioro de las habilidades intelectuales, de abstracción, flexibilidad mental para pensar, trastornos de memoria, percepción y disminución de las habilidades motoras (Palacios-Nava et al., 2009; Karam et al., 2004; Palacios et al., 2002).

Reportes en la literatura han indicado que la exposición prenatal a plaguicidas afecta el desarrollo de las habilidades intelectuales y/o de comportamiento, entre los lactantes y niños en edad escolar (Ribas-Fito et al. 2003; Eskenazi et al., 2007; Torres Sanchez et al.; 2009; Stewart et al., 2008) sin embargo, estos hallazgos no han sido concluyentes, ya que algunos autores reportan que el efecto de algunos contaminantes orgánicos persistentes, sólo trascienden o se observan en niños que son criados en condiciones no óptimas y en etapas tempranas de desarrollo. Existe evidencia que sugiere que la persistencia de los efectos de la exposición prenatal a esta clase de sustancias químicas, puede ser distinta a los efectos de la exposición postnatal (Torres Sanchez et al., 2009; Stewart et al., 2008).

Diversos estudios han evaluado la persistencia de la asociación entre la exposición prenatal a diversos compuestos (OC, OF, BPCs) como el DDT y DDE y su efecto sobre el neurodesarrollo en las habilidades cognitiva y de motricidad, en poblaciones infantiles entre 3 y 36 meses de edad. Encontrando una asociación inversa significativa entre los niveles de DDT y DDE y el desarrollo mental y psicomotor a los 6 y 12 meses de edad, pero no a edades posteriores (Torres-Sanchez et al., 2009; Eskenazi et al., 2006; Rohlman et al. 2005). Los niveles de DDE detectados en estos estudios son dos veces más altos o en algunas ocasiones iguales a lo detectado en nuestra población infantil (12.06 ng/mL; 6.3 ng/mL, respectivamente). Por lo que nuestros resultados concuerdan con lo reportado en



estos estudios, ya que no se observa un efecto sobre la función cognitiva a las concentraciones de DDE detectadas (6.12 ng/mL).

Estudios realizados por Rocha-Amador et al., (2009), en poblaciones infantiles que viven en diferentes zonas de México expuestas a mezclas de agentes neurotóxicos, evaluaron la función viso-espacial mediante la prueba de Figura Compleja de Rey Osterrieth (FCRO), observando una asociación inversa entre los niveles de *p* p'DDE y la escala de memoria. Nuestros resultados no concuerdan con este estudio, ya que nosotros no encontramos esta asociación, esta diferencia se deba tal vez, a que las concentraciones encontrados en nuestro estudio son aproximadamente 9 veces menores que las reportadas por Rocha-Amador y cols. ( $53.7 \pm 6.6$  ng/mL vs 6.12 ng/mL), otra diferencia entre estos estudios es la edad en años de la población (7.7 vs 10.0 El Refugio), además, el porcentaje de niños con valores por debajo del valor esperado dentro de una distribución normal (-1DE a +1DE) tanto para la ejecución a la copia, como memoria fue más alta que lo reportado en nuestra población de estudio (43% copia; 62% memoria vs 33% copia y memoria, respectivamente). Otra diferencia detectada que posiblemente explique estos resultados es con respecto a los factores sociales (nivel socioeconómico, educación de la madre, nutrición) que prevalecen en las áreas de estudio, los cuales juegan un papel importante en la ejecución de esta prueba. En nuestro estudio el nivel socioeconómico como el estatus nutricional fue mayor que el reportado por Rocha y cols (Rocha-Amador et al., 2009).

Nuestros resultados indican que no existe una asociación entre los niveles de los compuestos tóxicos detectados y el funcionamiento neuropsicológico, particularmente relacionado con las habilidades visoconstructivas de los niños evaluados, a través de la prueba de la FCRO. Sin embargo, es importante observar que el 33% de nuestra población infantil evaluada, presentó un rendimiento bajo en la ejecución a la copia, lo que indica que este grupo de niños presentan una alteración en la percepción visual, pudiendo implicar alteraciones que limiten las ejecuciones visoespaciales, lo cual podría verse reflejado en alteraciones de la lecto-escritura y cálculo mental. Por otro lado, el bajo rendimiento obtenido en la ejecución de memoria, nos indica una alteración de la memoria a corto plazo, pudiendo tener relación principalmente con afectaciones en los procesos de aprendizaje visual (Campos et al., 2009; Shin 2006; Mula et al., 2005, Lara MA et al., 2003). Por lo que sería interesante dar seguimiento a estos niños hasta la adolescencia y evaluar las consecuencias en el neurodesarrollo por la exposición crónica a concentraciones bajas de estas sustancias tóxicas.



No se observó una asociación, entre las concentraciones urinarias de los metabolitos AF detectados con el daño en la función cognitiva evaluado a través del WISC-IV, FCRO ni con el Tablero de Clavijas y Ranuras, en la población infantil de 7 a 14 años de edad. Nuestros resultados son consistentes con algunos estudios en los que se ha reportado que la exposición postnatal a OFs no está asociada con efectos adversos en el funcionamiento neurocognitivo (Eskenazi et al., 2007; Marks et al., 2010).

Ruckart et al. (2004) examinaron la relación entre el metil paratión (plaguicida OFs) y el Coeficiente Intelectual Total (CIT), en una población infantil de 6 años de edad, no encontrando una asociación negativa de este plaguicida sobre el CIT. Sin embargo, reportan efectos en otros dominios neuropsicológicos específicos (disminución de la memoria, la atención y las habilidades motoras). Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Lizardi et al. (2008), en donde una población infantil de 7 años de edad, con niveles detectables de AF presentó un bajo desempeño en las pruebas de función ejecutiva, pero no encontraron una asociación con el Coeficiente Intelectual Total. En un estudio reciente realizado por Bouchard et al. (2011), en una población infantil México-Americana de familias de bajos recursos que viven en el Valle de Salinas, California; reportó que los niveles urinarios de AF detectados en la población infantil de 6 meses a 5 años de edad no presentaron una asociación con la disminución en el desarrollo intelectual, evaluados mediante la prueba de WISC IV la cual fue aplicada cuando los niños tenían 7 años de edad.

Nuestros resultados concuerdan con estos estudios, en lo que respecta a la valoración del desarrollo intelectual (CIT) evaluada a través del WISC IV, no encontrando una asociación con las concentraciones urinarias de los metabolitos AF detectadas, sin embargo a diferencia de estos estudios nosotros no encontramos una asociación de las concentraciones de AF detectadas en la población infantil de 7 a 14 años de edad, con otros dominios neuropsicológicos específicos (memoria visual, memoria a corto plazo, habilidades motoras), evaluadas a través de las pruebas de la FCRO y el Tablero de Clavijas y Ranuras.

Otros autores sugieren que la exposición prenatal y posnatal a plaguicidas OF está asociada con problemas de comportamiento, disminución de la memoria a corto plazo, problemas en la función ejecutiva y motora en el desarrollo de los niños desde recién nacidos hasta la edad escolar (Bouchard et al., 2010; Handal et al., 2008; Eskenazi et al., 2007; Engel et al., 2007; Rauh et al., 2006), sin



embargo, todos estos estudios han encontrado esa asociación con los niveles urinarios maternos de AF y no con los niveles urinarios de AF de los niños. Estas diferencias observadas pueden explicarse debido a las diferentes fuentes de exposición, a la edad de los niños (por lo general la evaluación de los efectos en el neurodesarrollo se han realizados dentro de los primeros 5 años de vida), el número y días de colectas de las muestras, al método de análisis (diferencias en los métodos de extracción y cuantificación) y la frecuencia de los metabolitos AF urinarios detectados en las poblaciones de estudio, por lo que hace difícil la comparación de los resultados (Bouchard et al., 2011).

Otro grupo importante de contaminantes ambientales son los Bifenilos Policlorados (BPCs). Estudios epidemiológicos han evaluado el efecto de estos compuestos sobre el desarrollo cognitivo y psicomotor en poblaciones de distintas edades, empleando diferentes baterías neuropsicológicas, sumando los niveles de los congéneres encontrados en diferentes matrices, empleando distintos métodos analíticos, sin embargo los resultados son inconsistentes (Stewart et al., 2008, Jacobson et al., 2003;). Las aportaciones de estos estudios está relacionada con evidencias del efecto potencial neurotóxico de los BPCs en etapas tempranas de desarrollo de los niños, sin embargo muy pocos han investigado la asociación de estos compuestos y el funcionamiento cognitivo a largo plazo. (Stewart et al., 2008). En un estudio realizado por Sagiv et al. (2012), en población infantil, reportan una asociación entre la sumatoria de los niveles de los congéneres de BPCs encontrados ( $\Sigma$ BPC 118, 138, 153 y 180) y la subescala de Velocidad de Procesamiento (VP), evaluada a través de la prueba WISC-III únicamente en varones de 8 años de edad. En contraste, otros estudios realizados por distintos autores (Pan Jen et al., 2009; Ribas-Fito et al., 2003) no encuentran esta asociación entre el desarrollo motor infantil y la exposición pre y postnatales a BPCs.

En nuestro estudio, se realizó el análisis del efecto de los BPCs individuales y no como la  $\Sigma$ BPCs, debido a que de los 6 congéneres detectados, 5 se detectaron en menos del 50% de las muestras analizadas. Por lo que el análisis se realizó sólo con el congénere BPC153 que fue detectado en el mayor número de muestras (82%). Se encontró una asociación entre los niveles plasmáticos del BPC153 y el Índice de Razonamiento Perceptual (IRP), observando una disminución de casi 9 puntos de este índice por cada incremento de una unidad del BPC153. La asociación entre la concentración plasmática de este compuesto y el IRP se determinó por el efecto de este contaminante en las subpruebas del diseño en cubo (BPC153  $\beta$ -1.74,  $p < 0.05$ ) y matrices (BPC153  $\beta$ -1.54,  $p < 0.05$ ) ajustado



por sexo, edad, escolaridad de la madre y PbS. Nuestros resultados coinciden con lo obtenido por Longnecker et al. (2003), quien comparó los resultados de 10 diferentes estudios en los que se midieron los niveles pre y postnatales del BPC153 y su asociación con el neurodesarrollo. Los estudios fueron realizados entre 1959 y 1998, y el intervalo de concentración del BPC153 fue de 30 a 450 ng/g Lip. La mayoría de estos estudios reportaron una asociación entre los niveles de BPCs y la disminución del Índice de Desarrollo Psicomotor y del CI total. La media del BPC153 encontrada en la población infantil de El Refugio fue de 375.80 ng/g Lip, este valor está dentro del intervalo de los estudios anteriores, con resultados significativos en el IRP.

La concentración plasmática de BPC153 es un excelente biomarcador para evaluar de la exposición a todos los BPCs, ya que es el congénere que se detecta con mayor frecuencia, tiene una vida media mayor a 3 años en el cuerpo humano (ATDSR, 2000; Ogura, I., 2004) y constituye una fracción importante de la suma total de los BPCs, sin embargo, tiene sus limitaciones, ya que los niveles pueden variar debido a la fuente, al tipo de exposición y a la mezcla de BPCs.

La alta correlación entre los niveles de la mezcla de BPCs y el congénere BPC153, detectada en distintas poblaciones ha sido bien documentada. Encontrando que la concentración de la suma de los congéneres de BPCs, es proporcional a la concentración del BPC153, por lo que éste puede ser un buen indicador para poder comparar los niveles de exposición y efecto a la salud (Vettori et al., 2006; Bates et al., 2004; Longnecker et al., 2000).

La evidencia de la neurotoxicidad de los BPCs en niños es apoyada por los estudios realizados en modelos animales, en los que se han reportado efectos sobre el comportamiento (Faroon et al, 2000). Uno de los mecanismo de neurotoxicidad atribuido a estos contaminantes, es debido a la capacidad que presentan para modificar los niveles del neurotransmisor dopamina en los ganglios basales y en la corteza prefrontal (ATSDR 2004; Faroon et al., 2000). Otros estudios han demostrado que los posibles mecanismos de toxicidad del PCB153 responsable del deterioro en el aprendizaje, es mediada a través de la alteración de la vía Glutamato-Oxido Nítrico- GMPc (Glu-NO-GMPc). Estas alteraciones en el metabolismo NO-GMPc inducidas por los PCBs puede contribuir a la alteración de la conectividad neuronal, ya que el óxido nítrico actúa como modulador del desarrollo de las neuritas, retrasando el crecimiento de las mismas y modulando la formación de las proyecciones axonales. Por lo que la



alteración en la función de la vía Glu-NO-GMPc podría también contribuir al deterioro cognitivo en humanos expuestos durante el desarrollo a PCB's (Courtnev et al., 2012; Krystyna S. y Slawomir G., 2009; Piedrafita B.B. 2008).

Por otro lado, la neurotoxicidad de estos compuestos tóxicos, se da por la alteración de la homeostasis de las hormonas tiroideas, pudiendo afectar el desarrollo neuronal. Además varios autores han demostrado que la exposición a PCB's induce la formación de especies reactivas de oxígeno y alteran la neurotransmisión dopaminérgica, glutamatérgica y la función cognitiva. (Courtnev et al., 2012; Krystyna S. y Slawomir G., 2009; Piedrafita B.B. 2008; Faroon et al., 2006).

Con respecto a la exposición a Plomo existe una gran cantidad de datos tanto en modelos experimentales como en humanos que demuestran efectos importantes en el funcionamiento neurológico, cuando los niveles de plomo en sangre son mayores a 10  $\mu\text{g/dL}$ , entre estos, se encuentran, disminución del CI, problemas conductuales, alteraciones de la memoria, problemas psicomotores y afectaciones graves en el rendimiento escolar (Eubing et al., 2010; Min et al., 2009; Jusko et al., 2008; Lanphear et al., 2005; Coscia et al., 2003).

En el presente estudio, los niveles de plomo en sangre (PbS) detectados, no fueron un confusor de la asociación entre la exposición a compuestos organoclorados y organofosforados y el efecto cognitivo, lo cual es consistente con los resultados obtenidos por Sagiv et al. (2012), en donde reportan que no encontraron una asociación entre los OCs (BPCs) y los niveles de PbS, en la evaluación neuropsicológica en niños de 8 años de edad expuestos prenatalmente a OCs.

Nuestros resultados indican que los niveles de PbS tienen un efecto sobre dos de los índices que componen el WISC-IV. El resultado obtenido en el modelo de regresión lineal mixto del PbS, indican una disminución de 5 puntos en el ICV (95% IC, -9.95, -0.82;  $p=0.05$ ) y en el IRP (95% IC, -10.2,  $p=0.01$ ) en los niños con concentraciones sanguíneas de este metal menores a 8  $\mu\text{g/dL}$ . La disminución de los puntos obtenidos en el ICV, se explica principalmente por la asociación negativa de las concentraciones en sangre de este metal y las subpruebas de vocabulario, comprensión y palabras con claves. En el caso del IRP se encuentra determinado principalmente por las puntuaciones obtenidas en las subpruebas de diseño con cubos y matrices. Nuestros resultados son consistentes con lo reportado en otros estudios en



donde han observado un déficit en el desarrollo neuropsicológico, en niños expuestos a niveles bajos de plomo (EPA, 2006), tal y como lo demostró Lanphear (2005), a través de un metaanálisis de siete estudios longitudinales internacionales en niños de 5 a 10 años de edad. Encontrando una relación inversa entre la concentración de PbS y la escala CIT, correspondiente a una disminución de 6.2 puntos (95% IC, 4.2-9.4) por cada incremento de los niveles de PbS de menores a 1 a 10 µg/dL.

Este mismo efecto fue observado en el estudio longitudinal realizado en Rochester (Canfield et al., 2003), encontrando una disminución de 7.4 pts en el CIT por cada incremento en el tiempo de vida media de los niveles de PbS de menores a 1 a 10 µg/dL. Estos hallazgos fueron también reportados por otros autores (Bellinger et al., 2008; Lanphear et al., 2005; Surkan et al., 2007), quienes encuentran una asociación entre los niveles de plomo en sangre a concentraciones bajas con el déficit en el CIT.

La asociación observada entre las concentraciones de plomo en sangre (PbS) y el índice de Compresión Verbal (ICV) y el índice de Razonamiento Perceptual (IRP) en nuestra población de estudio, presenta una relación no lineal a concentraciones del metal menores a 8 µg/dL, desapareciendo este efecto cuando los niveles fueron superiores a este valor. Esta misma relación no lineal ha sido observada en varios estudios, en los que la pendiente inversa, es más pronunciada en los niveles de plomo en sangre menores a 10 µg/dL que a niveles a mayores de este valor (Jusko et al., 2008; Kordas et al., 2006; Tellez-Rojo et al., 2006; Lanphear et al., 2005).

El mecanismo específico, de la toxicidad del plomo a concentraciones menores de 10 µg/dL sobre el déficit en el Coeficiente intelectual, no ha sido completamente identificado. Uno de los mecanismos propuestos es que el plomo, a niveles menores a 10 µg/dL, interrumpe la hemosíntesis, lo que aumenta los niveles del precursor ácido Delta aminolevulinico (ALA). El ALA suprime la neurotransmisión medida por GABA inhibiendo su liberación y compitiendo por los receptores de éste (Lidsky TI and Schneider JS, 2003). Sin embargo existen tres mecanismos de suma importancia en la nuerotoxicidad del plomo:

- 1<sup>ero</sup>. El efecto que ejerce el plomo en la liberación de glutamato
- 2<sup>do</sup>. Alteración en la función de los receptores N- metil - d – aspartato (NMDA) los cuales son afecxtados produciendo elevada excitotoxicidad y
- 3<sup>ero</sup>. Alteración en la producción de óxido nítrico vía la activiación de la sintetasa del óxido nítrico.



Estos tres mecanismos son esenciales para la inducción de la potenciación a largo plazo en el hipocampo, lo que lleva a la formación y consolidación de la memoria y el aprendizaje, proceso que se ve afectado principalmente en niños que han sufrido exposición a este metal (Nava-Ruiz et al., 2011; Toscano et al., 2005).

Otros autores han propuesto que el plomo puede producir anemia, tanto por la interferencia en la síntesis del grupo *hemo*, como por la disminución de la absorción del hierro en el intestino (Grantham McGregor y Ani, 2001). Algunas deficiencias de hierro se han asociado con problemas cognitivos y con el desarrollo neuropsicológico (Lidsky TI y Schneider JS, 2003; Grantham McGregor y Ani, 2001).

El impacto de la exposición ambiental al plomo sobre la salud pública, está relacionada con un incremento del riesgo para numerosas enfermedades (Jusko et al., 2008), así como su efecto sobre el SNC, lo que puede reflejarse en problemas de lectura, fallas escolares, comportamiento delictivo, pérdida de la audición, entre otros (Dietrich et al., 2001; Lin et al., 2003). Sin embargo, son escasos los estudios que han evaluado la asociación de estas patologías con niveles de plomo menores a 10 µg/dL (Jusko et al., 2008; Lanphear et al., 2005).

Los efectos observados a nivel neurocognitivo en los niños evaluados en el presente estudio, se relacionan principalmente con alteraciones en la organización visoespacial, problemas con el razonamiento abstracto por medio de la percepción visual, limitaciones para el desarrollo de la inteligencia fluida, déficits en el análisis visual de la información, limitación en habilidades lingüísticas y dificultades para la comprensión, planeación y solución de problemas académicos y de la vida diaria. En la actualidad diversas investigaciones han descrito que estructuras corticales como la corteza frontal y occipital y subcorticales como el hipocampo se ven afectadas a nivel celular por la exposición crónica a diferentes contaminantes (Lee et al., 2007; Shin et al., 2006; Faroon et al., 2006; Koger et al., 2005; Brend et al., 2005; Needleman et al., 2004; Corboln et al., 2004; Bellinger y Adams, 2001; Hernández et al., 2000), por lo que no es difícil suponer que las principales afectaciones neurológicas que se observan en este estudio se presentan a este nivel.

Desafortunadamente este tipo de estudios epidemiológicos transversales no permiten establecer ni causalidad ni temporalidad de los eventos, por lo que el desarrollo de investigaciones de corte



longitudinal serían una opción adecuada para comprender aún mejor los efectos sobre el sistema nervioso central, por la exposición ambiental a mezclas de sustancias químicas. Lo cierto es que las consecuencias que se pudieran presentar por los déficit detectados en el presente estudio podrían ser problemas para el aprendizaje y síndromes neuropsicológicos tan complejos como la disfasia y disgnosia, en los niños evaluados (Lezak M et al., 2004, Lussier F et al., 2001, Flessas J et al., 2001, Sattler J et al., 2001).

## **VIII. Conclusiones**

Los hallazgos del presente estudio demuestran que la exposición ambiental a la mezcla de plaguicidas organoclorados (DDT, DDE y Lidano) y organofosforados (medidos por la presencia de metabolitos alquilfosfatos en orina) en la población infantil de 7 a 14 años de edad que viven en la comunidad agrícola de El Refugio, Cd, Fernández, SLP no está asociado con las alteraciones en el coeficiente intelectual total, con la memoria viso-espacial a corto plazo y ni con problemas de motricidad fina.

No obstante la dificultad de establecer las relaciones “causa-efecto”, esta investigación aporta conocimientos importantes sobre el efecto tóxico potencial para la salud infantil por la exposición a mezclas de plaguicidas, sin embargo el conocimiento de la magnitud de este problema es aún limitado.

A pesar de que no se encontró una asociación entre los niveles de los plaguicidas organoclorados y organofosforados con la función cognitiva, esto no implica que no se presente el efecto potencial de estas sustancias a otras edades, por tal motivo, se deben tomar medidas precautorias para concientizar a la población sobre el uso adecuado de los plaguicidas, tanto a nivel agrario como domiciliario y sobre el cuidado del ambiente y en particular el de los niños.

De los congéneres de BPCs detectados, únicamente se encontró que el congénere BPC153 tiene un efecto negativo estadísticamente significativo, sobre el Índice de Razonamiento Perceptual (IRP) de la escala WISC-IV. Por lo que este estudio contribuye al conocimiento del efecto potencial por la exposición ambiental a bajas dosis de BPCs y a la utilidad del BPC153 como biomarcador para evaluar los niveles relativos de la exposición total a los BPCs.



Otro de los hallazgos importantes en el presente estudio, fue el encontrar un efecto negativo de los niveles de plomo en sangre sobre los índices de Razonamiento Perceptual (IRP) y sobre el índice de Comprensión Verbal (ICV). Éstos nos indican el efecto de este metal sobre el funcionamiento cognitivo, sobre todo en las funciones de memoria y el lenguaje en niños en edad escolar que viven en esta comunidad agrícola, lo cual podría poner restricciones sistemáticas sobre la capacidad y eficiencia en el procesamiento lingüístico.

Uno de los principales inconvenientes en el diseño de estudios de cohorte, como ocurre en el nuestro, es que los individuos están expuestos durante todas las etapas de su desarrollo, a una mezcla compleja de sustancias con actividades complementarias, agonistas o antagonistas. Por este motivo se hace necesario continuar con las investigaciones por desarrollar biomarcadores de exposición a xenobioticos con actividades complementarias, que permitan establecer una relación entre la carga total y el riesgo de padecer una determinada patología (Khan and Ghouri., 2011; Bundnik LT y Baur X., 2009; Jurewicz J y Hanke W., 2008; Sexton K y Hattis D., 2007).



## IX. Bibliografía

Alavanja M, Hoppin J, Kamel F. (2004). Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annu Rev Public Health* 25:155-197.

Albert L. A. (1999). La investigación sobre plaguicidas en México. Situación actual y perspectivas. III Congreso Mexicano de Toxicología. La toxicología en México, una visión hacia el nuevo milenio. Instituto Tecnológico de Sonora y Sociedad Mexicana de toxicología. Ciudad Obregón, Sonora. Pp- 13-14.

Alcaraz Romero VM. (2001). Estructura y función del sistema nerviosos. Recepción sensorial y estados del organismo. 2ª. Ed. Manual Moderno. México. pp 235.

Adgate JL, Sexton K. 2001. Children's exposure to pesticide in residential settings. In: *Handbook of pesticide Toxicology* (Krieger R, ed). San Diego, CA: Academic Press, 887-904.

Alhambra Quattrocchi, O. A., Abelaira de Andrissi S. I., Laba R. F. (1992) *Introducción al HPLC, aplicación y practica*. Artes gráficos Farro S. A. Argentina. pp 407.

AL-Saleh IA. (1994). Pesticidas: A review. *Journal of Enviromental Pathology* 13:151-161.

Atkins, *et al.* (1975). Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honey bees. Laboratory studies. Division of Agricultural Sciences University of California. Leaflet No. 2287.

Ames R, Steenland K, Jenkins B, Chrislip D, Russo J. (1995). Chronic neurologic sequelae to cholinesterase inhibition among agricultural pesticide applicators. *Arch Environ Health* 50:440-444.

Anger W, Moody L, Burg J, Brightwell WS, Taylor BJ, Russo JM, *et al.* (1986). Neurobehavioral evaluation of soil and structural fumigators using methyl bromide and sulfuryl fluoride. *Neurotoxicology* 7:137-156.



Apra, C., Sciarra, G., Sartorelli, P., Sartorelli, E., Strambi, F., Farina, G.A., Fattorini, A. (1997), Biological monitoring of exposure to chlorpyrifos-methyl by assay of urinary alkylphosphates and 3,5,6-trihloro-2-pyridinol, *J. Toxicol. Environ. Health*, 58,581.

ATSDR, 2004. Toxicological profile for Polychlorinated Biphenyls (PCBs).

ATSDR (2005). Curso de toxicología para comunidades. Módulo III. Introducción a la evaluación de riesgo. Modificada el 8 de febrero.

[http://www.atsdr.cdc.gov/es/training/toxicology\\_curriculum/modules/3/es\\_lecturenotes.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/training/toxicology_curriculum/modules/3/es_lecturenotes.html)

Avalos G. M. y Ramírez G. J. (2003) La situación del Lindano en México. *Gaceta Ecológica*. Instituto Nacional de Ecología. Número 69, octubre-noviembre

Badii M. y Landeros J. (2007). Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *Cultura Científica y Tecnológica. CULCyT/Toxicología de Plaguicidas*. Revista de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez Marzo/Abril año 4, no. 19. pp. 21-34

Baldi I, Cantagrel A, Lebailly P, Tison F, Dubroca B, Chrysostome V, et al. (2003<sup>a</sup>). Association between Parkinson's disease and exposure to pesticides in southwestern France. *Neuroepidemiology* 22:305-310.

Barr, D.B, Roberto Bravo, Gayanga Weerasekera, Lisa M. Caltabiano, Ralph D. Whitehead, J.R Anders O; Olsson, Samuel P. Cuadill, Susan E. Schober, James L., Pirjle, Eric J, Sampson, Richard J. Jackson and Larry L. Needham. (1999) Concentrations of dialquil phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in the U.S. population. *Environ. Health Perspec.* 112: 186-200.

Barr D.B. and Angerer Jürgen. (2006). Potential Uses of Biomonitoring Data: A case Study Using the Organophosphorus Pesticides Chlorpyrifos and Malation. *Environm. Health Perspect.* Vol. 114. Num 11: 1763-1769.

Baur, Fred. Insect management for food storage and processing. (1984) American association of cereal chemist. minnesota, USA pág. 384



Bejarano F. (2012). Plaguicidas y convenios ambientales internacionales, la necesidad de cambiar la política neoliberal gubernamental. Red a Acción sobre Plaguicidas y sus Alternativas en México (RAPAM), Centro de Análisis y Acción de Tóxicos y sus Alternativas (CAATA).

<http://grandesproblemas.org.mx/temas/ponencias/plaguicidas-y-convenios-ambientales-internacionales-la-necesidad-de-cambiar-la-politica-neoliberal-gubernamental-pdf>.

Bellinger, D. C., 2008. Are children with congenital cardiac malformations at increased risk of deficits in social cognition *Cardiol Young*. 18, 3-9.

Bellinger David C. (2012). A Strategy for Comparing the Contributions of Environmental Chemicals and Other Risk Factors to Neurodevelopment of Children. *Environmet Health Perspect*. 120:501-507.

Bouchard MF, Chevrier J, Harley KG, Kogut K, Vedar M, Calderon N, Trujillo C, Johnsan C, Bradman A, Barr DB and Eskenazi B. (2011). Prenatal Exposure to Organophosphate Pesticide and IQ in 7 Year-Old Children. *Environmet Health Perspect*. 119: 1189-1194.

Bouchard MF, Bellinger DC, Wright RO, Weisskopf MG. 2010. Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides. *Pediatrics* 125: 1270-1277.

Bradman A, Whitaker D, Quiros L, Castorina R, Claus Henn B, Nishioka M. et al. 2007. Pesticides and their metabolites in the homes and urine of farmworker children living in the Salinas Valle, CA. *J. Expo Sci Environ Epidemiol* 17:331-349.

Bronfman, M., Guiscafne, H., Castro, V., Castro, R., Gutierrez, G., 1988. [Strategies for improving the therapeutic patterns used in acute diarrhea in primary medical care units. II. The measurement of inequality: a methodologic strategy, analysis of the socioeconomic features of the sample]. *Arch Invest Med (Mex)*. 19, 351-60.

Caballero Ramírez M, (2001). Diagnostico situacional del uso del DDT y el control de la Malaria. Informe regional para México y Centroamérica. Instituto de Salud Ambiente y Trabajo de México.



Calderón J., Navarro M.E., Jiménez-Capdeville M.E., Santos Díaz M.A., Goleen A., Rodríguez Leyva I., Borja-Aburto V., Díaz-Barriga F., (2001<sup>a</sup>), Exposure to arsenic and Lead and neuropsychological development in mexican children, *Environmental Research section A* 85, pp 69-76.

Cantor K. P., Strickland P. T., Brock J. W., Bush D., Helzlsouer K., Needham L. L., Zahm S. H., Comstock G. W., and Rothman N. (2003). Risk of Non-Hodgkin's Lymphoma and Prediagnostic Serum Organochlorines: Hexachlorocyclohexane, Chlordane/Heptachlor-Related Compounds, Dieldrin, and Hexachlorobenzene. *Environmental Health Perspectives*. Volumen 111 Number 2 February.

Canfield, R. L., Kreher, D. A., Cornwell, C., Henderson, C. R., Jr., 2003. Low-level lead exposure, executive functioning, and learning in early childhood. *Child Neuropsychol.* 9, 35-53.

Casarett & Doull, Curtis D. Klaassen and John B. Watkins III. *Manual de Toxicología*. McGraw Hill. 5<sup>a</sup> Ed. México. Pp981.

CDC 2002 Childhood Lead Poisoning Associated with Tamarind Candy and Folk Remedies ---California. *JG Courtney, PhD, S Ash, Childhood Lead Poisoning Prevention Br, California Dept of Health Svcs. N Kilpatrick, MPH, S Buchanan, PhD, P Meyer, PhD, Div of Environmental Hazards and Health Effects, National Center for Environmental Health; D Kim, MD, L Brown, MD, EIS officers, CDC.* 51(31); 684-686

CDC., 2002. National Health and Nutrition Examinations Survey (INHANES). . In: Statistics, N. C. f. H., (Ed.). Center for Disease Control and Prevention, Atlanta,.

CDC, 2009 Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Centers for Disease Control and Prevention National Center for Environmental Health, Atlanta, GA, pp. 516.

CDC., 2012. National Toxicology Program, USA TODAR research. Lead poisoning guidelines revised; more considered at risk – USATODAY.com. <http://www.usatoday.com/news/health/story/2012-05-16/cdc-blood-lead-level-standard/5...> 21/05/2012

Chelala C., (2004). Un Reto Constante. Los plaguicidas y su efecto sobre la salud y el medio ambiente. Organización Panamericana de la Salud. Área de Desarrollo Sostenible y Salud Ambiental. Proyecto



Aspectos Ocupacionales y Ambientales de la Exposición a Plaguicidas en el Istmo Centroamericano (Plagsalud). Washington, D. C. Marzo.

Chiodo LM, Jacobson SW, Jacobson JL. 2004. Neurodevelopmental effects of postnatal lead exposure at very low levels. *Neurotoxicol Teratol* 26:359-371.

CICLOPLAFEST (1998). Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. México

Costilla-Salazar Rogelio, A. T.-A., Diana Rocha-Amador, Octavio Gaspar-Ramirez, Fernando Dý'az-Barriga, Ivan Nelinho Perez-Maldonado, 2011. Assessment of Polychlorinated Biphenyls and Mercury Levels in Soil and Biological Samples from San Felipe, Nuevo Mercurio, Zacatecas, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 86, 212-216.

Cole DC, Carpio F, Julian J, Leon N, Carbotte R, De Almeida H. (1997). Neurobehavioral

Cole DC, Carpio F, Julian J, Leon N. (1998). Assessment of peripheral nerve function in an Ecuadorian rural population exposed to pesticides. *J Toxicol Environ Health A* 55:77-91.

Colin Sharpe, Eduardo Franco, et. al (1995). Pesticides linked to Childhood Kidney Cancer in Brazil, Parental Exposure to Pesticides and Risk of Wilms' Toumour in Brazil,. *American Journal of Epidemiology*. Vol 141, pp 210-217

Creel L. (2002). Efectos del medio ambiente en la salud infantil: Riesgos y soluciones. Nexos. Population reference bureau. pp. 1-8.

Crinnion W. J., (2000). Environmental medicine, part 4: Pesticides-Biologicallly persistent and ubiquitous toxins. *Alternative Medicine Review Volume 5 number 5*.

Corbett JR and Baillie AC: (1984) The biochemical mode of action of pesticides 2nd ed:London Academic Press . Page 3.



Curl CL, Fenske RA, KisseL JC, Shiria JH, Moate TF, Griffith W. (2002). Evaluation of take-home organophosphorus pesticides exposure among agricultural workres and their children. *Environ. Health Perspect* 110: 787-792.

Curwin B, W. Sanderson, S. Reynolds, M Hein M. Alavanja, (2002). Pesticide Use and Practices in an Iowa Farm Family Pesticida Exposure Study. *Journal of Agricultura Safety and Health* 8(4); 423-433.

Davies, J. E., Freed, V. H., Enos, H. F., ET AL. (1992) Reduction of pesticide exposure with protective clothing for applicators and mixers. *J. Occup. Med.* 24, 464-468.

Davies, JE, Peterson, JC (1997). Surveillance of occupational, accidental and incidental exposure to organophosphate pesticides using urine alkyl phosphate and phenolic metabolite measurement. *Ann NY Acad Sci*: 837: 257-268.

Demers Alain, Pierre Ayotte, Jacques Brisson, Sylvie Dodin, Jean Robert and Eric Dewally. (2000). Risk and Aggressiveness of Breast Cancer in Relation to Plasma Organochlorine Concentrations. *Cancer., Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. Vol. 9, 161-166.

Després C., Beuter A., Richer F., Pointras K., Veilleux A., Ayotte P., Dewailly E., Saint-Amour D., Muckle G.(2005). Neuromotor functions in Inuit preschool children exposed to PB, PCBs, and Hg., *Neurotoxicology and Teratology*. Mar-Apr; 27(2):245-57.

Dirección General de Sanidad Vegetal. SARH. (1980) Gráficas sobre números de muestras y frecuencias de residuos de diferentes plaguicidas. México D.F.

Díaz-Barriga, F. (1999). Metodología de identificación y evaluación de riesgos para la salud en sitios contaminados. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente División y Salud y Ambiente. Organización Panamericana de la Salud. Auspiciado por Agencia Alemana de Cooperación Técnica. Lima. OPS/CEPIS/PUB/99.34.



Díaz-Barriga Martínez, F., Trejo-Acevedo, Antonio, Betanzos, Ángel, Espinosa-Reyes, Guillermo, Alegría-Torres, Jorge, Maldonado, Iván, 2011. Assessment of DDT and DDE Levels in Soil, Dust, and Blood Samples From Chihuahua, Mexico. *Environmental Contamination Toxicology*. 1-8.

Dietrich KN, Ris MD, Succop PA, Berger OG, Bornschein RL. Early exposure to lead and juvenile delinquency. *Neurotoxicol Teratol*. 2001;23:511–518

Ecolástico León Consuelo, Cabildo Miranda M.P, (2000). *Química y Salud Pública: Pesticidas*, Departamento de Química Orgánica y Biología, Facultad de Ciencias.

Ecología/Salud Ambiental General Juan José Luis Sienra Monge (1983). Vaquero Puerta, JL, *Salud Pública*. España: Ediciones Pirámide, SA 503 pp

Eskenazi B, Bradan A, Castorina R. (1999). Exposure of children to organophosphate pesticide and their potential adverse health effects. *Environ Health Perspect* 107 (3); 409-419.

Engel SM, Berkowitz GS, Barr DB, Teitelbaum SL, Siskind J, Meisel SL, et al., (2007). Prenatal organophosphate metabolite and organochlorine levels and performance on the Brazelton Neonatal Assessment Scale in a multiethnic pregnancy cohort. *Am J Epidemiol* 165:1397-1404.

Engel SM., Wetmur J., Chen J., Zhu C., Barr DB., Canfield RL and Wolf MS.(2011). Prenatal Exposure to Organophosphates, Paraoxonase 1, and Cognitive Development in Childhood. *Environ Health Perspect*. Vol. 119. Núm 8: 1182-1188.

Eskenazi, B., Marks, A. R., Bradman, A., Harley, K., Barr, D. B., Johnson, C., Morga, N., Jewell, N. P., 2007. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. *Environ Health Perspect*. 115, 792-8.

Eskenazi, B., Rosas, L. G., Marks, A. R., Bradman, A., Harley, K., Holland, N., Johnson, C., Fenster, L., Barr, D. B., 2008. Pesticide toxicity and the developing brain. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 102, 228-36.

EURACHEM/CITAC (2011). *Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*. Third Edition.



EURACHEM (2011). Terminology in Analytical Measurement-Introduction to VIM 3. First Edition.

Evangelista AM de Duffard, (1997). Neurotoxicidad y Comportamiento del Sistema Nervioso., Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy. Volumen 7, 38.

Farahat T, Abdelrasoul GM, Amr MM, Shebl MM, Farahat FM, Anger WK. (2003). Neurobehavioral effects among workers occupationally exposed to organophosphorous pesticides., Occup Environ Med 60:279-286  
outcomes among farm and nonfarm rural Ecuadorians. Neurotoxicol Teratol 19:277-286.

FAO. (2002). Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas., Versión Revisada Adoptado por el 123º periodo de sesiones del Consejo de la FAO, noviembre 2002 Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Roma, 2003 Índice Prefacio. 1 Texto del Código Artículo Author FAO <http://www.fao.org/ag/agp/agpp/pesticid/code/download/spanish.doc>

Fenkense Richard A., John C. Kissel, Chensheng Lu, David A. Kalman, Nancy J. Simcox, Emily H. Allen, and Matthew C. Keifer. (2000). Biologically Based Pesticide Dose Estimates for Children in a Agricultural Community., Environmental Health Perspectives. Vol 108(6)

Fernández P. and Grimalt J. O. (2003). On the Global Distribution of Persistent Organic Pollutants., Chimia 57 514–521.

Flower K. B, Hoppin J. A., Lynch C. F., Blair A., Knott C., Shore D. L., and Sandler D. P. (2004). Cancer Risk and Parental Pesticide Application in Children of Agricultural Health Study Participants, Environmental Health Perspectives Volume 112 Number 5 April.

Franklin CA, Muir NL, Moody, RP.(1981). The use of biological monitoring in the estimation of exposure during the application of pesticides. Toxicol. Left 33: 127-136.

Freedman, N. C. G., Jimenez, M., Reed, K. J., Gurunathan, S., Edwards, R. D., Roy, A., Adgate, J. L., Pellizzari, E. D., Quackenboss, J., Sexton, K., Lioy, P. J., 2001. Quantitative analysis of children's microactivity patterns: The Minnesota Children's Pesticide Exposure Study. J Expo Anal Environ Epidemiol. 11, 501-509.



Furlong CE, Holland N, Richter RJ, Bradman A, Ho A, Eskenazi B. 2006. PON1 status of farmworked mothers and children as a predictor of organophosphate sensitivity. *Pharmacogenet Genomics* 16(3):183-190.

Gallego M.I., Sanín A., y Marqués F. (2003). Perfil Cognoscitivo de Expuestos a Plaguicidas en el Sector Bananero de Urabá. Instituto de Salud Carlos III Instituto de Ciencias de la Salud CES. Informe final de investigación. Antioquia. Colombia 2001-2003.

García JE, (1998). Intoxicaciones agudas con plaguicidas: costo humanos y economicos. *Rev. Panam, Salud Pública.*; 4:383-7

Gomes J, Lloyd O, Revitt MD, Basha M. (1998). Morbidity among farm workers in a desert country in relation to long-term exposure to pesticides. *Scand J Work Environ Health* 24:213-219.

Grandjean P, Harari R, Barr DB, Debes F. 2006. *Pesticide exposure and stunting as independent predictors of neurobehavioral deficits in Ecuadorian school children*. *Pediatrics*; 117(3):e546–e56

Grimalt, J.O.; P. Fernández; L. Berdie; R.M. Vilanova; J. Catalán; R. Psenner; R. Hofer; P.G. Appleby; B.O. Rosseland; L. Lien; J.C. Massabuau; R.W. Battarbee (2001): "Selective trapping of organochlorine compounds in mountain lakes of temperate areas". *Environ. Sci. Technol.* 35, 2.690-2.697.

González-Arias C. A., Robledo-Marenco M. de L., Medina-Díaz I. M., Velázquez-Fernández J. B., Girón-Pérez M. I., Quintanilla-Vega B., Ostrosky-Wegman P., Pérez-Herrera N. E. y Rojas-García A. E. (2010). Patrón de uso y venta de plaguicidas en Nayarit, México. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 26 (3) 221-228.

Guillette E. (2002). Como realizar una evaluación de salud comunitaria. Traducido por Greenpeace Argentina. Mayo. pp 47. <http://www.greenpeace.org.ar/media/informes/3074.PDF>

Guillette E. A, Meza M. M, Aguilar M. G, Soto A. D, Enedina I. (1998) An anthropological approach to the evaluation of preschool children exposed to pesticides in Mexico. *Environ Health Perspect* 106:347–353.



Handal AJ, Lozoff B, Breilh J and Harlow SD. 2007. Effect of Community of Residence on Neurobehavioral Development in Infants and Young Children in a Flower-Growing Region of Ecuador. *Environ Health Perspect*. 115: 128-133.

Harnly, M.H., Mclaughlin, R., Bradman, A., Anderson, M., and Gunier, R., (2005). Correlating agricultural use of organophosphates with outdoor air concentrations: a particular concern for children. *Environ Health Perspect* 113:1184:1189.

Hayes, W.J. (1982). *Pesticides Studied in Man*. Williams and Wilkins. Baltimore. p. 260-265

Hernández-Antonio A. y Hansen A. M. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27 (2) 115-127, 2011

Humphreys E. H., Janssen , S., Heil A., Hiatt P., Solomon G., and Miller M. D. (2008). Outcomes of the California Ban on Pharmaceutical Lindane: Clinical and Ecologic Impacts. *Environ Health Perspect* 116:297–302 March.

Hérmendez M, Palazuelos E. (1995). Intoxicación por plomo en México: prevención y control. Cuernavaca, Morelos: Instituto Nacional de Salud Pública. *Perspectivas en Salud Pública* núm. 21:21-61.

INE, Instituto Nacional de Ecología. (2004). Metales y contaminantes Orgánicos persistentes en niños y muestras ambientales de 10 sitios contaminados

INEGI. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 2004 *El Sector Alimentario en México*, 2004. Aguascalientes, Ags., 2004.

IPCS (International Programme on Chemical Safety). (2002). *Global Assessment of the state-of-the-science of Endocrine Disruptors". a Leading Scientific Consensus Report*

ISAT (2001). *Diagnóstico situacional del uso de DDT y el control de la malaria. Informe regional para México y Centro America.*



Jacobson, J.L., Jacobson, S.W., 2003. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and attention at school age. *J Pediatr.* 143, 780-8.

Jauhiainen A; Räsänen K; Sarantila R; Nuutinen J; Kangas J. (1991). Occupational exposure of forest workers to glyphosate during brush saw spraying work. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 52: 61-64.

Jusko T.A., Henderson C.R., Lanphear B.P., Cory-Slechta D.A., Parsons P.J. and Canfield R. (2008). Blood Lead Concentrations < 10µg/dL and Child Intelligence at 6 Years of Age. *Environmental Health Perspectives.* Vol.116. Núm 2: 243-248.

Kamel F, Rowland A, Park L, Anger W, Baird D, Gladen B, et al. (2003). Neurobehavioral performance and work experience in Florida farmworkers. *Environ Health Perspect* 111:1765-1772.

Kamel Freya and Hoppin Jane A. (2004) Association of Pesticide Exposure with Neurologic Dysfunction and Disease. *Environ Health Perspect* 112. Num 9: 950-958.

Karmaus W., DeKoning E. P., Kruse H., Witten J., and Osius N. (2003) Early childhood determinants in school-aged children. *Pediatric research.* Vol. 50, No.3. Printed in U.S.A.

Klaassen Curtis D. and Watkins III. *Manual de Toxicología.* 5ª Ed. McGraw-Hill. México (2001). pp 981.

Korsak R.J., Sato M.M. (1977). Effects of chronic organophosphate pesticide exposure on the Central Nervous System. *Clin Toxicol* 11:83-95.

Lara F. E., Harlow D. S., Hernandez P. B. and Sanchez Carrillo C. (2000). Organochlorine pesticide exposure in rural and urban areas in Mexico. *Journal of exposure analysis and environmental epidemiology* 10, 394-399.

Lanphear B.P., Hornung R., Khoury J., Yolton K., Baghurst P., Bellinger D.C., Canfield R.L., Dietrich K.N., Bornschein R., Greene T., Rothenberg S.J., Needleman H.L., Schnaas L., Wasserman G., Graziano J. and Roberts R. (2005). Low-level Environmental Lead Exposure and Children's Intellectual Function: An International Pooled Analysis. *Environmental Health Perspectives.* Vol.113, Núm 7:894-899.



Lambert William E., Lasarev Michael, Muniz Juan, Scherere J, Rothlein J., Santana J and McCauley L.(2005) Variation in Organophosphate Pesticida Metabolites in Urine of Children Living in Agricultural Communities. *Enviromental Health Perspectives*. Vol. 113, No. 4. pp 504-508.

Landrigan, P.J., 2001. Pesticides and polychlorinated biphenyls (PCBs): an analysis of the evidence that they impair children's neurobehavioral development. *Mol Genet Metab*. 73, 11-7.

Landrigan PJ, Claudio L, Markowitz SB, Berkowitz GS, Brenner BL, Romero H, Wetmur JG, Matte TD, Gore AC, Godbold JH, Wolff MS. (1999). Pesticides and Inner-City Children: Exposures, Risks, and Prevention. *Environ Health Perspect Jun*;107 Suppl 3:431-437.

Lezak M. 2004. *Neuropsychological assessment*. 4th ed. EUA: Oxford University Press.

Link B., Gabrio T., Zoellner I., Piechotowski I., Paepke O., Herrmann T., Felder-Kennel A., Maisner V., Schick K., Schrimpf M., Schwenk M., .and Wuthe J. (2005). Biomonitoring of persistent organochlorine pesticides, PCDD/PCDFs and dioxin-like PCBs in blood of children from South West Germany (Baden-Wuerttemberg) from 1993 to 2003. *Chemosphere*. Mar; 58(9):1185-201.

Lizardi PS, O'Rourke MK, Morris RJ. 2008. The effects of organophosphate pesticide exposure on Hispanic children's cognitive and behavioral funtioning. *J. Pediatrics Psychol*. 33:91-101.

Loewenherz C, Fenske RA, Simcox NJ, Bellamy G, Kalman D. (1997) Biological monitoring of organophosphorus opesticides exposure among children of agricultural workers. *Enviro. Health Perspect*. 105:1344-1353.

London L, Myers JE, Nell V, Taylor T, Thompson ML. (1997). An investigation into neurologic and neurobehavioral effects of long-term agrichemical use among deciduous fruit farm workers in the western cape, South Africa. *Environ Res* 73:132-145.

Longnecker MP, Wolf MS, Gladen BC, Brock JW, Grandjean P, Jacobson JL, Korrick SA et al. 2003. Comparison of Polichlorinated Biphenyl Levels across Studies of Human Neurodevelopment. *Environmet Health Perpect*. 111: 65-69.



López, F.J., Beltran, J., Forcada, M., Hernández F. (1998). Comparison of simplified methods for pesticide residue analysis. Use of large-volume injection in capillary gas chromatography., *J. Chromatogr A.* 823:25-33.

Lu et al. (2001) Biological monitoring survey of organophosphorus pesticides exposure among preschool children in the Seattle Metropolitan area. *Environ. Health Perspect.* 109(3): 299-303.

Lussier F, Flessas J. 2001. Neuropsychologie de l'Enfant. Troubles Développementaux et de l'Apprentissage. 1er ed. Francia: Dunod.

Maizlish, N. and Feo O. (1994). Alteraciones neuropsicológicas en trabajadores expuestos a neurotóxicos. *Salud de los Trabajadores Volumen 2 N° 1 Enero.*

Manual de Plaguicidas, Guía para América Central. Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET), Universidad Nacional, Costa Rica, 1999.

Martínez-Valenzuela, C. y Gómez-Arroyo, S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores Agrícolas. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 23 (4) 185-200, 2007.

Martínez-Salinas, R. I., Díaz-Barriga, F., Batres-Esquivel, L. E., Pérez-Maldonado, I. N., 2011. Assessment of the levels of DDT and its metabolites in soil and dust samples from Chiapas, Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol.* 86, 33-7.

McCauley, L. A., Lasarev, M. R., Higgins, G., Rothlein, J., Muniz, J., Ebbert, C., Phillips, J., 2001. Work characteristics and pesticide exposures among migrant agricultural families: a community-based research approach. *Environ Health Perspect.* 109, 533-8

Mejía Jesús, Yáñez Leticia, Carrizales Leticia y Díaz-Barriga Fernando. (2002). Evaluación integral del riesgo en sitios contaminados (una propuesta metodológica) *Scientiae Naturae.* Pp1.14

Mendoza, P. N. y de León R. J. A. (2005). Prohibición del uso del lindano. Actualidades farmacológicas. Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, UNAM. *Rev Fac Med UNAM* Vol.48 No.3 Mayo-Junio.



Metcalf R.L., (1973)., Changing Role of Insecticides in Crop Protection., J. Agric. Food Chem., Vol. 21(4), 511.

Miller J. N. and Miller J. C., (2002). Estadística y Quimiometría para química analítica. 4ª Edición. Prentice Hall. Madrid, España. pp. 270

Murphy, RS, Kutz FW, Strassman SC. (1986). Selected pesticides residues or metabolites in blood and urine specimen from a general population survey. Environ Health Perspec. 48: 81-86.

Nava-Ruiz Concepción y Mendez-Armenta Marisela. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). Arch Neurocién (Mex). Vol 16. Num. 3: 140-147.

Navarro Calvillo ME., (2001). Características Neuropsicológicas en niños indígenas marginados y niños expuestos a DDT. Tesis para obtener el grado de Maestría . Universidad Atonoma de Puebla. Facultad de Psicología. Pp 64.

Needham Larry L., (2005). Assessing exposure to organophosphorus pesticides by biomonitoring in epidemiologic studies of birth outcomes. Environ.Health Perspect. 113: 494-498.

Needham LL, Sexton K. (2000). Assessing children's exposure to hazardous environmental chemicals: an overview of selected research challenges and complexities. J Expo Anl Environ Epidemiol 10(6):611-629.

NHANES (2003). National Health and Nutrition Examination Survey. Second Report Centers for Disease Control and Prevention. January

Ogura I. (2004). Half-life of each dioxin and PCB congener in the human Body. ORGANOHALOGEN COMPOUNDS – Volume 66

Ortega-Ceseña J, Espinoza-Torres F, López-Carrillo L (1994) EL control de los riesgos para la salud generados por los plaguicidas organofosforados en México: retos ante el tratado de libre comercio. Salud Púb de Méx 36(6): 624-632.



Pan I-J, Daniels JL, Goldman BD, Herring AH, Siega-Riz AM, et al. 2008 Lactational Exposure to Polychlorinated Biphenyls, Dichlorodiphenyltrichloroethane, and Dichlorodiphenyldichloroethylene and Infant Neurodevelopment: An Analysis of the Pregnancy, Infection, and Nutrition Babies Study. *Environ Health Perspect* 117(3):488-493.

Pan Jen-I, Daniels JL., Goldman BD., Herring AH., Siega-Riz AM and Rogan WJ. Lactation Exposure to Polychlorinated Biphenyls, Dichlorodiphenyltrichloroethane and Dichlorodiphenyldichloroethylene and Infant Neurodevelopment: An Analysis of the Pregnancy, Infection, and Nutrition Babies Study. *Environmental Health Perspectives*. Vol 117. Núm 3: 488-493.

Palacios-Nava ME, Moreno-Tetlacuilo LM. (2004). Diferencias en la salud de jornaleras y jornaleros agrícolas migrantes en Sinaloa, México. *Salud Pública de México*. Vol.46 (4):286-293. [pehsu.org/plaguicidas/plaguicidasc.html](http://pehsu.org/plaguicidas/plaguicidasc.html). Consultado el 19/04/05.

Pérez-Maldonado I. N., Diaz-Barriga F., de la Fuente H., Gonzalez-Amaro R., Calderon J., and Yañez L. (2004). DDT induces apoptosis in human mononuclear cells in vitro and is associated with increased apoptosis in exposed children., *Environmental Research* 94 38–46.

Perez-Maldonado, I. N., Trejo, A., Ruepert, C., Jovel Rdel, C., Mendez, M. P., Ferrari, M., Saballos-Sobalvarro, E., Alexander, C., Yanez-Estrada, L., Lopez, D., Henao, S., Pinto, E. R., Diaz-Barriga, F., 2010. Assessment of DDT levels in selected environmental media and biological samples from Mexico and Central America. *Chemosphere*. 78, 1244-9.

Peper M., Klett M and Morgenstern R. 2005. Neuropsychological effects of chronic low-dose exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs): A cross-sectional study. *Environmental Health: A Global Access Science Source*. 4:22

Pilkington A, Buchanan D, Jamal GA, Gillham R, Hansen S, Kidd M. (2001). An epidemiological study of the relations between exposure to organophosphate pesticides and indices of chronic peripheral



neuropathy and neuropsychological abnormalities in sheep farmers and dippers. *Occup Environ Med* 58:702-710.

Pitarch Elena Arquimbau. (2001). Desarrollo de metodología analítica para la determinación de plaguicidas organofosforados y organoclorados en muestras biológicas humanas. Departament of Ciències Experimentals. Química Analítica Universitat Jaume. Tesis Doctoral.

Planner-Friedrich Britta, (1999). Hydrogeological and hydrochemical investigations in the rioverde basin, Mexico. Tesis Technische Universität Bergakademie Freiberg

Primo Yúfera E., Carrasco Dorrien J.M. (1987) "QUÍMICA AGRÍCOLA I. Suelos y Fertilizantes".

Quandt, S. A., et al., 2003. Agricultural and Residential Pesticides in Wipe Samples from Farmworker Family Residences in North Carolina and Virginia. *Environ Health Perspect.* 112.

Quandt, S. A., Arcury, Thomas A., Rao, Pamela., Snively, Beverly M., Camann, David E., Doran, Alicia M., Yau, Alice Y., Hoppin, Jane A., Jackson, David S., 2004. Agricultural and Residential Pesticides in Wipe Samples from Farmworker Family Residences in North Carolina and Virginia. *Environ Health Perspect.* 112.

Rauh V, Arunajadai S, Horton M, Perera F, Hoepner L, Barr DB and Whyatt R. 2011. Seven Year Neurodevelopment Score and Prenatal Exposure to Chlorpyrifos, a Common Agricultural Pesticide. *Environ Health Perspect* 119: 1196-1201.

Ribas-Fitó N., Sala M, Kogevinas M, Sunyer J (2001) Polychlorinated biphenyls and neurological development in children: a systematic review. *J Epidemiol Community Health*;55:537-546.

Ribas-Fito, N., Cardo, E., Sala, M., Eulalia de Muga, M., Mazon, C., Verdu, A., Kogevinas, M., Grimalt, J. O., Sunyer, J., 2003. Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. *Pediatrics.* 111, e580-5.



Ribas-Fito N, Torrent M, Carrizo D, Munoz-Ortiz L, Julvez J, Grimalt JO, et al. 2006. *In utero exposure to background concentration of DDT and cognitive functioning among preschoolers*. Am J Epidemiol;164:955–62.

Rico-Escobar EM, 2011. Tesis Doctoral. Posgrado en Ciencias Biomédicas Básica. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Ritter L., Solomon K.R., Forget J., Stemeroff M. and O’Leary C. (1995) Contaminantes orgánicos persistentes. Informe de evaluación. PCS/95.38. Diciembre.

Rivero Octavio, Pedro Rizo, Guadalupe Ponciano y Gustavo Olaiz. (2001). Daños a la salud por Plaguicidas. Manual modemo. Pp488.

Rocha Amador DO. (2005). Efectos sobre el Sistema Nervioso Central por la exposición simultanea a Flúor y Arsénico. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Rohlman DS, Arcury TA, Quandt SA, Lasarev M, Rothlem J, Travers R et al. (2005). Neurobehavioral performance in preschool children from agricultural and no-agricultural communities in Oregon and North Carolina. *Neurotoxicology* 26: 589-598. urobehavioral function with computerized test in a population of Hispanic adolescent working in agriculture. *Environ Res* 85(1):14-24.

Rosenstock L, Keifer M, Daniell WE, McConnell R, Claypoole K, The Pesticide Health Effects Study Group. (1991). Chronic central nervous system effects of acute organophosphate pesticide intoxication. *Lancet* 338:223-227.

Romieu I, Carreon T, Lopez L, Palazuelos E. (1995) Enviromental urban lead exposure and blood lead levels in children of Mexico City. *Environ Health Perspect*;103:2-6.

Roze E., Meijer L., Bakker A., Koeraad NJA., Braeckel V., Saucer PJJ and Bos A. 2009, Prenatal Exposure to Organohalogens, Including Brominated Falme Retardants, Influence Motor, Cognitive and Behavioral Performance at School Age. *Environmental Health Perspective*. Vol.117. Núm 12:1953-1958.



Ruckart PZ, Kakolewski K, Bove FJ, Kaye W. 2004. *Long-term neurobehavioural health effects of methyl parathion exposure in children in Mississippi and Ohio*. Environ Health Perspect; 112(1):46–51.

Ruiz Nájera R. E., Ruiz Nájera J. A., Guzmán González S. y Pérez Luna E. J. (2011). Manejo y control de plagas del cultivo de tomate en Cintalapa, Chiapas, México. Rev. Int. Contam. Ambie. 27 (2) 129-137.

Sagiv SK., Nugent JK., Brazaelton TB., Tolbert PE., Altshul LM and Korrick Susan. (2008). Prenatal Organochlorine Exposure and Measures of Behavior in Infancy Using the Neonatal Behavioral Assessment Scale (NBAS). Environmental Health Perspective. Vol. 116. Num. 5:666-673.

Sagiv SK., Thurston W., Bellinger DC., Altshul LM and Korrick SA. (2012). Neuropsychological Measures of Attention and Impulse Control among 8 year- Old Children Exposed Prenatally to Organochlorines. Environmental Health Perspective. Vol. 6. Núm 6: 904-909.

Salas VB, García DE, Cobo RJ, López BD.(2000). Impacto de los plaguicidas en la salud de los habitantes del Valle de Mexicall, México. Rev. Ecol. Lat. Am. Vol.6: 12-21.

Salinas A. S. y Díaz R. P. (2000). Globalización, migración y trabajo infantil, el caso de las niñas y niños jornaleros del tabaco en Nayarit, México. En Del Río N. La infancia vulnerable de México en un mundo globalizado. UAM\_UNICEF, México.

Santos F. E., De Souza e S. R., Barretto H. C. H, Inomata N. K. O., Lemes R. R. V., Atsuko K. T e Rocha O. B. S. (2003). Levels of exposure to organochlorine pesticides in open- air dump dwellers. Rev. Saúde Publica 37(4):515-22.

Sattler J. 1996. Evaluación Infantil. México: Manual Moderno.

Sattler J. 2001. Assessment of children: cognitive applications. La Mesa, CA: Jerome Sattler, Publisher, Inc SENER (2007). *Anuario estadístico de la industria petroquímica*. Secretaría de Energía. México, D.F. 289 pp.



Sexton K., Adgate JL., Fredrickson AL., Ryan AD., Needham LL . and Ashley DL. (2006) Using Biological Markers in Blood to Assess Exposure to Multiple Environmental Chemicals for Inner-City Children 3-6 years of Age. *Environmental Health Perspect*. Vol. 114. Núm. 3: 453-459.

SSA (2006). Cuadro básico y catálogo de medicamentos. Consejo de salubridad general. Comisión intersecretarial del cuadro básico de insumos del sector salud.

Steenland K, Dick RB, Howell RJ, Chrislip DW, Hines CJ, Reid TM. (2000). Neurologic function among termiticide applicators exposed to chlorpyrifos. *Environ Health Perspect* 108:293-300.

Steenland K, Jenkins B, Ames RG, O'Malley M, Chrislip D, Russo J. (1994). Chronic neurological sequelae to organophosphate pesticide poisoning. *Am J Public Health* 84:731-736.

Stein J, Schettler T., Wallinga D, and Valenti M. 2002. In Harm's Way: Toxic Threats to Child Development. *Developmental and Behavioral Pediatrics*. Vol. 23, Núm. 1S: S13-S21.

Stephens R, Spurgeon A, Calvert IA, Beach J, Levy LS, Berry H, et al. (1995). Neuropsychological effects of long-term exposure to organophosphates in sheep dip. *Lancet* 345:1135-1139.

Stewart, P. W., Lonky, E., Reihman, J., Pagano, J., Gump, B. B., Darvill, T., 2008. The relationship between prenatal PCB exposure and intelligence (IQ) in 9-year-old children. *Environ Health Perspect*. 116, 1416-22.

Stokes L, Stark A, Marshall E, Narang A. (1995). Neurotoxicity among pesticide applicators exposed to organophosphates. *Occup Environ Med* 52:648-653

Steven NC., Linderholm L., Athanasuadou M. and Jakobsson K. 2006. Persistent Organochlorine Pollutants in Children Working at a Waste-disposal Site and in Young Females with High Fish Consumption in Managua, Nicaragua. *Royal Swedish Academy of Science. Ambio* Vol. 35. Núm 3.

Soruco, E. B., 2009. Evaluación neuroconductual en niños ambientalmente expuestos a plaguicidas en El Carmen, Jujuy. *Archivos de Medicina Familiar y General*, Vol. 6, Argentina, pp. 28-35.



Subramanian KS. Determination of lead in blood: comparison of two GFAAS methods. *Atomic Spectros* 1987;8:7-14.

Surkan, P. J., Zhang, A., Trachtenberg, F., Daniel, D. B., McKinlay, S., Bellinger, D. C., 2007. Neuropsychological function in children with blood lead levels <10 microg/dL. *Neurotoxicology*. 28, 1170-7.

Suk A. W., Ruchirawat K. M., Balakrishnan K., Berger M., Carpenter D., Damstra T., Pronczuk de Garbino J., Koh D., Landrigan P. J., Makalinalo I., Xu Y. and Zheng B. S. (2003). Environmental threats to children's health in Southeast Asia and the Western.

Tellerias C, L., Paris, Enrique, 2008. Impacto de los tóxicos en el neurodesarrollo. *Revista chilena de pediatría*. 79, 55-63.

Tellez-Rojo, M. M., Bellinger, D. C., Arroyo-Quiroz, C., Lamadrid-Figueroa, H., Mercado-Garcia, A., Schnaas-Arrieta, L., Wright, R. O., Hernandez-Avila, M., Hu, H., (2006). Longitudinal associations between blood lead concentrations lower than 10 microg/dL and neurobehavioral development in environmentally exposed children in Mexico City. *Pediatrics*. 118, e323-30.

Torres-Sanchez, L., Schnaas, L., Cebrian, M. E., Osorio, E., Del Carmen Hernandez, M., Garcia-Hernandez, Osorio Valencia E., García Hernández RM and Lopez-Carrillo, L., (2009). Prenatal Dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) exposure and neurodevelopment: A follow-up from 12 to 30 months of age. *Nuerotoxicology*.30(6): 1162-1165.

The Alliance to End Childhood Lead Poisoning (AECLP) y Environmental Defense (ED), *Global dimensions of lead poisoning: an initial analysis* (Washington, DC: AECLP y ED, 1994).

Trejo-Acevedo, A., Diaz-Barriga, F., Carrizales, L., Dominguez, G., Costilla, R., Ize-Lema, I., Yarto-Ramirez, M., Gavilan-Garcia, A., Jesus Mejia-Saavedra, J., Perez-Maldonado, I. N., 2009. Exposure assessment of persistent organic pollutants and metals in Mexican children. *Chemosphere*. 74, 974-80.



Trejo-Acevedo Antonio, Norma Edith Rivero-Perez, Rogelio Flores-Ramirez, Sandra Teresa Ortega-Garcia, Lucia Guadalupe Pruneda-Álvarez, Iván N. Perez-Maldonado. 2012. Assessment of the Levels of Hexachlorocyclohexane in Blood Samples from Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol* (2012) 88:833–837.

Trejo-Acevedo Antonio, Norma Edith Rivero-Pérez, Rogelio Flores-Ramírez, Sandra Teresa Ortega-Garcia, José Antonio Varela-Silva, Iván N. Pérez-Maldonado 2012. Assessment of the Levels of Persistent Organic Pollutants and 1-Hydroxypyrene in Blood and Urine Samples from Mexican Children Living in an Endemic Malaria Area in Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol* (2012) 88:828–832.

Trioso MG., Haraguchi K., Caído S.D., m. Nyman, Aguilar A., Borrel A., Sibiert U AND Manson F.C. (2001). *J. Toxicol and Environ. Health*. Vol.62,1

Trnovec, T., Sovčíková E, Pavlovcinová G, Jakubičková J, Jusko TA, Husta'k M, Jurecková D, Palkovicová L, Kocan A, Drobna B, Lancz K, Wimmerová S., 2010. Serum PCB concentrations and cochlear function in 12-year-old children. *Environ Sci Technol*. 44, 2884-9.

Valciukas, JA. (1991). Cap. 20 The target Neurotoxy Foundations of Environmental and Occupational Neurotoxicology. Nueva York: Van Nostrand Reinhold.

Valcke M., Sammuel O., Bouchard M., Dumas P., Belleville D., Tremblay C. (2006). Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides in children living in peri-urban areas of the Province of Quebec, Canada. *Int. Arch Occup Environ Health*.

van Wendel de Joode B, Wesseling C, Kromhout H, Monge P, Garcia M, Mergler D. (2001). Chronic nervous-system effects of long-term occupational exposure to DDT. *Lancet* 357:1014-1016

Wasserman G.A., Liu X., Factor-Litvak P., Todd A., Kline J.K., Slavkovich V., Popovac D., and Graciano J.H. (2003). The relation between blood lead, bone lead and children intelligence, Chile neuropsychology. *Enviromental Health Perspectiva* Vol 9 No1 pp 22-34.



Wasserman GA, Liu X, Parvez F, Ahsan H, Factor-Litvak P, Van Geen A, et al. 2004. Water arsenic exposure and children's intellectual function in Arahazar, Bangladesh. *Environment Health Perspect* 112:(13):1329-1333.

Weiderpass E., Adami H., Baron J. A., Wicklund-Glynn A., Aune M., Atuma S., and Persso I. (2000) Organochlorines and Endometrial Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* Vol. 9, 487-493, May

Wechsler, D., 2007. Wisc IV. Escala Wechsler de Inteligencia para Niños IV. Manual de aplicación, Versión estandarizada para México. Manual Moderno, México

Wessels Dennis, Dana Barr and Pauline mendola. (2003). Use of biomarkers to indicate exposure of children to organophosphate pesticides: Implications for longitudinal study of children's., *Environmental Health. Perspect*. 111 (16)1939-1945.

Wilson, N. K. C., J. C. Lyu, C. Menton, R. Morgan, M. K., 2003. Aggregate exposures of nine preschool children to persistent organic pollutants at day care and at home. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 13, 187-202.

Wilson NK., Chuang JC., Iachar R., Lyu C., Gordon, Morgan SM., Ozkaynak H and Sheldon L. (2004). Design and sampling methodology for large study of preschool children's aggregate exposure to persistent organic pollutants in their everyday environments. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 14, 260-274.

Wilbur A. (2011). Riesgo de Exposición a los Plaguicidas en Familias con Niños Menores de 6 años de Azapa y Lluta. SIT Chile: Salud Pública, Medicina Tradicional y Empoderamiento de la Comunidad. Junio.

Wilhelm M., Ewers U. and Schulz C. (2003) Revised and new reference values for some persistent organic pollutants (POPs) for blood for human biomonitoring in environmental medicine. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 206, 17e



William E. Lambert, Michael Lasarev, Juan Muniz, Jennifer Scherer, Joan Rothlein, Juanita Santana, and Linda Mccauley (2005) Variation in organophosphate pesticide metabolites in urine of children living in agricultural communities. *Environ. Health Perspec.* 113(4): 504-508.

Woodward A.H., Percipal M, Jennings, Moore C: Low clutch viability of american alligators of Lake Apopka, Florida. *Science* 56:52-63, 1993 ATSDR (1995). Evaluación de riesgo en salud por la exposición a residuos peligrosos. Departamento de salud humana y servicios de los E. E. U. U. Traducción al Español de la edición de la obra original editada en marzo de 1992.

World Health Organization. Rapid health assessment in sudden population displacements. Geneva: World Health Organization, 1990; no. ERO/EPR/90.1.7.

Yáñez L, Calderón J, Carrizales L y Díaz-Barriga F (1997). Evaluación del riesgo en sitios contaminados con plomo aplicando un modelo de exposición integral (IEUBK). En: Evaluación de riesgos para la salud en la población expuesta a metales en Bolivia (Díaz-Barriga F, ed.) Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud OPS/OMS. pp. A-1 a A-17.

Yanez, L., Ortiz-Perez, D., Batres, L. E., Borja-Aburto, V. H., Diaz-Barriga, F., 2002. Levels of dichlorodiphenyltrichloroethane and deltamethrin in humans and environmental samples in malarious areas of Mexico. *Environ Res.* 88, 174-81.

Young JG, Eskenazi B, Gladstone EA, Bradman A, Pedersen L, Johnson C, et al. 2005. Association between in utero organophosphate pesticides exposure and abnormal reflexes in neonates. *Neurotoxicology* 26:199-209.

Zayas M. R. y Cabrera C. U. (2007). Los tóxicos ambientales y su impacto en la salud de los niños. Hospital Pediátrico Docente de Centro Habana. *Rev Cubana Pediatr*; 79(2).



# ANEXOS



## Anexo I. CUESTIONARIO SOCIECONÓMICO APLICADO A LA POBLACIÓN EN ESTUDIO



### Universidad Autónoma de San Luis Potosí Facultad de Medicina. Laboratorio de Toxicología Ambiental

Proyecto: Evaluación del Efecto en Salud por la Exposición a Plaguicidas en Niños de San Luis Potosí

Folio:

Fecha      Día                      Mes                      Año

Proyecto

\_\_\_\_\_

Localidad \_\_\_\_\_ Municipio \_\_\_\_\_

Estado \_\_\_\_\_

Dirección

\_\_\_\_\_

Geo-referenciación \_\_\_\_\_ Altitud

\_\_\_\_\_

#### I DATOS DE IDENTIFICACIÓN DE LOS PADRES

1.1- Nombre del Padre o Tutor

\_\_\_\_\_

1.2.- ¿Es bilingüe? 1.- No 2.- Sí ¿Qué habla? \_\_\_\_\_ ( )

1.3.- Nivel escolar (# de años) \_\_\_\_\_ ( )  
1.- Ninguno (0) 2.- Primaria (1-6) 3.- Secundaria (7-9)  
4.- Preparatoria (10-12) 5.- Profesional(13-17)

1.4 Nombre de la Madre

\_\_\_\_\_

1.5 ¿Es bilingüe? 1.- No 2.- Sí ¿Qué habla? \_\_\_\_\_ ( )

1.6 Nivel escolar (# de años) \_\_\_\_\_ ( )  
1.- Ninguno (0) 2.- Primaria (1-6) 3.- Secundaria (7-9)  
4.- Preparatoria (10-12) 5.- Profesional(13-17)

1.7.- Tiempo de residencia en la localidad (# de años) \_\_\_\_\_ ( )  
1.- 0-1, 2.- 2-3, 3.- 4-5, 4.- 6-10, 5.- mas de 10

1.8 No. De hijos \_\_\_\_\_ ( )  
1.- 0-1 2.- 2-3 3.- 4-5 4.- 6-7 5.- 8-9 6.- 10 o más

**II VIVIENDA Y DATOS SOCIOECONÓMICOS**

2.1.- ¿Cuántas personas viven en su casa? Adultos \_\_\_\_\_ Niños \_\_\_\_\_ ( )

EDADES	MASCULINO	FEMENINO
< 5 años		
5-14 años		
15-49 años		
>49 años		

2.2.- ¿Cuál es la principal ocupación del jefe/a de familia? ( )

1.- No trabaja    2.- Asalariado/empleado    3.- Trabaja por su cuenta/negocio propio  
4.- Otro (Espec

\_\_\_\_\_

2.3. ¿Ingreso mensual? ( )

1.- 0-500    2.- 501-1000    3.- 1001-1500    4.- 1501-2000,    5.- 2001-2500, 6.- Más de 2501

2.4. ¿Cuántas de las personas que viven en la casa trabajan y colaboran con el gasto familiar? ( )

1.- Esposa (o) \_\_\_\_\_, 2.- Hijos \_\_\_\_\_, 3.-Hijas \_\_\_\_\_ 4.-Hermanos \_\_\_\_\_ 5.- otros

\_\_\_\_\_

2.5. ¿Número de habitaciones de la casa considerando la cocina? ( )

2.6. ¿Tiene luz eléctrica? 1.- No 2.- Sí ( )

2.7. ¿Es casa propia? 1.- No 2.- Sí ( )

2.8. ¿De qué material está hecha? ( )

Paredes: 1.- Ladrillo o block 2.- Madera 3.- Repello 4.- Enjarre 5.- otra

\_\_\_\_\_

2.9. Techo: 1.- Loza 2.- Palma 3.- Lamina de cartón 4.- Lamina de metal 5.- Teja 6. ( )

Otro \_\_\_\_\_

2.10. Piso: 1.- Cemento 2.-Vitropiso 3.- Tierra 4.- Madera 5.-Otro ( )

\_\_\_\_\_

2.11. ¿Tiene patio? 1.- No (pase a la pregunta 2.13.) 2.- Sí ( )

2.12. ¿De qué material es? ( )

1.- Cemento 2.- Tierra 3.- Madera 4.- Otro

\_\_\_\_\_

2.13. Fuente de agua de su hogar ( )

1.-Entubada    2.-Pozo    3.-Río    4.-

Otra \_\_\_\_\_

2.1.4. ¿El agua que tienen es?.....1.- escasa 2.-suficiente 3.- No hay ( )

2.15. ¿Estación donde escasea más? ( )

1.- Inicio de secas 2.- Fin de las secas 3.- Lluvias 4.- Todo el año 5.- Nunca escasea



- 2.16. ¿Mantiene agua almacenada en su casa? 1.- No (pase a la pregunta Num. 2.18.) 2.- Sí ( )
- 2.17. ¿En dónde? 1.- Aljibe 2.- Tinaco 3.- Tambos 4.- Cubetas 5.- Otro \_\_\_\_\_ ( )
- 2.18. ¿Cuáles considera usted la calidad del agua que usa? ( )  
1.- Buena 2.- Mala 3.- Regular 4.- No sabe 5.- Otra \_\_\_\_\_
- 2.19. ¿De dónde obtienen el agua para beber o cocinar? ( )  
1.-Entubada 2.-Pozo 3.-Río 4.-Camión (pipa cisterna) 5.- Garrafón 6.- Otra \_\_\_\_\_
- 2.20. ¿Qué tratamiento acostumbra dar al agua para beber o cocinar? ( )  
1.- Ninguno (pase a la pregunta Núm. 2.22.) 2.- La hierven 3.- Le echan cloro o lejía 4.-Purificador 5.- Otra \_\_\_\_\_
- 2.21. ¿Cada cuándo hace esto? ( )  
1.-Cada vez que llevan el agua 2.- Antes de tomarla 3.- Nunca 4.- Otra \_\_\_\_\_
- 2.22. ¿Qué utiliza para freír sus alimentos? ( )  
1.- Manteca 2.- Aceite vegetal 3.- Otro \_\_\_\_\_
- 2.23. ¿Para cocinar usa utensilios de Barro? 1.- No 2.- Sí ( )
- 2.24. ¿Con que cocina? 1.- Gas 2.- Carbón 3.- Petróleo 4.- Leña 5.- Otro \_\_\_\_\_ ( )
- 2.25. ¿Tiene Chimenea? 1.- No 2.- Sí ( )
- 2.26. ¿Mientras cocina le ayudan o están presentes sus hijos? 1.- No 2.- Sí ( )
- 2.27. ¿Con que frecuencia remueve el hollín (cochambre) de su cocina? (meses) ( )  
1.- Cada 1 o 2 2.- Cada 3, 3.- Cada 6, 4.- Cada 9, 5.- Cada año, 6.- No lo hace
- 2.28. ¿Con que frecuencia remueve las cenizas del fogón? (meses) ( )  
1.- Cada 1 o 2 2.- Cada 3, 3.- Cada 6, 4.- Cada 9, 5.- Cada año, 6.- No lo hace (pase a la pregunta Num. 2.30.)
- 2.29. ¿Dónde deposita las cenizas? ( )  
1.- Patio trasero, 2.- Cocina, 3.- Calle, 4.- Río, 5.- otra \_\_\_\_\_
- 2.30. ¿Qué hacen con la basura? ( )  
1.- La queman 2.- La entierran 3.- Servicio municipal 4.- La tiran a la calle 5.- Separan plásticos y leña 6.- Alimentan a sus animales 7.-Otra \_\_\_\_\_
- 2.31. ¿Dónde la tiran o queman? ( )  
1.- Patio 2.- Donde pasa el camión 3.- Río 4.- Hoyo  
Otro \_\_\_\_\_
- 2.32. ¿Qué tipo de servicio sanitario hay en casa? ( )



1.- Abierto (al aire libre), 2.- Letrina, 3.- Medio baño (solo taza),  
4.- Completo (taza, lavabo, regadera) 5.-  
Otro \_\_\_\_\_

2.33. ¿A dónde va a dar el agua que se usa para lavar ropa y trastes? ( )  
1.- Fosa séptica 2.- Drenaje 3.- Al patio 4.- A la calle 5.- Al río 6.- Otra \_\_\_\_\_

2.34. ¿A dónde va a dar el agua que se usa para bañarse? ( )  
1.- Fosa séptica 2.- Drenaje 3.- Al patio 4.- A la calle 5.- Al río 6.- Otra \_\_\_\_\_

2.35. ¿Qué servicios médicos o primeros auxilios recibe? ( )  
1.- Curandero 2.- Partera 3.- IMSS 4.- ISSSTE 5.- Seguro popular 6.-Particular 7.- Ninguno

2.36. Antecedentes heredo-familiares

	Madre	Padre	Otro	¿Cuáles?
Alcoholismo	( )	( )	( )	
Fármaco dependencia	( )	( )	( )	
Tabaquismo	( )	( )	( )	
Epilepsia	( )	( )	( )	
Deficiencia mental	( )	( )	( )	
Otra	( )	( )	( )	

### III.- HABITOS ALIMENTICIOS

3.1. ¿Come carne? 1.- No (pase a la pregunta Num. 3.3.) 2.- Sí ( )  
¿De que tipo? \_\_\_\_\_

3.2. ¿Con que frecuencia? (# de veces por semana) ( )  
1.- 0-1, 2.- 2-3, 3.- 4-5, 4- Toda la semana

3.3. ¿Come pescado? 1.- No (pase a la pregunta Num. 3.7.) 2.- Sí ( )  
¿Qué especies? \_\_\_\_\_

3.4. ¿Con que frecuencia? (veces por semana) 1.- 1, 2.- 2-3, 3.- 4-5, 4- Toda la semana ( )

3.5. ¿Cuáles lo compra? ( )  
1.- En la Tienda 2.- Mercado 3.- Se lo dieron 4.- Otro \_\_\_\_\_

3.6. ¿Cuáles lo pesca? ( )  
1.- Río 2.- Presa o Laguna 3.- Propio estanque 4.- Otro \_\_\_\_\_

3.7. ¿Come Verduras y Legumbres? 1.- No 2.- Sí ( )  
¿Cuáles? \_\_\_\_\_

### IV.- EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS

4.1. ¿Cultiva o trabaja la tierra? 1.- No (pase a la pregunta Núm. 4.22.) 2.- Sí ( )

4.2. ¿Tienen parcelas propias y/o huertas? 1.- No (pase a la pregunta Núm. 4.7.) 2.- Sí ( )  
1.- Son Propias 2.- Las renta 3.- Las Trabaja 4.-



- Otra \_\_\_\_\_
- 4.3. ¿De qué tipo son?   
1.- Temporal (pase a la pregunta Núm. 4.5.) 2.- Riego
- 4.4. ¿El agua que utiliza en el riego de su parcela y/o huerta de donde proviene?   
1.- Pozo 2.- Río 3.- Aguas negras 4.- Aguas tratadas 5.- Aguas industriales  
6.- otra fuente  
\_\_\_\_\_
- 4.5. ¿Cuáles siembra?   
\_\_\_\_\_
- 4.6. ¿Hay plagas? 1.- No 2.- Sí   
¿Cuáles? \_\_\_\_\_
- 4.7. ¿Usa plaguicidas para cuidar y proteger sus cultivos? 1.- No (pase a la preg. Núm. 4.22.) 2.-   
¿Cuáles? \_\_\_\_\_
- 4.8. ¿Cuáles tipo de presentación o formulación utiliza?   
1.- Polvos 2.- Líquidos 3.- Gránulos Otro  
(especifique) \_\_\_\_\_
- 4.9. ¿Con que frecuencia los aplica (# de veces por semana)?   
1.- 0-1 2.- 2-3 3.- más de 3 4.-  
Otra \_\_\_\_\_
- 4.10. ¿Cómo los aplica?   
1.- Manualmente 2.- Bomba aspersora 3.- Otra  
\_\_\_\_\_
- 4.11. ¿Dónde los compra?   
1.- Veterinaria 2.- Tienda 3.- Mercado 4.- Familiar 5.- Otra  
\_\_\_\_\_
- 4.12. ¿Cuáles lo asesora en el tipo de producto que debe aplicar, la frecuencia de uso, etc.?   
1.- Veterinaria 2.- Tienda 3.- Mercado 4.- Familiar 5.- Otra  
\_\_\_\_\_
- 4.13. ¿Usa algún tipo de equipo de protección? 1.- No (pase a la pregunta Núm. 4.16) 2.- Sí
- 4.14. ¿Cuál? 1.- Overol 2.- Guantes 3.- Lentes 4.- Botas 5.- Casco 6.- Mascarilla 7.-   
Otro \_\_\_\_\_
- 4.15. ¿Se cambia de ropa para ir a casa? 1.- No 2.- Sí
- 4.16. ¿Dónde almacena los insecticidas e insumos para sus cultivos?   
1.- Patio 2.- Bodega 3.- Cuarto 4.- Cocina 5.- Otro  
\_\_\_\_\_
- 4.17. ¿Qué hace con los recipientes, sobres, envases que contienen plaguicidas, fertilizantes etc.?   
1.- Los quema 2.- Los tira 3.- Los entierra 4.- Los reutiliza 5.- Usa de depósito de agua  
6.- Otro (especifique)  
\_\_\_\_\_



- 4.18. ¿Al final de la cosecha que hace con los rastrojos? ( )  
1.- Entierra 2.- Quema 3.- Usa como combustible 4.- Lo come el ganado 5.- No hace nada  
6.- Otra \_\_\_\_\_
- 4.19. ¿Sus hijos le ayudan durante la siembra, cuidado y cosecha de sus cultivos? ( )  
1.- No (pase a la pregunta Núm. 4.22) 2.- Sí
- 4.20. ¿Cuántas veces por semana? ( )  
1.- 0-1, 2.- 2-3 3.- 4-5 4.- Todos los días
- 4.21. ¿A que edad empezaron sus hijos a apoyarlo? ( )  
1.- Nunca 2.- 0-5 años, 3.- 6-10 años 4.- 11-15 años
- 4.22. ¿El personal del programa de control de Dengue y Paludismo aplica insecticidas en su casa? ( )  
1.- No (pase a la pregunta 4.25.) 2.- Sí 3.- No sabe
- 4.23. ¿Con que frecuencia aplican (meses)? ( )  
1.- 3, 2.- 6, 3.- 9, 4.- 12, 5.- nunca
- 4.24. ¿Sabe usted qué insecticida aplican? 1.- No 2.- Sí. ( )  
¿Cuál? \_\_\_\_\_
- 4.25. ¿Aplican arenas o gránulos en sus depósitos de agua contra las larvas de mosquitos? ( )  
1.- No 2.- Sí 3.- No sabe
- 4.26. ¿Con que frecuencia lo aplican (meses)? ( )  
1.- 1-3, 2.- 4-6, 3.- 9, 4.- 12, 5.- nunca

## V. ENCUESTA DE DESARROLLO, HÁBITOS Y COMPORTAMIENTO DE LOS NIÑOS

Folio:

- 5.1. Nombre del niño o niña: \_\_\_\_\_
- 5.2. Sexo: 1.- Masculino 2.- Femenino ( )
- 5.3. Fecha de nacimiento (dd/mm/aa) \_\_\_\_\_
- 5.4. Lugar de nacimiento \_\_\_\_\_
- 5.5. Numero de embarazo 1.- 1 2.- 2 3.- 3 4.- 4 o más ( )
- 5.6. Embarazo deseado 1.- No 2.- Si Actitud de la familia ( )  
\_\_\_\_\_
- 5.7. Tuvo dificultades durante el embarazo 1.- No 2.- Si ( )  
¿Cuáles?  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
- 5.8. Duración del embarazo (meses) 1.- 6-7 2.- 8 3.- 9 ( )



- 5.9. Durante el embarazo de su hijo(a), Ud. Vivió en esta comunidad 1.-No 2.-Si ( )
- 5.10. ¿Fumigaron su casa mientras usted., estaba embarazada? 1.-No 2.-Si ( )
- 5.11. ¿Tomo alcohol durante el embarazo? 1.- No 2.-Si ( )
- 5.12. ¿Fumo durante el embarazo? 1.- No 2.-Si ( )
- 5.13. ¿Tuvo amenazas de aborto? 1.- Sangrado 2.- cólico 3.- Otros \_\_\_\_\_ ( )
- 5.14. ¿Tuvo dificultades durante el parto? 1.-No 2.-Si ( )  
¿Cuáles? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
- 5.15. ¿Dónde fue el parto? 1.-Casa 2.-Clínica 3.- Otro ( )  
\_\_\_\_\_
- 5.16. ¿Quién la atendió? 1.- Sola 2.- Medico 3.- Enfermera 4.- Partera-comadrona ( )
- 5.17. ¿Cómo fue el parto? 1.-Cefálico (cabeza) 2.-Cesárea ( )
- 5.18. ¿Cuánto tiempo duro el trabajo de parto? 1.- 1-3 hrs 2.- 4-6 hrs 3.- 7-9 hrs 4.- 10-12 hr ( )  
5.- >12 hrs
- 5.19. Condiciones perinatales  
Peso al nacer \_\_\_\_\_ Talla al  
nacer \_\_\_\_\_  
Hipoxia neonatal \_\_\_\_\_  
Ictericia \_\_\_\_\_  
Abgar \_\_\_\_\_  
Otro \_\_\_\_\_
- 5.20. ¿Le dio pecho a su hijo(a)? 1.-No 2.-Si ( )  
Si respondió no ¿Cuáles fue el  
motivo? \_\_\_\_\_  
Si respondió si ¿Hasta qué  
edad? \_\_\_\_\_
- 5.21. ¿A qué edad su hijo (a).....?  
Sostuvo la cabeza \_\_\_\_\_ C  
solo \_\_\_\_\_  
Se sentó \_\_\_\_\_ Dijo sus pr  
palabras \_\_\_\_\_  
Gateo \_\_\_\_\_
- 5.22. ¿Con que mano escribe su hijo(a)? 1.-Derecha 2.-Izquierda 3.-Derecha forzado ( )  
4.- Ambidiestro 5.- No sabe
- 5.23. ¿El lenguaje actual del niño es entendible 1.- No 2.-Si (pase a la pregunta 5.25) ( )
- 5.24. Explique por



- que \_\_\_\_\_  
—
- 5.25. ¿Su hijo es bilingüe? 1.- No (pase a la 5.30.) 2.-Si ( )
- 5.26. ¿Cuáles lenguas habla?  
\_\_\_\_\_
- 5.27. ¿Qué lengua aprendió primero? 1.- \_\_\_\_\_ 2.- español ( )
- 5.28. ¿A qué edad hablo la segunda lengua? \_\_\_\_\_
- 5.29. ¿Qué lengua habla y utiliza más? 1.- \_\_\_\_\_ 2.- español ( )
- 5.30. Peso \_\_\_\_\_ Talla \_\_\_\_\_
- 5.31. ¿Cómo se encuentra el estado de salud general de su hijo(a)? 1.-bueno 2.-regular 3.- r ( )
- 5.32. Su hijo tiene todas sus vacunas 1.- No (¿Por qué?) 2.- Si ( )  
\_\_\_\_\_
- 5.33. Su hijo ha tenido alguna operación 1.- No 2.- Si ( )
- 5.34. ¿Qué padecimientos ha sufrido su hijo? ( )  
1.-Convulsiones 2.-Deficiencias visuales 3.-Diarreas 4.-Problemas de audición 5.- Alergi:  
por alimentos 6.- Cefaleas 7.- Problemas de obesidad 8.- Problemas en los ojo  
9.- Problemas de oído 10.- Anemia 11.- Glándulas del cuello inflamadas  
12.- Problemas del riñón 13.- Problemas del corazón 14.- Asma 15.- Estreñimiento  
16.- Problemas del estomago 17.- Enf. Pulmonares o bronquiales 18.- Convulsiones  
19.-Dolores de cabeza 20.- Dengue 21.- Paludismo 22.- Manchas en la piel\*  
23.- Copro con sangre (parásitos) 24.-Otra \_\_\_\_\_  
\* En que parte del cuerpo \_\_\_\_\_
- 5.35. ¿Ha sufrido algún golpe en la cabeza con pérdida de conciencia? 1.- No 2.-Si\* ( )  
\*En que parte de la cabeza \_\_\_\_\_
- 5.36. ¿Su hijo ha tenido o tiene piojos? 1.- No (pase a la pregunta Núm. 5.38.) 2.- Sí ( )
- 5.37. ¿Cómo los ha  
eliminado? \_\_\_\_\_
- 5.38. ¿Su hijo ha tenido sarna o escabiasis? 1.- No (pase a la pregunta Núm. 5.40.) 2.- Sí ( )
- 5.39. ¿Cómo lo ha curado?  
\_\_\_\_\_
- 5.40. ¿Su hijo ha sufrido de intoxicaciones por plaguicidas ó alimentos contaminados? ( )  
1.- No 2.-Sí
- 5.41. ¿Cómo la trató? 1.- Hospitalización 2.- Remedio casero 3.- Tratamiento medico ( )  
4.- Curandero 5.- Otra \_\_\_\_\_
- 5.42. Su hijo(a) está actualmente tomando medicamentos? 1.- No (Pase a la pregunta 5.39.) ( )



- 2.-Si
- 5.43. ¿Cuáles? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
- 5.44. ¿Para que los utiliza? \_\_\_\_\_
- 5.45. ¿Su hijo(a) asiste a la escuela? 1.- No 2.-Si (pase a la pregunta Núm. 5.48.) ( )  
3.- No concluyo/Deserto
- 5.46. ¿Cuál es el motivo? ( )  
\_\_\_\_\_  
(Pase a la pregunta Núm. 5.53.)
- 5.47. ¿Sabe leer y/o escribir? 1.- Si 2.- No ( )
- 5.48. Nombre de la escuela \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
- 5.49. Nivel escolar (# de años) 1.- Ninguno (0) 2.- Primaria (1-6) 3.- Secundaria (7-9) ( )  
Otro \_\_\_\_\_
- 5.50. Grado \_\_\_\_\_  
Grupo \_\_\_\_\_
- 5.51. ¿A qué edad entro a la escuela? \_\_\_\_\_
- 5.52. ¿Ha repetido algún año? 1.- No (pase a la pregunta Núm. 5.54.) 2.-Si ( )
- 5.53. ¿Cuál fue el motivo? \_\_\_\_\_
- 5.54. ¿Ha presentado problemas para aprender? 1.-No (pase a la pregunta Núm. 5.50.) 2.-Si ( )
- 5.55. ¿Cuáles? \_\_\_\_\_
- 5.56. ¿Es distraído (a)? 1.- No 2.-Si ( )
- 5.57. ¿Es inquieto(a)? 1.-No 2.- Si ( )
- 5.58. ¿Le ha costado trabajo aprender a leer y escribir? 1.- No 2.-Si ( )
- 5.59. ¿Cuál es la opinión del maestro de su hijo(a)? 1.- Bueno 2.- Regular 3.- malo ( )
- 5.60. ¿Cuáles son los lugares donde su hijo(a) pasa la mayor parte del tiempo? ( )  
1.-Patio, 2.- Calle, 3.- Escuela, 4.- Campo de Fútbol, 5.- Parcela, 6.- Río  
7.- En todos 8.- no sabe 9.- Otro  
\_\_\_\_\_
- 5.61. ¿En la escuela les imparten materias sobre contaminación y salud? 1.- No 2.- Sí ( )



- 5.62. ¿Cree usted que existe alguna fuente de contaminación cerca de su casa o en su comunidad? ( )  
1.- No (pase a la pregunta Núm. 5.64.) 2.- Sí
- 5.63. ¿Cuál?  
\_\_\_\_\_
- 5.64. ¿Existe alguna fuente de contaminación cerca de la escuela de su hijo (a)? ( )  
1.- No (pase a la pregunta Núm. 5.66.) 2.- Sí
- 5.65. ¿Cuál?  
\_\_\_\_\_
- 5.66. ¿Su hijo(a) lo apoya en algunas actividades en la casa? ( )  
1.- No (pase a la pregunta Núm. 5.68.) 2.- Sí
- 5.67. ¿Cuál?  
\_\_\_\_\_
- 5.68. ¿Sus hijo(a)s lo apoyan en algunas actividades en el trabajo? ( )  
1.- No (pase a la pregunta Núm. 5.70.) 2.- Sí
- 5.69. ¿Cuáles?  
\_\_\_\_\_
- 5.70. ¿Cuál es el estatus de los padres del niño(a)? 1.-Casados\* 2.- Divorciados\* 3.-Ambos Ausentes 4.- Unión libre 5.- Madre soltera 6.- viuda 7.- Separados\* 8.- Otro \_\_\_\_\_  
\*Años \_\_\_\_\_
- 5.71. ¿Con quién vive el niño? 1.- Madre 2.- Padre 3.- Abuelos 4.- Otros\* ( )  
\*¿Cuáles? \_\_\_\_\_
- 5.72. ¿Carácter de la madre? 1.- Irritable (enojona) 2.-Paciente 3.- Voluble (cambiante) ( )  
4.- Estricta 5.- Otro \_\_\_\_\_
- 5.73. Carácter del padre? 1.- Irritable (enojón) 2.-Paciente 3.- Voluble (cambiante) ( )  
4.- Estricto 5.- Otro \_\_\_\_\_
- 5.74. ¿Tiempo que la madre dedica a la familia? 1.- 1-3 hrs 2.- 2-5 hrs 3.- 5-8 hrs 4.- >8 hrs ( )
- 5.75. ¿Tiempo que el padre dedica a la familia? 1.- 1-3 hrs 2.- 2-5 hrs 3.- 5-8 hrs 4.- >8 hrs ( )
- 5.76. ¿Cuáles es la relación madre-hijo(a)? 1.- Buena 2.- Mala 3.- Regular ( )
- 5.77. ¿Cuáles es la relación padre-hijo(a)? 1.- Buena 2.- Mala 3.- Regular ( )
- 5.78. ¿Quién se hace cargo del niño el tiempo que permanece en la casa? 1.- Madre 2.- Padre ( )  
3.- Abuelos 4.- Hermanos (as) 5.- Tíos (as) 6.- Otro\*  
\*¿Quién? \_\_\_\_\_
- 5.79. ¿Algún hecho significativo que haya afectado el desarrollo del niño(a) ( )  
1.- Muerte 2.- Enfermedad 3.- Accidentes 4.- Viaje 5.- Otro 6.- Ninguno de los anterior  
(pase a la pregunta No. 5.81.)



- 5.80. ¿Parentesco con el niño? \_\_\_\_\_
- 5.81. ¿Cómo es la adaptación del niño en la escuela? 1.- Adecuada 2.- Inadecuada ( )
- 5.82. ¿Cuáles es la actitud del niño hacia sus padres? 1.- Hostilidad 2.- Afecto 3.- Indiferenci ( )  
4.- Otra\* \*¿Cuál? \_\_\_\_\_
- 5.83. ¿Cuáles es la actitud del niño hacia sus hermanos y/o amigos? 1.- Hostilidad 2.- Afecto ( )  
3.- Indiferencia 4.- Otra\*  
\*¿Cuál? \_\_\_\_\_
- 5.84. ¿Cuál es la actitud de los padres frente a las malas conductas o travesuras del niño? ( )  
1.- Hostilidad (castigos) 2.- Afecto (comprensión) 3.- Restricción (regaños)  
4.- Permisibilidad (flexibles) 5.- Indiferencia (no le hacen caso) 6.- Gritos 7.- Otra
- 5.85. ¿El niño ha presentado alguna de las conductas siguientes con cierta frecuencia? ( )  
1.- Berrinches 2.- Incontinencia intestinal 3.- Orinarse en la cama 4.- Succión del pulga  
5.- Llanto excesivo 6.- Morderse las uñas 7.- Agresividad 8.- Rechazo de alimentos  
9.- Exceso de alimentos 10.- Ninguna de las anteriores (pase a la pregunta No. 5.87.)
- 5.86. ¿Cuál es la actitud asumida de los padres por estas conductas? ( )  
1.- Hostilidad (castigos) 2.- Afecto (comprensión) 3.- Restricción (regaños)  
4.- Permisibilidad (flexibles) 5.- Indiferencia (no le hacen caso) 6.- Otra
- 5.87. ¿Cuáles son las formas de castigo de los padres? 1.- Corporal (le pega) 2.- Amenazas ( )  
3.- Verbal 4.- Encierro 5.- Explicaciones 6.- Privaciones 7.- Otra



## **Anexo II. PROCEDIMIENTO DESARROLLADO PARA LA VALIDACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE LOS MÉTODOS INSTRUMENTAL Y ANALÍTICOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS ORGANOCORADOS EN PLASMA**

### **1. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO**

La cuantificación de los diferentes analitos organoclorados se realizó en un cromatografo de gases Hewlett-Packard modelo 6890 equipado con un automuestreador, acoplado a un espectrómetro de masas modelo 5973N. Se empleó una columna capilar HP5-MS J & W Cientific con una longitud de 60 m, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de película de fase estacionaria, utilizando Helio como gas acarreador. La temperatura del inyector fue de 270°C con una presión de 50 psi operado en modo Split pulsado. La temperatura de trabajo del detector fue de 280°C. Para la determinación de los plaguicidas organoclorados se trabajó con el siguiente programa de temperatura del horno: temperatura inicial de 100°C/2 min y una rampa de temperatura con incrementos de: 20°C/min a 200°C, 10°C/min a 245°C /10 min, 4°C/min a 280°C/5 min, 30°C/min a 310°C /5 min. El espectrómetro de masas utilizado se operó en el modo de ionización electrónica positiva, la temperatura de la fuente fue de 250°C. El volumen de inyección de la muestra fue de 1  $\mu\text{L}$ .

Para confirmar y documentar la confiabilidad de los resultados obtenidos las concentraciones niveles de los compuestos organoclorados (OCs) y sus metabolitos (14 plaguicidas y 15 BPCs) en plasma, se realizó la validación y estandarización del método instrumental y analítico.

### **2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO**

La validación de un método es un requisito importante en la práctica de los análisis químicos, es un proceso mediante el cual se confirma por medio de una evaluación, la evidencia necesaria para ratificar que los objetivos de diseño del método bajo especificaciones particulares se cumplen en su totalidad. Por lo que para darle confiabilidad a las concentraciones de los diferentes compuestos OCs cuantificados en las muestras de plasma, se realizó la validación del método instrumental y del método analítico.



## 2.1 Validación del método instrumental

### 2.1.1 Selectividad

La selectividad se refiere a la capacidad de un método analítico para identificar a un analito cuando este se encuentre en una mezcla, sin interferencia de otros compuestos de similar comportamiento (Eurachem Guide, 2011). La determinación de este parámetro se realizó a partir de la preparación de estándares en hexano y de concentración conocida de cada uno de los compuestos de interés de manera individual y posteriormente en mezcla para determinar la capacidad del detector de masas de identificar al mismo analito cuando se encuentra solo o en mezcla. Con este ensayo se obtuvieron los tiempos de retención de cada compuesto, los cuales se muestran en la siguiente tabla 1:

**Tabla 1. Tiempos de retención y iones de cuantificación de 29 compuestos organoclorados (14 insecticidas y 15 BPCs) y 2 estándares internos.**

Compuestos (Insecticidas)	Ion de Cuantificación	Tiempo de Retención (Tr) min	Compuestos (BPCs)	Ion de Cuantificación	Tiempo de Retención (Tr) min
$\alpha$ HCH	219	12.39	<b>BPC28</b>	256	14.76
HCB	284	12.39	<b>BPC 520</b>	292	15.79
$\gamma$ HCH	219	12.66	<b>BPC 101</b>	326	18.9
$\beta$ HCH	219	13.00	<b>BPC 99</b>	326	19.11
Aldrín	66	13.22	<b>BPC 118</b>	326	21.41
Oxiclordano	115	16.52	<b>BPC 153</b>	360	22.34
Heptacloroepoxido	353	17.85	<b>BPC 105</b>	326	22.57
$\gamma$ Clordano	375	17.90	<b>BPC 138</b>	360	23.56
$\alpha$ Clordano	375	18.74	<b>BPC 187</b>	394	24.28
Trans-nonaclor	409	19.32	<b>BPC 183</b>	394	24.50
DDE	245	19.51	<b>BPC 128</b>	360	24.78
Cis-nonaclor	409	19.99	<b>BPC 156</b>	360	25.82
DDT	235	22.04	<b>BPC 180</b>	394	26.53
Mirex	272	23.32	<b>BPC 170</b>	394	27.89
*EndrinC <sup>13</sup>	254	16.41	**BPC 141C <sup>13</sup>	372	22.89

Todos los estándares se prepararon en hexano. El tiempo de retención es el promedio de 3 réplicas. \*Estándar interno para los plaguicidas organoclorados. \*\*Estándar interno para los BPCs. Condiciones cromatográficas: Temperatura del inyector de 270, Temperatura del detector= 280, Rampa de temperatura con incrementos de: 20°C/min hasta 200°C, 10°C/min hasta 245°C /10 min, 4°C/min hasta 280°C/5 min, 30°C/min hasta 310°C /5 min.

Con los datos obtenidos se confirmó que la respuesta a la medición es atribuible a cada compuesto, ya que presentaron el mismo tiempo de retención cuando se inyectaron tanto de manera individual como en mezcla. En la figura 1 se presenta un cromatograma de una mezcla de los plaguicidas OCs y BPCs a una concentración de 1 ppm.

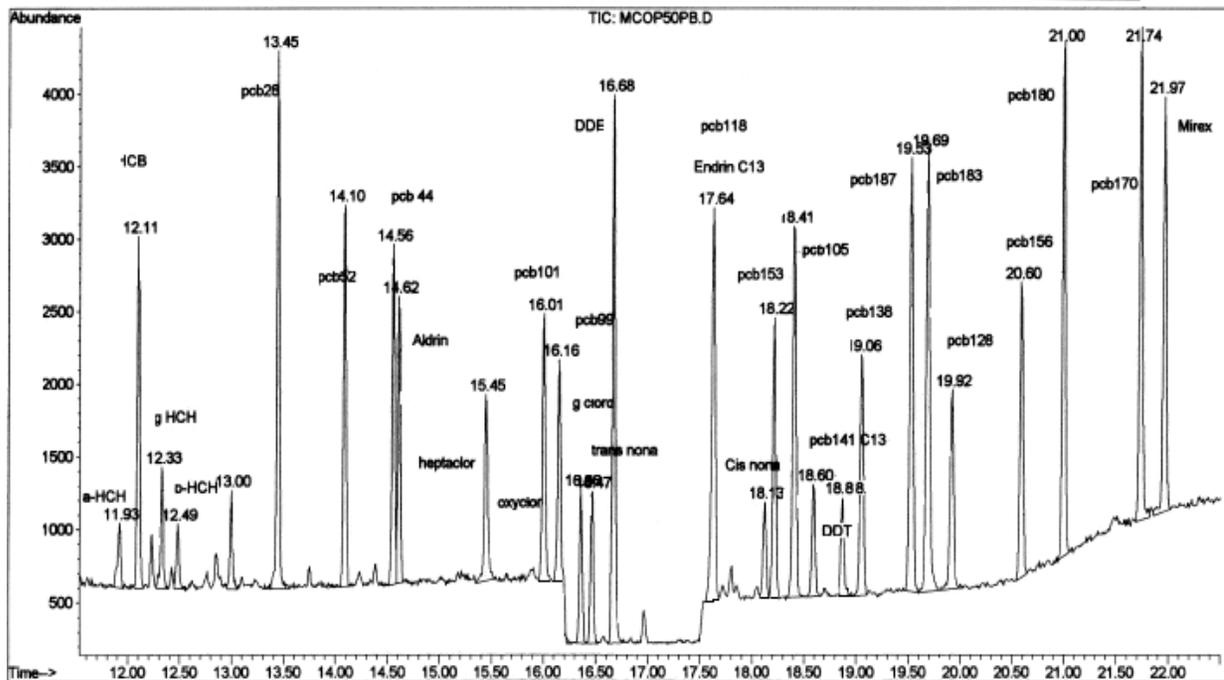


Fig 1. Cromatograma de una mezcla de OC y BPCs en hexano. La concentración de la mezcla fue de 1 ppm

### 2.1.2 Linealidad

El término Linealidad aplicado a un método instrumental, se refiere al intervalo de concentraciones del analito en el que la respuesta es función lineal de la concentración; la representación gráfica (concentraciones frente a respuestas) debe exhibir una buena adherencia de los puntos experimentales a la recta de regresión lineal para que el método instrumental.

Para determinar la linealidad se realizaron curvas de calibración en hexano de las mezclas de los 14 plaguicidas OCs y 15 congéneres de BPCs por triplicado en 2 intervalos de concentración, de 0.75 a 15 ng/mL, y de 3 a 75 ng/mL empleando como estándar interno al Endrin C<sup>13</sup> y el PCB141C<sup>13</sup> a una



concentración de 25 ng/mL. Las condiciones cromatográficas están descritas en párrafos anteriores de este anexo.

El estándar interno se emplea como control de calidad para monitorear posibles errores durante el proceso de extracción y análisis cromatográficos. Los criterios para seleccionarlos son: que sea semejantes en propiedades físico-químicas y cromatográficas a los analitos problemas, químicamente deben ser similares y no reaccionar con los compuestos de la muestras (Miller y Miller, 1995).

Las medias de los coeficientes de correlación( $r$ ), pendientes ( $m$ ) y ordenadas al origen ( $b$ ) obtenidas, se presentan en las tablas 2 y 3. Las curva de calibración de algunos compuestos OCs y PCBs se presentan en las figuras 2 y 3.



**Tabla 2. Linealidad del método instrumental para OCs y BPCs (Intervalo de concentraciones bajas).**

Compuesto (Insecticida)	r	m	b	Compuesto (BPCs)	r	m	b
$\alpha$ HCH	0.992	0.109	0.157	<b>BPC28</b>	0.997	0.065	0.047
HCB	0.999	0.713	0.062	<b>BPC 52</b>	0.997	0.047	0.032
$\gamma$ HCH	0.993	0.204	0.180	<b>BPC 44</b>	0.997	0.038	0.024
$\beta$ HCH	0.987	0.165	0.189	<b>BPC 101</b>	0.998	0.047	0.026
Aldrín	0.999	0.319	0.080	<b>BPC 99</b>	0.998	0.049	0.024
Oxiclordano	0.995	0.269	0.183	<b>BPC 118</b>	0.998	0.052	0.038
Heptacloroepóxido	0.993	0.246	0.067	<b>BPC 153</b>	0.999	0.041	0.013
$\gamma$ Clordano	0.998	0.373	0.186	<b>BPC 105</b>	0.999	0.053	0.016
$\alpha$ Clordano	0.997	0.337	0.124	<b>BPC 138</b>	0.998	0.038	0.011
Trans-nonaclor	0.996	0.383	0.167	<b>BPC187</b>	0.999	0.031	0.010
DDE	0.999	1.362	0.244	<b>BPC 183</b>	0.999	0.035	0.007
Cis-nonaclor	0.988	0.203	0.149	<b>BPC 128</b>	0.999	0.038	0.006
DDT	0.995	0.436	0.180	<b>BPC 156</b>	0.999	0.045	0.005
Mirex	0.999	0.344	-0.141	<b>BPC 180</b>	0.999	0.032	0.004
				<b>BPC 170</b>	0.999	0.302	0.003

Coefficiente de correlación (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b). Los valores son el promedio de las curvas de calibración de la mezcla de los 14 plaguicidas OCs y 15 congéneres de BPCs en hexano realizadas por triplicado. Los intervalos de concentración fueron 0.75, 1.5, 3.0, 5.0 y 15.0 ng/mL. Empleando como estándares internos EndrinC<sup>13</sup> y BPC141C<sup>13</sup> (25 ng/mL).

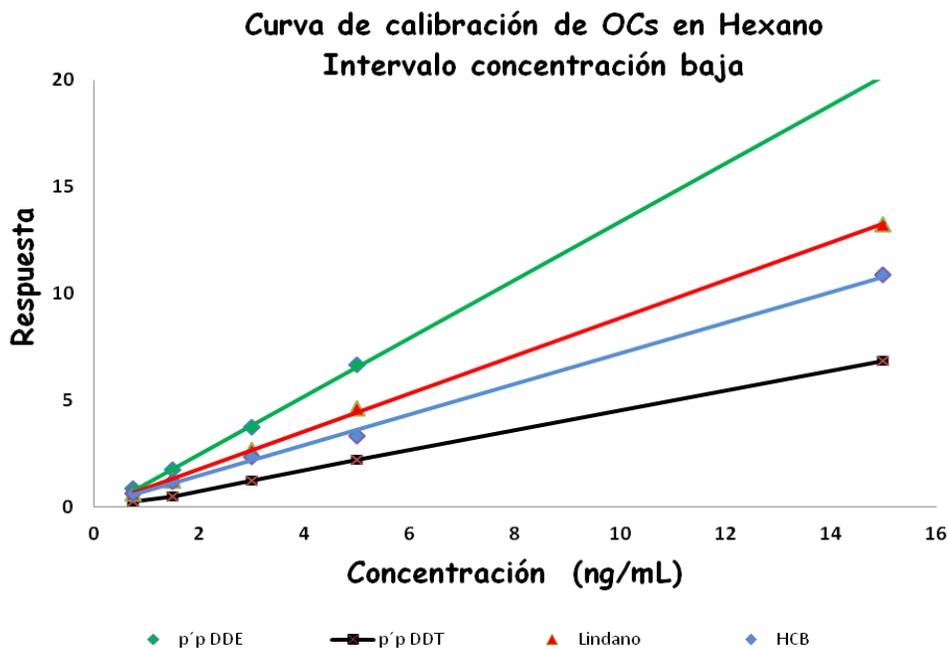


Figura 2. Curva de Calibración de algunos de los insecticidas OCs en Hexano realizadas por triplicados. Concentraciones empleadas 0.75, 1.5, 3, 5 y 15 ng/mL, estándar interno Endrin C<sup>13</sup> (5 ng/mL).

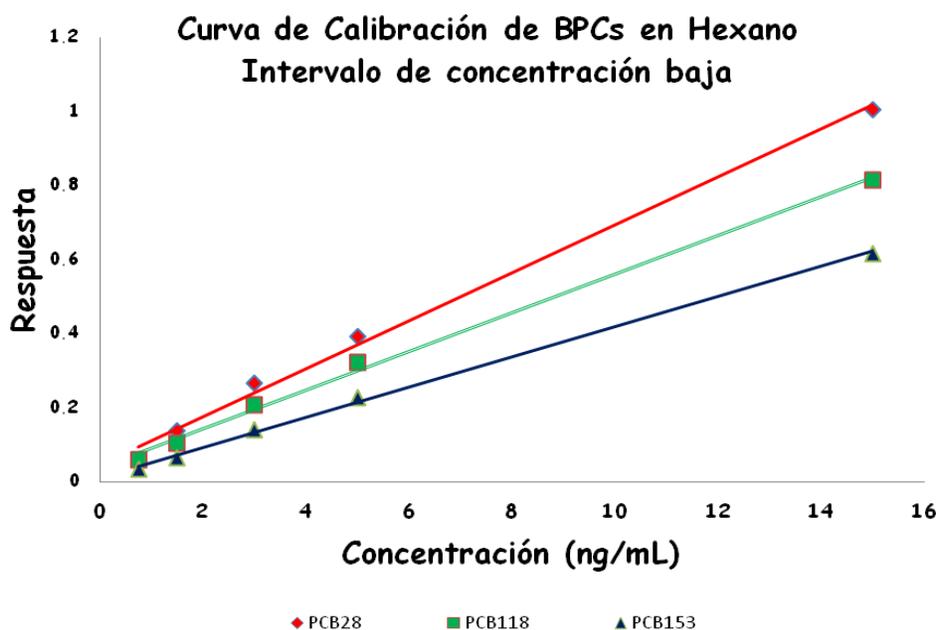


Figura 3. Curva de Calibración de algunos de los BPCs en Hexano realizadas por triplicado. Concentraciones empleadas 0.75, 1.5, 3, 5 y 15 ng/mL, estándar interno PCB141 C<sup>13</sup> (25 ng/mL). n=3 réplicas.



Tabla 3. Linealidad del método instrumental para OCs y BPCs (Intervalo de concentración alto).

Compuesto (Insecticida)	r	m	b	Compuesto (BPCs)	r	m	b
$\alpha$ HCH	0.998	0.121	0.037	<b>BPC28</b>	0.997	0.76	-0.194
HCB	0.999	0.354	1.107	<b>BPC52</b>	0.997	0.47	-0.149
$\gamma$ HCH	0.995	0.117	0.557	<b>BPC44</b>	0.997	0.47	-0.132
$\beta$ HCH	0.994	0.110	0.343	<b>BPC101</b>	0.993	0.70	-0.228
Aldrín	0.999	0.212	0.307	<b>BPC99</b>	0.997	0.61	0.067
Oxclordano	0.994	0.165	0.167	<b>BPC118</b>	0.999	0.60	-0.032
Heptacloroepóxido	0.999	0.127	0.211	<b>BPC153</b>	0.999	0.43	-0.045
$\gamma$ Clordano	0.999	0.267	0.355	<b>BPC105</b>	0.999	0.60	-0.054
$\alpha$ Clordano	0.999	0.230	0.165	<b>BPC138</b>	0.999	0.40	-0.039
Trans-nonaclor	0.999	0.276	0.165	<b>BPC187</b>	0.999	0.34	-0.030
DDE	0.999	0.435	1.051	<b>BPC183</b>	0.999	0.41	-0.039
Cis-nonaclor	0.999	0.228	0.056	<b>BPC128</b>	0.999	0.41	-0.042
DDT	0.991	0.317	-0.180	<b>BPC156</b>	0.999	0.54	-0.057
Mirex	0.999	0.282	-0.573	<b>BPC180</b>	0.999	0.36	-0.022
				<b>BPC170</b>	0.999	0.35	-0.025

Coefficiente de correlación ( $r$ ), pendiente ( $m$ ) y ordenada al origen ( $b$ ). Los valores son el promedio de las curvas de calibración de la mezcla de 14 plaguicidas OCs y 15 congéneres de BPCs en hexano realizadas por triplicado, los intervalos de concentración fueron 3, 5, 10, 20 y 75 ng/mL. Empleando como estándares internos EndrinC<sup>13</sup> y BPCs141C<sup>13</sup> a (25 ng/mL) respectivamente.

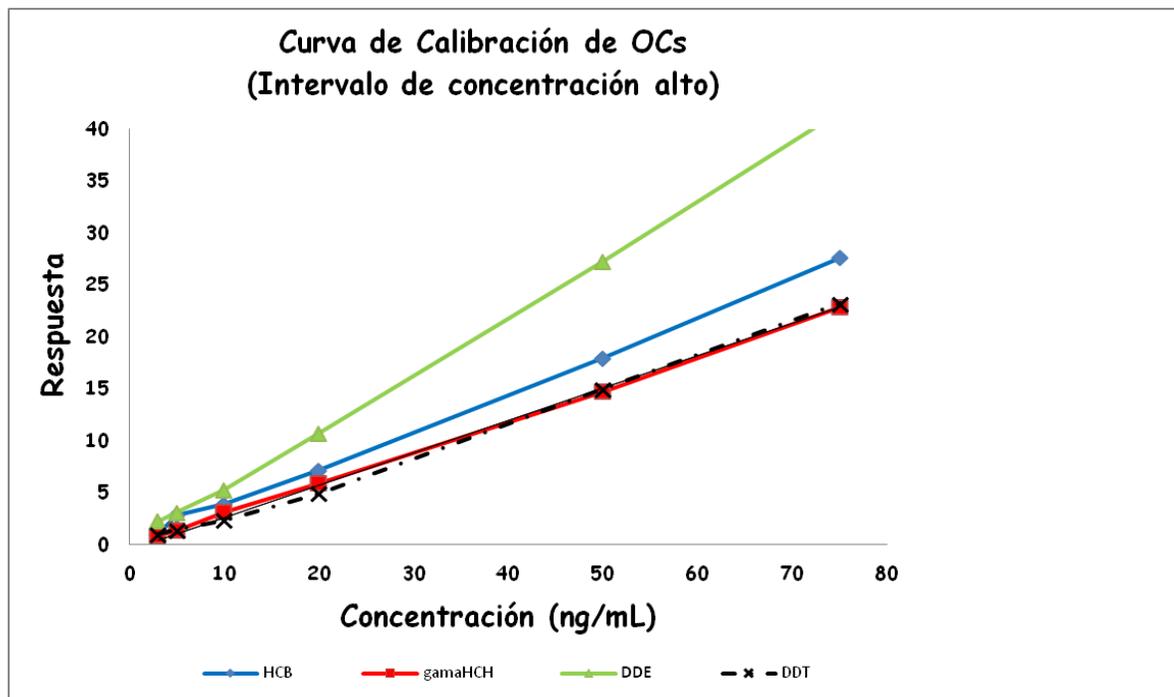


Figura 4. Curva de Calibración de algunos de los insecticidas OCs en Hexano realizadas por triplicado. Concentraciones empleadas 3, 5, 10, 20 y 75 ng/mL, estándar interno Endrin C<sup>13</sup> (25 ng/mL).

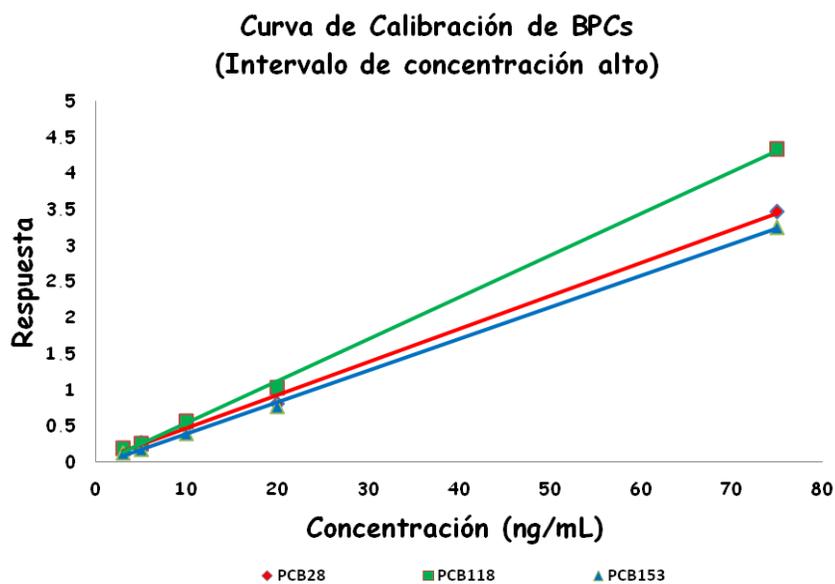


Figura 5. Curva de Calibración de algunos de los PCBs en Hexano realizadas por triplicados. Concentraciones empleadas 3, 5, 10, 20 y 75 ng/mL, estándar interno PCB141 C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



De acuerdo a la guía de EURACHEM 2011, para determinar la linealidad de un método instrumental, se debe de realizar por triplicado con un mínimo de 5 a 8 concentraciones diferentes de los analitos, preparados a partir de una misma solución patrón. Los criterios de linealidad son: el coeficiente de correlación  $\geq 0.99$ . La pendiente es específica para cada compuesto debido a que la respuesta del detector es de acuerdo a la estructura química del analito y el intercepto al origen debe de ser lo más cercano a cero.

Las curvas de calibración para los 14 insecticidas OCs y 15 congéneres BPCs fueron lineales ya que los coeficientes de correlación obtenidos fueron iguales o mayores a 0.99, en ambos intervalos de concentración. Los intervalos del intercepto para los insecticidas OCs fluctuaron de -0.573 a 1.051, la pendiente fluctuó de 0.104 a 1.362. Para los congéneres de BPCs los intervalos del intercepto y la pendiente fueron -0.228 a 0.022; 0.061 a 0.756 respectivamente.

### **2.1.3 Precisión**

La precisión indica el grado de concordancia entre los resultados obtenidos al aplicar el mismo proceso experimental repetidas veces, efectuado sobre la misma muestra bajo condiciones constantes establecidas. La precisión de un método instrumental se conoce valorando la dispersión entre varias determinaciones de los mismos elementos, efectuados sobre la misma muestra y se obtiene por el cociente entre la desviación de las mediciones y el valor medio de éstas, expresados en porcentaje (Coeficiente de Variación; CV) (Sabater y Vilumara, 1988; Miller y Miller, 1995) y se puede evaluar en tres niveles: Repetibilidad, Precisión intermedia y Reproducibilidad (CDR, 1994; ICH, 1995).

#### **2.1.3.1 Repetibilidad**

El criterio para determinar si un método instrumental es repetible es que el porcentaje del Coeficiente de Variación de la respuesta de cada estándar (área bajo la curva) tenga una variación entre el 16 y el 23% (Horwitz, 1981). El análisis de cada uno de los compuestos (OCs y BPCs) se realizó por triplicado en tres días diferentes y se registró la variabilidad de los mismos. Los resultados se presentan en las tablas 4 y 5.



Tabla 4. Repetibilidad del método instrumental para los insecticidas OCs

Conc. ng/mL	%CV													
	$\alpha$ HCH	HCB	$\gamma$ HCH	$\beta$ HCH	Aldrín	Heptacloro Epóxido	Oxiclordano	$\gamma$ Clordano	$\alpha$ Clordano	Trans nonaclor	p'p DDE	Cis- nonaclor	p'p DDT	Mirex
3	3.3	2.9	2.7	1.5	1.2	1.8	1.8	1.4	1.6	1.2	1.7	1.8	2.0	1.1
5	3.4	3.6	1.9	1.9	2.3	1.5	1.1	1.5	1.4	3.6	1.0	1.9	1.4	2.3
10	1.5	1.5	3.0	2.3	1.5	1.6	1.2	2.8	2.4	1.6	1.5	1.1	1.3	1.9
20	1.7	2.2	2.1	2.4	3.0	1.4	1.4	1.6	1.2	3.0	2.3	1.0	1.5	3.9
75	1.6	2.9	3.8	1.5	1.8	2.0	1.7	2.5	2.6	2.2	1.4	2.0	1.1	1.9

%CV= Porcentaje del coeficiente de variación de la respuesta de tres triplicados. Estándar interno Endrín C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



Tabla 5. Repetibilidad del método instrumental para los BPCs

Conc. ng/ml	%CV														
	BPC28	BPC52	BPC44	BPC101	BPC99	BPC118	BPC153	BPC105	BPC138	BPC187	BPC183	BPC128	BPC156	BPC180	BPC170
3	1.9	2.8	2.9	3.4	1.8	1.1	1.0	1.4	6.8	2.3	3.3	3.8	4.5	3.3	3.3
5	1.4	1.69	1.9	4.3	1.2	1.3	2.5	1.0	4.9	2.6	2.3	2.0	2.2	2.1	2.9
10	2.1	1.9	2.3	2.2	1.9	2.1	3.5	1.1	5.5	2.5	1.9	3.2	1.8	2.5	1.6
20	2.7	2.3	2.6	3.2	1.8	1.6	1.9	1.7	4.2	2.9	1.6	2.7	2.2	2.8	1.0
75	2.4	2.6	2.3	2.4	1.0	1.3	2.2	2.2	5.5	3.4	1.8	2.5	2.6	2.7	1.4

%CV= Porcentaje del coeficiente de variación de la respuesta de las curvas de calibración realizadas por triplicado. Estándar interno BPC141 C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



De acuerdo a los porcentajes del coeficiente de variación obtenidos, se concluye que el método instrumental es repetible ya que los valores obtenidos están dentro del intervalo de aceptación que es del 16 al 23% (Horwitz, 1982).

### **2.1.3.2 Reproducibilidad**

La reproducibilidad del método, se determinó en función al porcentaje del coeficiente de variación de la pendiente obtenida después de inyectar tres curvas de calibración independientes. Para considerar que un método es reproducible, la dispersión del coeficiente de variación debe ser entre 16 y 23% (Horwitz, 1981). Los coeficientes de variación obtenidos se detallan en las tablas 6 y 7.

**Tabla 6. Reproducibilidad del método instrumental para los OCs**

OC	Pendiente			Media	% CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
$\alpha$ HCH	0.1238	0.1232	0.1155	0.121	3.8
HCB	0.3531	0.3361	0.3721	0.354	5.0
$\gamma$ HCH	0.1856	0.1997	0.1756	0.117	10.3
$\beta$ HCH	0.1098	0.1114	0.1098	0.110	0.8
Aldrín	0.211	0.2152	0.211	0.212	1.14
Oxclordano	0.1563	0.1765	0.1634	0.165	6.2
Heptacloroepóxido	0.125	0.145	0.112	0.127	13.0
$\gamma$ Clordano	0.2607	0.2809	0.2607	0.267	4.3
$\alpha$ Clordano	0.2262	0.2368	0.2262	0.230	2.6
Trans-nonaclor	0.273	0.2828	0.273	0.276	2.0
DDE	0.4379	0.4296	0.4379	0.435	1.1
Cis-nonaclor	0.2255	0.2319	0.2255	0.228	1.6
DDT	0.314	0.3216	0.314	0.317	1.3
Mirex	0.2737	0.2999	0.2737	0.282	5.3

%CV= Porcentaje del coeficiente de variación de la respuesta de tres triplicados. Los valores reportados son el promedio de las curvas de calibración de la mezcla de OCs y BPCs en hexano realizadas por triplicado, las concentraciones fueron: 3, 5, 10, 20 y 75 ng/mL. Estándar interno Endrín C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



Tabla 7. Reproducibilidad del método instrumental para los BPCs

BPCs	Pendiente				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	% CV
<b>BPC28</b>	0.72	0.76	0.8	0.76	5.2
<b>BPC52</b>	0.47	0.49	0.44	0.47	5.4
<b>BPC44</b>	0.47	0.49	0.44	0.47	5.4
<b>BPC101</b>	0.68	0.72	0.69	0.70	2.9
<b>BPC99</b>	0.61	0.58	0.64	0.61	4.9
<b>BPC118</b>	0.58	0.62	0.59	0.60	4.5
<b>BPC153</b>	0.43	0.42	0.44	0.43	2.3
<b>BPC105</b>	0.58	0.63	0.58	0.60	4.5
<b>BPC138</b>	0.4	0.38	0.42	0.40	5.0
<b>BPC187</b>	0.34	0.35	0.32	0.34	4.5
<b>BPC183</b>	0.4	0.38	0.45	0.41	8.8
<b>BPC128</b>	0.42	0.37	0.43	0.41	7.9
<b>BPC156</b>	0.53	0.58	0.51	0.54	6.6
<b>BPC180</b>	0.35	0.33	0.39	0.36	8.5
<b>BPC170</b>	0.39	0.32	0.34	0.35	10.3

%CV= Porcentaje del coeficiente de variación de la respuesta de tres triplicados. Los valores reportados son el promedio de las curvas de calibración de la mezcla de BPCs en hexano realizadas por triplicado, las concentraciones fueron: 3, 5, 10, 20 y 75 ng/mL. Estándar interno BPC141 C<sup>13</sup> (25 ng/mL).

De acuerdo a los resultados obtenidos de los porcentajes del coeficiente de variación, se concluye que el método instrumental es reproducible ya que los valores del CV se encuentran dentro del intervalo de aceptación (16 al 23%) (Horwitz, 1982).



### **2.1.4 Límites de Detección y Cuantificación**

El límite de detección (LD) es la mínima concentración de un analito que puede ser detectada por el instrumento, pero no necesariamente cuantificada. Mientras que el límite de cuantificación (LC) es la menor concentración de un analito que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables (Eurachem Guide, 1998).

Para el cálculo de estos parámetros se realizaron tres curvas independientes de calibración de la mezcla de OCs y BPCs en Hexano. Las concentraciones empleadas fueron: 0.75, 1.5, 3.0, 5.0 y 15.0 ng/mL, utilizando como estándares internos al Endrin C<sup>13</sup> y al BPC141C<sup>13</sup>. El cálculo para estimar los LD Y LC se realizaron de acuerdo al método descrito por Miller y Miller, (2004). Los valores obtenidos se muestran en la tabla 8.

**Tabla 8. Límites de detección (LD) y cuantificación (LC) para los insecticidas organoclorados y los BPCs.**

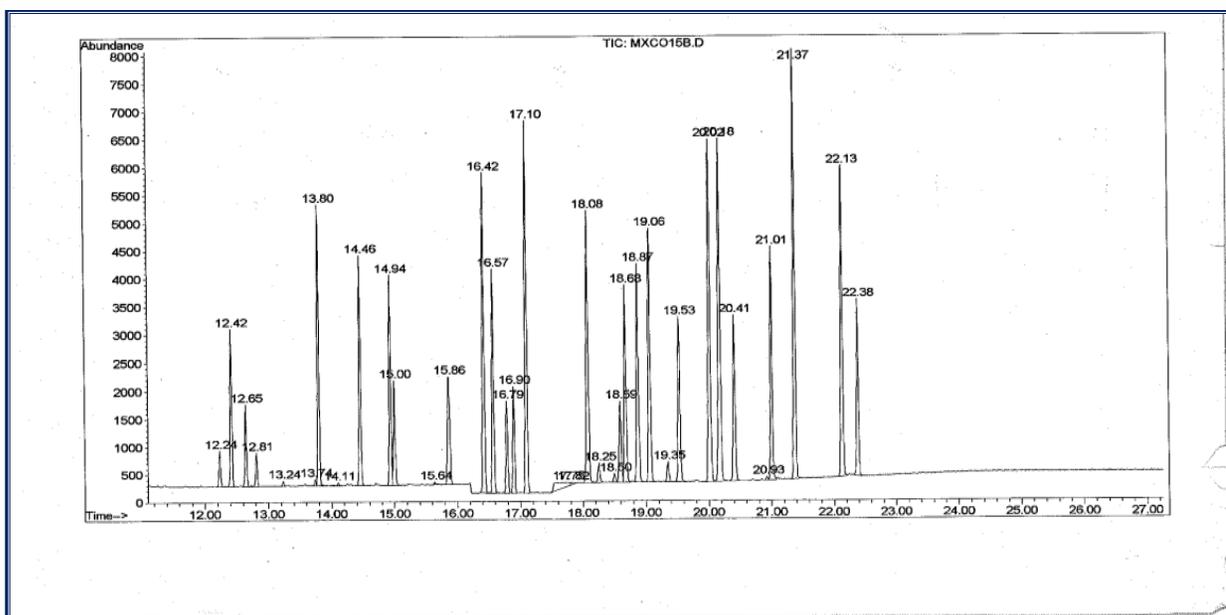
Compuesto	r	LD (ng/mL)	LC (ng/mL)
$\alpha$ HCH	0.992	1.005	2.016
HCB	0.999	0.114	0.279
Lindano	0.993	0.524	1.213
$\beta$ HCH	0.987	1.000	2.069
Aldrin	0.999	0.020	0.058
Heptaclorepóxido	0.995	0.108	0.393
Oxclordano	0.993	1.506	3.018
$\gamma$ Clordano	0.998	1.266	2.220
$\alpha$ Clordano	0.997	0.154	0.347
Trans Nonaclor	0.996	0.152	0.307
DDE	0.999	0.553	1.245
Cis Nonaclor	0.988	0.054	0.225
DDT	0.995	0.549	1.328
Mirex	0.999	1.038	1.794
BPC28	0.997	0.189	0.529
BPC52	0.997	0.263	0.777
BPC44	0.997	0.265	0.784
BPC101	0.998	0.677	1.058
BPC99	0.998	0.324	1.012
BPC118	0.998	0.313	1.016
BPC153	0.999	0.345	1.107
BPC105	0.999	0.372	1.006
BPC138	0.998	0.312	1.138
BPC187	0.999	0.324	1.099
BPC183	0.999	0.335	1.013
BPC128	0.999	0.314	1.1090
BPC156	0.999	0.316	1.086
BPC180	0.999	0.356	1.049
BPC170	0.999	0.317	1.061

r= Coeficiente de correlación, LD= Limite de Detección, LC= Limite de cuantificación. Los valores reportados son el promedio de las curvas de calibración realizadas por triplicado. El cálculo de los parámetros se realizó de acuerdo al método de Miller y Miller (2004). Valores reportados en ng/mL.

### 3.- VALIDACIÓN DEL METODO ANALÍTICO PARA LOS PLAGUICIDAS OCs y LOS BPCs

La validación de un método analítico es un requisito importante en la práctica de los análisis químicos, sobre todo cuando se analizan compuestos químicos en muestras biológicas, debido a que es común el efecto de matriz presentándose interferencias en la cuantificación del analito de interés. Para contrarrestar este efecto de matriz, se emplean diferentes estrategias metodológicas como es el empleo de columnas de sílica gel y/o la construcción de curvas de calibración en la matriz de interés.

Para validar el método analítico, se obtuvo plasma de un donador no expuesto a compuestos organoclorados y BPCs y se analizó bajo el mismo esquema que se describe en el apartado de metodología (página 41). Se determinaron los parámetros de linealidad, repetibilidad, reproducibilidad, porcentaje de recobro, límite de detección y límite de cuantificación, tal y como se describió en el apartado de validación del método instrumental. Para que un método se considere válido debe de cumplir con los criterios establecidos por la EURACHEM y la FDA (Food and Drug Administration, 1981). Estos se desglosan a continuación. En la figura.6 se presenta un cromatograma obtenido de una muestra de plasma fortificada a una concentración de 1 ppm con la mezcla de OCs y BPCs



**Figura 6.** Cromatograma obtenido de una muestra de plasma fortificada (1 ppm) con Compuestos Organoclorados (14 POC y 14 BPCs), Estandar Interno EndrinC<sup>13</sup> (25 ng/mL) y BPC141C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



## **Linealidad**

Se realizaron tres curvas de calibración por triplicado en plasma, de la mezcla de OCs y BPCs. El intervalo de concentración fue de 3 a 75 ng/mL, empleando como estándar interno al Endrín C<sup>13</sup> y al BPC141 C<sup>13</sup> (25 ng/mL). Las muestras se fortificaron con los estándares respectivos 24 horas previas a su análisis. Las muestras se analizaron bajo el mismo esquema descrito en la página 41. En la tabla 9 se presenta el coeficiente de correlación ( $r$ ), la pendiente ( $m$ ) y la ordenada al origen ( $b$ ). Las curvas de calibración obtenidas de algunos compuestos OCs y BPCs se presentan en las figuras 7 y 8.



Tabla 9. Linealidad del método analítico para OCs y BPCs

Compuesto (Insecticida)	r	m	b	Compuesto (BPCs)	r	m	b
$\alpha$ HCH	0.997	0.133	0.188	<b>BPC28</b>	0.998	0.081	0.088
HCB	0.997	0.376	0.431	<b>BPC52</b>	0.998	0.053	0.066
$\gamma$ HCH	0.944	0.303	0.090	<b>BPC44</b>	0.997	0.048	0.064
$\beta$ HCH	0.997	0.114	0.160	<b>BPC101</b>	0.998	0.057	0.127
Aldrín	0.997	0.236	0.080	<b>BPC99</b>	0.998	0.062	0.072
Heptacloroepóxido	0.966	0.244	3.644	<b>BPC118</b>	0.998	0.075	0.045
$\gamma$ Clordano	0.991	0.270	0.294	<b>BPC153</b>	0.998	0.053	0.054
$\alpha$ Clordano	0.990	0.231	0.325	<b>BPC105</b>	0.997	0.069	0.065
Trans-nonaclor	0.990	0.349	0.425	<b>BPC138</b>	0.998	0.047	0.065
DDE	0.996	0.437	0.150	<b>BPC187</b>	0.998	0.041	0.051
Cis-nonaclor	0.986	0.353	1.548	<b>BPC183</b>	0.998	0.042	0.057
DDT	0.991	0.413	0.388	<b>BPC128</b>	0.998	0.043	0.045
Mirex	0.991	0.335	0.561	<b>BPC156</b>	0.998	0.064	0.082
				<b>BPC180</b>	0.998	0.042	0.054
				<b>BPC170</b>	0.998	0.035	0.045

Coefficiente de correlación (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b). Los valores son el promedio de las curvas de calibración de la mezcla de OCs y BPCs en plasma realizadas por triplicado, los intervalos de concentración fueron en el intervalo de 3 a 75 ng/mL. Empleando como estándares internos EndrinC<sup>13</sup> y PCB141C<sup>13</sup> (25 ng/mL).

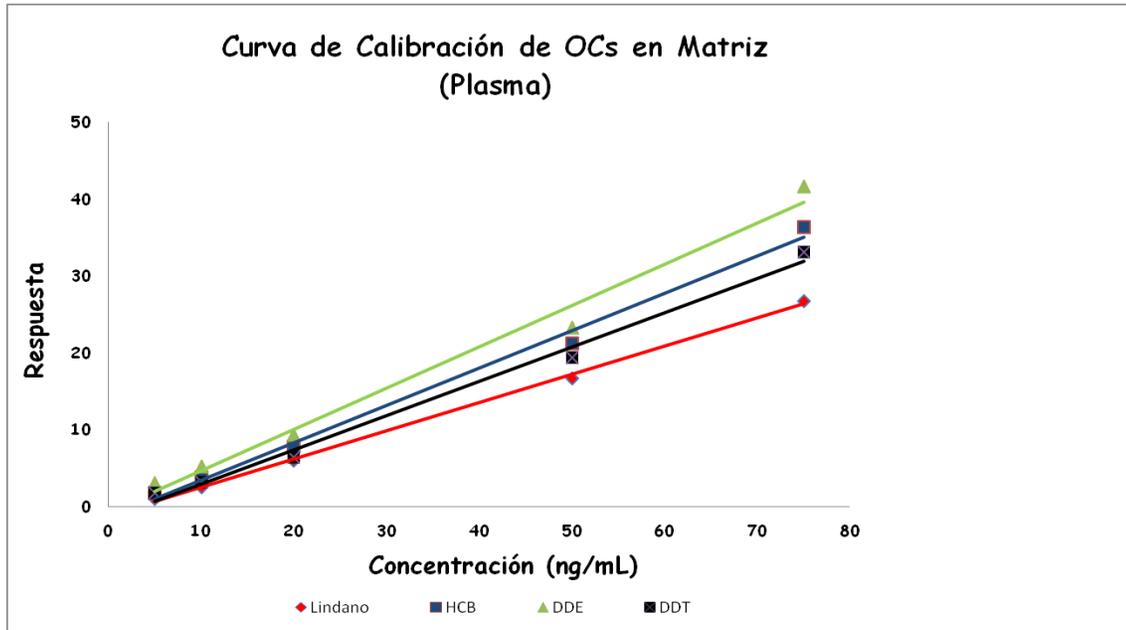


Figura 7. Curva de Calibración de algunos de los insecticidas OCs en plasma. Concentraciones empleadas 3, 5, 10, 20, 50 y 75 ng/mL, estándar interno Endrin C<sup>13</sup> (25 ng/mL). n= triplicado.

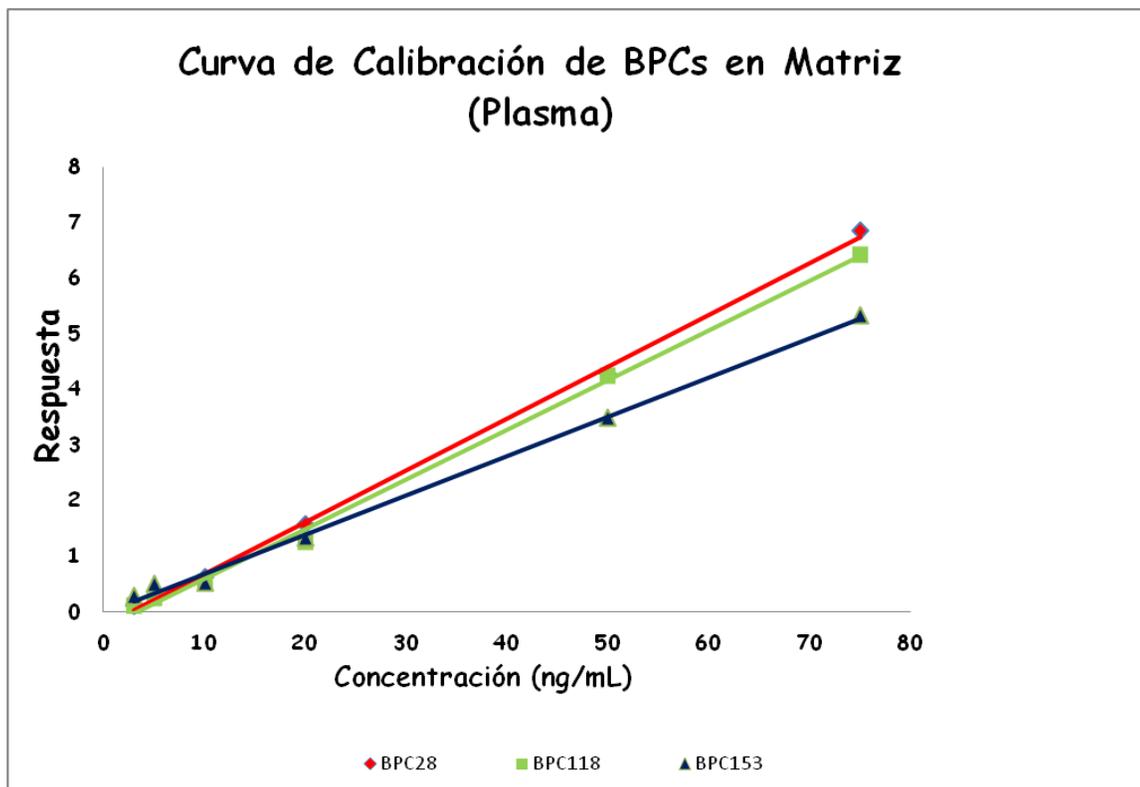


Figura 8 Curva de Calibración de algunos de los BPCs en plasma. Concentraciones empleadas 3, 5 y 10, 20, 50 y 75 ng/mL, estándar interno BPC141 C<sup>13</sup> (25 ng/mL). Promedio de la respuesta obtenida en la curva de calibración realizada por triplicado.



Las curvas de calibración en plasma para los 14 insecticidas OCs y los 14 congéneres BPCs fueron lineales, ya que los coeficientes de correlación obtenidos fueron iguales o mayores a 0.99, en el intervalo de concentración evaluado. Los valores del intercepto para los insecticidas OCs fluctuaron de 0.080 a 3.644 y la pendiente fluctuó de 0.114 a 0.437. Para los congéneres de BPCs los intervalos del intercepto y la pendiente fueron de 0.045 a 0.127 y de 0.035 a 0.081, respectivamente.

### **Precisión**

La precisión de un método analítico se conoce valorando la dispersión entre varias determinaciones de los mismos elementos efectuados sobre la misma muestra y se obtiene por el cociente entre la desviación de las mediciones y el valor medio de éstas expresados en porcentaje (Coeficiente de Variación; CV). (Sabater y Vilumara, 1988; Miller and Miller, 1995) y se puede evaluar en tres niveles: Repetibilidad, Precisión intermedia y Reproducibilidad (CDR, 1994; ICH, 1995).

### **Repetibilidad**

La repetibilidad se determinó mediante el análisis por triplicado de la mezcla de OCs y PCBs en plasma en un intervalo de concentraciones de 3, 5, 10, 20, 50 y 75 ng/mL. Para la realización de este análisis se tomaron 2 mL de plasma en tubos de vidrio de 17 mL con tapón de rosca y se fortificaron con las diferentes concentraciones arriba mencionadas, posteriormente se adicionaron los estándares internos (Endrin C<sup>13</sup> y BPC141C<sup>13</sup>) a una concentración de 25 ng/mL. Se agitó en vórtex por aproximadamente 2 min y se guardaron en refrigeración por lo menos 24 hrs antes de su extracción. El procedimiento de extracción de las muestras fortificadas fue realizado como se describe en el apartado de metodología (página 41) para el análisis de compuestos OCs.

Los resultados de los coeficientes de variación (%CV) para cada uno de los analitos se presentan en las tablas 10 y 11.



Tabla 10. Repetibilidad del método analítico para los insecticidas OCs

Conc. ng/mL	%CV													
	$\alpha$ HCH	HCB	$\gamma$ HCH	$\beta$ HCH	Aldrín	Heptacloro epóxido	Oxiclordano	$\gamma$ Clordano	$\alpha$ Clordano	Trans nonaclor	p'p DDE	Cis- nonaclor	p'p DDT	Mirex
3	14.8	14.7	7.2	8.6	2.2	6.3	7.8	10.8	7.1	7.3	2.7	9.7	6.8	6.1
5	14.5	11.5	10.7	3.9	8.7	9.7	8.1	5.9	9.9	10.6	3.9	9.3	10.3	8.7
10	20.4	17.8	6.7	15.7	2.5	6.12	7.2	9.6	8.1	13.3	4.9	6.7	10.2	8.1
20	5.0	14.6	3.3	7.6	3.5	2.8	3.4	4.9	9.6	10.5	2.6	7.3	9.6	8.7
50	2.4	6.6	5.7	1.5	5.8	7.2	6.7	5.9	10.1	9.0	2.11	6.1	6.5	4.0
75	6.2	16.5	3.8	8.0	5.0	7.5	6.9	5.5	10.1		2.0	6.2	4.2	3.9

%CV= Porcentaje de coeficiente de variación de la respuesta obtenidas en las curvas de calibración realizadas por triplicado. Concentraciones empleadas 3.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, 75.0 ng/mL. Estándar interno Endrín C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



Tabla 11. Repetibilidad del método instrumental para los BPCs

		%CV													
Conc. ng/mL	BPC28	BPC52	BPC44	BPC101	BPC99	BPC118	BPC153	BPC105	BPC138	BPC187	BPC183	BPC128	BPC156	BPC180	BPC170
3	2.2	3.6	3.2	4.0	2.4	3.8	3.6	3.5	1.0	1.3	3.6	3.3	1.6	1.9	1.7
5	1.8	2.8	2.3	3.3	2.3	2.4	3.1	4.8	1.3	2.6	2.3	1.2	1.8	2.0	1.4
10	1.0	2.8	2.5	1.5	2.9	4.3	1.4	6.7	2.5	3.2	1.6	1.8	1.5	1.2	1.2
20	2.0	1.9	1.5	1.4	1.7	3.6	1.0	4.3	1.5	3.6	3.1	2.1	3.0	1.8	1.1
50	2.0	1.7	1.6	1.0	1.3	2.5	1.10	2.1	1.9	3.0	1.0	1.3	3.1	1.0	1.6
75	2.3	1.2	1.8	1.8	1.4	2.0	1.6	1.4	1.6	3.9	2.2	1.0	2.9	3.4	3.8

%CV= Porcentaje de coeficiente de variación de la respuesta obtenidas en las curvas de calibración realizadas por triplicado. Concentraciones empleadas 3.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, 75.0 ng/mL. Estándar interno BPC141 C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



De acuerdo a los resultados obtenidos el porcentaje del coeficiente de variación (%CV), se concluye que el método analítico es repetible ya que los valores obtenidos están dentro del intervalo de aceptación que es del 16 al 23% (Horwitz, 1982).

### **Reproducibilidad**

La reproducibilidad del método analítico, se determinó en función al porcentaje del coeficiente de variación de la pendiente obtenida, después de procesar tres curvas de calibración independientes en plasma fortificado. Para considerar que un método es reproducible, la dispersión del coeficiente de variación de la pendiente debe ser entre 16 y 23% (Horwitz, 1981). Los coeficientes de variación obtenidos se detallan en las tablas 12 y el 13.



Tabla 12. Reproducibilidad del método analítico para los OCs

OCs	Pendiente			Media	% CV
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
$\alpha$ HCH	0.139	0.128	0.128	0.133	4.7
HCB	0.374	0.366	0.371	0.372	1.4
$\gamma$ HCH	0.313	0.285	0.311	0.303	5.2
$\beta$ HCH	0.109	0.121	0.109	0.114	5.8
Aldrín	0.211	0.248	0.248	0.236	9.1
Oxclordano	0.235	0.256	0.249	0.247	4.3
Heptacloroepóxido	0.248	0.247	0.236	0.244	2.7
$\gamma$ Clordano	0.260	0.280	0.267	0.270	3.8
$\alpha$ Clordano	0.228	0.240	0.223	0.231	3.8
Trans-nonaclor	0.317	0.341	0.387	0.349	10.2
DDE	0.437	0.429	0.442	0.437	1.4
Cis-nonaclor	0.349	0.333	0.375	0.353	5.9
DDT	0.416	0.429	0.392	0.413	4.6
Mirex	0.321	0.333	0.351	0.335	4.4

%CV= Porcentaje del coeficiente de variación de la respuesta de las curvas de calibración realizadas por triplicado. Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de OCs en plasma, las concentraciones empleadas fueron: 3, 5, 10, 20 y 75 ng/mL. Estándar interno Endrín C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



Tabla 13. Reproducibilidad del método analítico para los BPCs

BPCs	Pendiente				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	% CV
BPC28	0.0801	0.0823	0.0801	0.081	1.6
BPC52	0.0526	0.0539	0.0526	0.053	1.4
BPC44	0.048	0.049	0.048	0.048	1.2
BPC101	0.0569	0.0583	0.0569	0.057	1.4
BPC99	0.0617	0.0628	0.0617	0.062	1.0
BPC118	0.0796	0.0783	0.0823	0.080	2.5
BPC153	0.0531	0.0515	0.0531	0.053	1.8
BPC105	0.0657	0.0661	0.0757	0.069	8.2
BPC138	0.0471	0.0473	0.0481	0.048	1.1
BPC187	0.0409	0.0398	0.0409	0.041	1.6
BPC183	0.0416	0.0428	0.0417	0.042	1.6
BPC128	0.0427	0.0423	0.0438	0.043	1.8
BPC156	0.0642	0.0636	0.0626	0.063	1.3
BPC180	0.0417	0.0416	0.0429	0.042	1.7
BPC170	0.0352	0.0354	0.0376	0.036	3.7

%CV= Porcentaje del coeficiente de variación de la respuesta obtenida en las curvas de calibración realizadas por triplicado. Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de BPCs en plasma, las concentraciones fueron: 3, 5, 10, 20 y 75 ng/mL. Estándar interno PCB141C<sup>13</sup> (25 ng/mL).

Con los resultados obtenidos de los porcentajes del coeficiente de variación para cada uno de los analitos (%CV) , se concluye que el método analítico es reproducible, ya que los valores se encuentran dentro del intervalo de aceptación (16 al 23%) (Horwitz, 1982).

### Porcentaje de Recobro

Para la determinación de este parámetro se fortificaron por triplicado muestras blanco de plasma con una mezcla de los compuestos organoclorados (OCs y BPCs) en hexano, en niveles de concentración diferentes a los de las curvas de calibración. Las concentraciones utilizadas fueron en el rango de concentraciones bajas (1.5 ng/g); media (15 ng/g) y alta (30 ng/g). Las muestras se agitaron en vórtex por 1 minuto y se dejaron en reposo a 5°C por 24 hrs. El proceso de extracción se realizó tal y como se indica en la sección de metodología de acuerdo al esquema de la pagina 41.



El método de extracción es aceptado si el porcentaje de recobro está entre el 80% y el 120% (Howirtz et al., 1981). En las tablas 14 y 15 se muestran los porcentajes de recobro obtenidos a través del cálculo de la media de los triplicados para cada analito, todos cumplen con el criterio establecido en la literatura.

**Tabla.14. Porcentaje de recobro de muestras de plasma fortificadas con mezcla de insecticidas Organoclorados (OCs).**

Analito	Concentración		
	1.5 ng/mL	15 ng/mL	30 ng/mL
$\alpha$ HCH	90	96	111
HCB	104	105	96
$\gamma$ HCH	116	120	103
$\beta$ HCH	104	92	108
Aldrin	108	94	93
Oxclordano	92	102	116
Heptacloroepóxido	96	107	92
$\gamma$ Clordano	100	109	98
$\alpha$ clordano	88	99	95
Trans-nonaclor	102	99	109
DDE	92	94	114
Cis-Nonaclor	79.6	103	104
DDT	80.8	113	118
Mirex	100	105	115

Los valores son el promedio de las muestras analizadas por triplicado. Concentración baja =1.5 ng/mL, media = 15 ng/mL y alta= 30 ng/mL. Valores aceptables entre el 80% y el 120% (EURACHEM, 2011). Estándar interno Endrin C<sup>13</sup> (25 ng/mL).



Tabla 15. Porcentaje de recobro de muestras de plasma fortificadas con mezcla de BPCs.

Analito	Porcentaje de Recobro		
	1.5 ng/mL	15 ng/mL	30 ng/mL
BPC28	88	97	102
BPC52	90	102	103
BPC44	90	106	108
BPC101	104	101	106
BPC99	116	96	107
BPC118	112	97	107
BPC153	104	97	102
BPC105	111	97	111
BPC138	96	98	103
BPC187	100	98	101
BPC183	96	99	99
BPC128	108	98	101
BPC156	96	97	109
BPC180	100	99	98

Los valores son el promedio de las muestras analizadas por triplicado. Concentración baja =1.5 ng/mL, media = 15 ng/mL y alta= 30 ng/mL. Valores aceptables entre el 80% y el 120%. Estándar interno PCB141 C<sup>13</sup> (25 ng/mL.)



### **Limites de detección y Cuantificación**

El límite de detección (LD) es la mínima concentración de un analito que puede ser detectada por el instrumento, pero no necesariamente cuantificada. El límite de cuantificación (LC) es la menor concentración de un analito que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables (Eurachem Guide, 1998).

Para estos parámetros se realizaron tres curvas independientes de calibración de la mezcla de OCs y BPCs. Las concentraciones empleadas fueron: 0.75, 1.5, 3.0, 5.0 y 15.0 ng/mL, utilizando como estándares internos al Endrin C<sup>13</sup> y al PCB141C<sup>13</sup>. El cálculo para estimar los LD Y LC se realizaron de acuerdo al método descrito por Miller y Miller (2004). Los valores obtenidos se muestran en la tabla 16



Tabla 16. Límites de detección (LD) y cuantificación (LQ) para los insecticidas organoclorados y los BPCs (ng/mL).

Compuesto	r	LD (ng/mL)	LC (ng/mL)
$\alpha$ HCH	0.992	1.405	4.016
HCB	0.999	0.414	1.079
Lindano	0.993	0.724	1.413
$\beta$ HCH	0.987	1.200	1.669
Aldrín	0.999	0.120	0.668
Heptaclorepóxido	0.995	0.508	1.693
Oxiclordano	0.993	2.706	4.018
$\gamma$ Clordano	0.998	2.166	7.220
$\alpha$ Clordano	0.997	0.194	0.647
Trans Nonaclor	0.996	0.182	0.607
DDE	0.999	0.553	1.845
Cis Nonaclor	0.988	0.074	0.248
DDT	0.995	0.549	1.828
Mirex	0.999	1.138	3.794
BPC28	0.997	0.189	0.629
BPC52	0.997	0.263	0.877
BPC44	0.997	0.265	0.884
BPC101	0.998	0.677	2.258
BPC99	0.998	0.324	1.082
BPC118	0.998	0.323	1.076
BPC153	0.999	0.398	1.327
BPC105	0.999	0.392	1.306
BPC138	0.998	0.412	1.374
BPC187	0.999	0.332	1.107
PCB183	0.999	0.365	1.215
BPC128	0.999	0.414	1.380
BPC156	0.999	0.416	1.386
BPC180	0.999	0.379	1.266
BPC170	0.999	0.327	1.091

r= Coeficiente de correlación, LD= Limite de Detección, LC= Limite de cuantificación. Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración.



### Anexo III. PROCEDIMIENTO DESARROLLADO PARA LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LOS METABOLITOS ALQUILFOSFATOS DE LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS.

El procedimiento para la validación del método analítico para la determinación de los alquilfosfatos, es el mismo que se empleó para los plaguicidas OCs y BPCs.

Para la validación del método de extracción, se colectó la primera orina de la mañana de un donador no expuesto a compuestos organofosforados y se fortificó con los diferentes alquilfosfatos (AF) a una concentración de 50 ng/mL, la muestra se procesó bajo el mismo esquema que se describe en la página 43. Se determinaron los parámetros de linealidad, repetibilidad, reproducibilidad, porcentaje de recobro y límites de detección y de cuantificación, tal y como se describió en el apartado de validación del método instrumental (pág. 13). Para que un método se considere validado, debe de cumplir con los criterios establecidos por la EURACHEM y la FDA (1981). Estos se desglosan a continuación.

En la figura 1 se presenta un cromatograma obtenido de una muestra de orina fortificada con una mezcla de los metabolitos alquilfosfatos (AF).

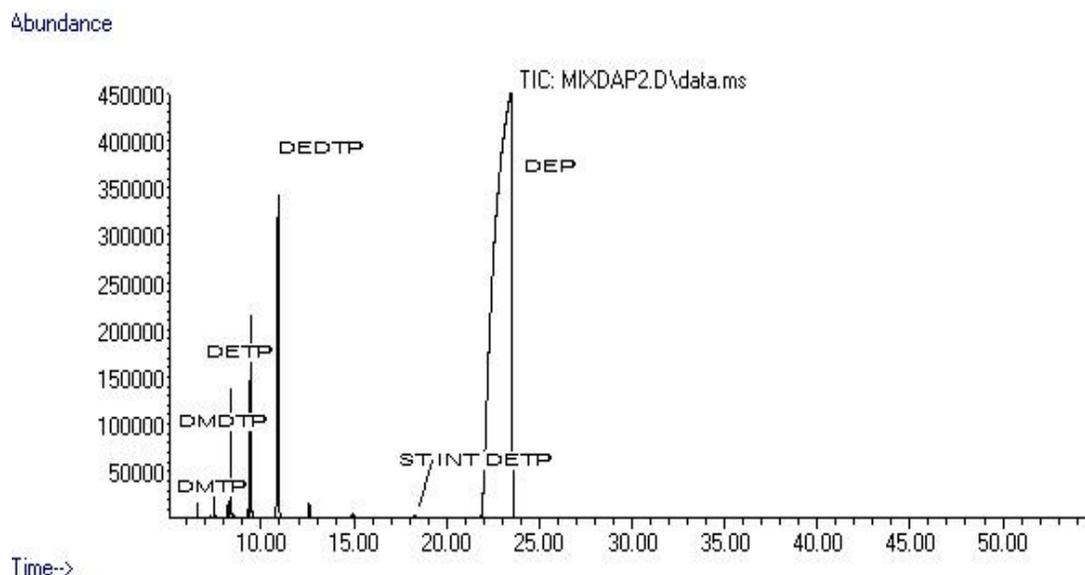


Figura 1. Cromatograma obtenido de una muestra de orina fortificada (50 ng/mL) con los metabolitos alquilfosfatos (AF). Estandar Interno DETP  $d^{10}$



## Linealidad

Se realizaron tres curvas de calibración por triplicado independientes en orina de la mezcla de AF. Se empleo un intervalo de concentración de 2.5 a 50 ng/mL, utilizando como estándar interno al DETPd<sup>10</sup> (25 ng/mL). Las muestras fueron fortificadas, se agitaron en vórtex por un minuto y se guardaron en refrigeración hasta el día siguiente. Las muestras se analizaron bajo el mismo esquema descrito en la página 43. Debido a las diferencias en las respuestas obtenidas en cada uno de los metabolitos, se construyeron las curvas de calibración de cada uno de ellos agrupándolos por grupo metabólico, en el caso del DETP debido a que sus respuestas fueron menores comparadas con las de los otros metabolitos del mismo grupo, se construyó por aparte la curva correspondiente al metabolito DETP. En la siguiente tabla 1 se presentan el coeficiente de correlación (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b). Las curvas de calibración de los metabolitos AF se presentan en las figuras 2, 3 y 4

**Tabla 1. Linealidad del método analítico para los metabolitos Alquilfosfatos (AFs)**

<b>Alquilfosfatos AFs</b>	<b>r</b>	<b>m</b>	<b>b</b>
<b>DEP</b>	<b>0.987</b>	<b>3.622</b>	<b>0.345</b>
<b>DETP</b>	<b>0.991</b>	<b>0.035</b>	<b>-0.113</b>
<b>DEDTP</b>	<b>0.995</b>	<b>4.5318</b>	<b>-0.636</b>
<b>DMTP</b>	<b>0.997</b>	<b>0.1236</b>	<b>-0.126</b>
<b>DMDTP</b>	<b>0.995</b>	<b>0.1433</b>	<b>-0.063</b>

Coeficiente de correlación (r), pendiente (m) y ordenada al origen (b). Los valores son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de los metabolitos AF en orina, los intervalos de concentración fueron de 2.5 a 50 ng/mL. Empleando como estándar interno DETP d<sup>10</sup> (25 ng/mL).

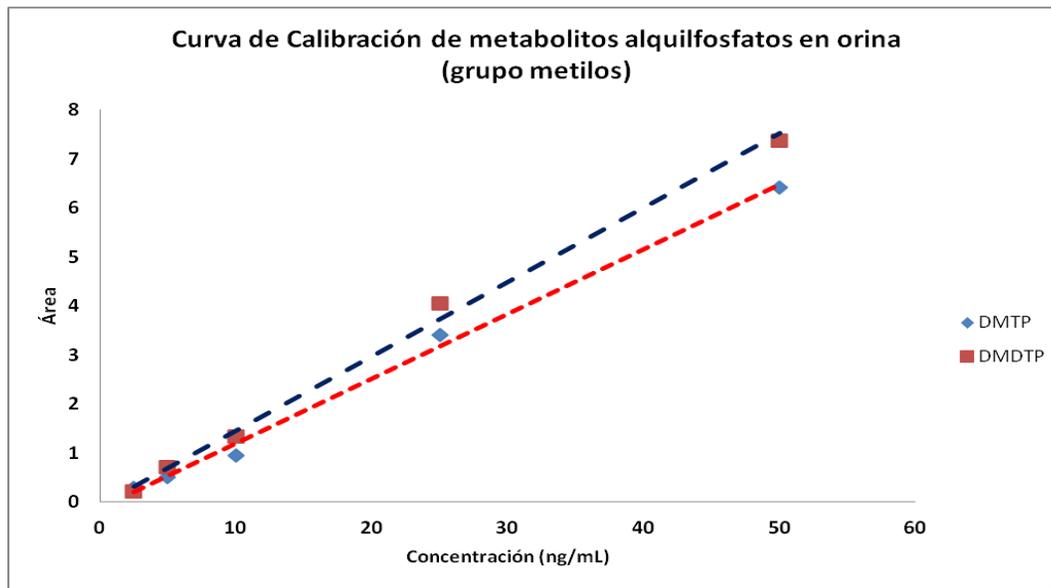


Figura 2. Curva de Calibración de metabolitos alquilfosfatos en orina (grupo metilo). Concentraciones empleadas 2.5, 5, 10, 25 y 50 ng/mL, DMTP= Dimetiltiofosfato DMDTP= Dimetilditiofosfato. Estándar interno DETPd<sup>10</sup> (25 ng/mL). Promedio de las respuestas obtenidas de las curvas de calibración realizadas por triplicado.

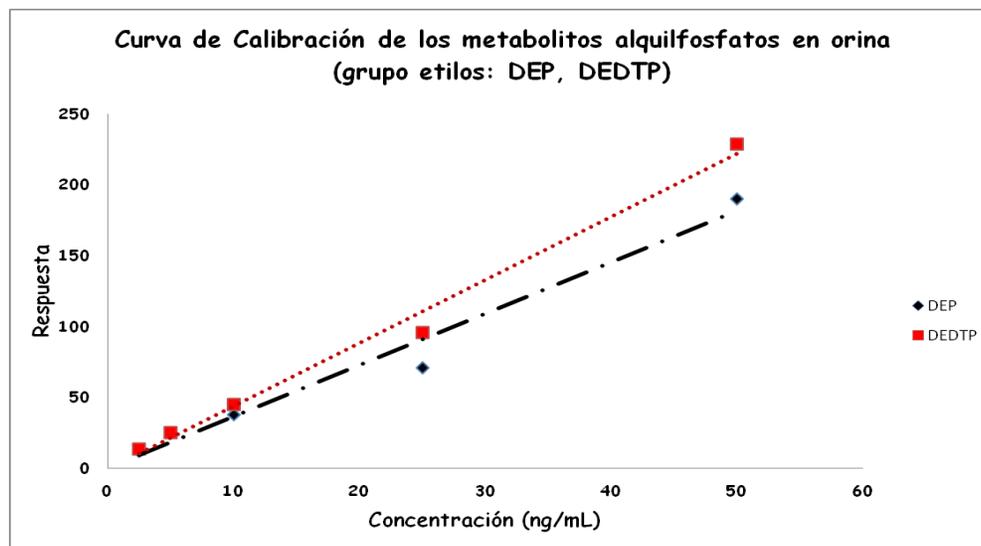
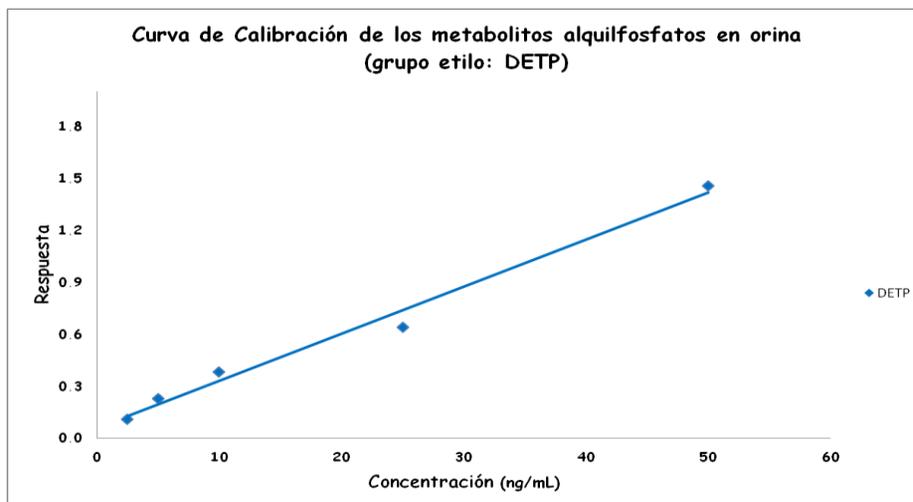


Figura 3. Curva de Calibración de los metabolitos alquilfosfatos en orina (grupo etilo). Concentraciones empleadas 2.5, 5, 10, 25 y 50 ng/mL, DEP= Dietilfosfato, DEDTP= Dietilditiofosfato. Estándar interno DETPd<sup>10</sup> (25 ng/mL). Promedio de las respuestas obtenidas de las curvas de calibración realizadas por triplicado.



**Figura 4.** Curva de Calibración del metabolito alquilfosfatos DETP (Dietiltiofosfato, grupo etilo) en orina. Concentraciones empleadas 2.5, 5, 10, 25 y 50 ng/mL. Promedio de las respuestas obtenidas de las curvas de calibración realizadas por triplicado.

Las curvas de calibración en orina para los 5 metabolitos alquilfosfatos fueron lineales ya que los coeficientes de correlación obtenidos fueron iguales o mayores a 0.99. Los valores del intercepto los metabolitos con grupo metilo fluctuaron de -0.124 a -0.063 y la pendiente varió de 0.123 a 0.143. Para los que contienen un grupo etilo los valores del intercepto y la pendiente fueron de -0.636 a 0.345 y 0.035 a 4.531, respectivamente.

### **Precisión**

La precisión de un método analítico se establece valorando la dispersión entre varias determinaciones de los mismos elementos efectuados sobre la misma muestra y se obtiene por el cociente entre la desviación de las mediciones y el valor medio de éstas, expresados en porcentaje (Coeficiente de Variación; CV). (Sabater y Vilumara, 1988; Miller y Miller, 1995) y se puede evaluar en tres niveles: Repetibilidad, Precisión intermedia y Reproducibilidad (CDR, 1994; ICH, 1995).

### **Repetibilidad**

La repetibilidad se determinó mediante el análisis por triplicado de la mezcla de alquilfosfatos en orina en un intervalo de concentración de 2.5 a 50 ng/mL. Para la realización de este análisis se tomaron



0.5mL de orina en tubos de vidrio de 17 mL con tapón de rosca y se fortificaron con las diferentes concentraciones arriba mencionadas, posteriormente se les agregó el estándar interno (DETPd<sup>10</sup>) a una concentración de 25 ng/mL. Se agitó en vórtex por aproximadamente 2 min y se guardaron en refrigeración y cubiertos con papel aluminio para protegerlos de la luz, por lo menos 24 hrs antes de su extracción. El procedimiento de extracción de las muestras fortificadas fue realizado como se describe en el apartado de metodología para el análisis de los metabolitos AF. Los resultados de los coeficientes de variación (%CV) para cada uno de los analitos se presentan en la tabla 2.

**Tabla 2. Repetibilidad del método analítico para los metabolitos AFs**

% CV					
Conc. ng/mL	DEP	DETP	DEDTP	DMTP	DMDTP
2.5	4.4	6.9	6.5	7.6	9.0
5	2.4	8.7	5.1	9.7	3.2
10	2.4	16.7	3.7	11.1	6.3
25	3.2	7.6	6.0	17.8	10.1
50	1.2	5.8	2.7	9.3	6.8

%CV= Porcentaje del coeficiente de variación de la respuesta de tres replicas. Concentraciones empleadas 2.5, 5, 10, 25 y 50 ng/mL DEP= Dietilfosfato; DETP= Dietiltiofosfato, DEDTP= Dietilditiofosfato, DMTP= Dimetiltiofosfato DMDTP= Dimetilditiofosfato, Estándar interno DETPd<sup>10</sup> (25 ng/mL).

De acuerdo a los resultados obtenidos en relación al porcentaje del coeficiente de variación (%CV), se concluye que el método analítico es repetible ya que los valores obtenidos del CV están dentro del intervalo de aceptación que es del 16 al 23% (Horwitz, 1982).



## Reproducibilidad

La reproducibilidad del método analítico, se determinó en función al porcentaje del coeficiente de variación de la pendiente obtenida después de procesar tres curvas de calibración por triplicado en orina fortificada. Para considerar que un método es reproducible la dispersión del coeficiente de variación de la pendiente debe de ser el entre 16 y el 23% (Horwitz, 1981). Los coeficientes de variación obtenidos se detallan en las tablas 3.

**Tabla 3. Reproducibilidad del método analítico para la cuantificación de los metabolitos AF**

Metabolitos	Pendiente				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	% CV
DEP	3.5584	3.6788	3.6302	3.622	1.672
DETP	0.0339	0.0362	0.0339	0.035	3.830
DEDTP	4.2655	4.5776	4.5318	4.456	3.780
DMTP	0.1236	0.1492	0.1236	0.132	11.186
DMDTP	0.1504	0.1611	0.1433	0.151	5.911

%CV= Porcentaje del coeficiente de variación de la respuesta de tres replicas. Los valores reportados son el promedio de tres curvas de calibración de la mezcla de los metabolitos AF en orina, las concentraciones empleadas son: 2.5, 5, 10, 25 y 50 ng/mL. DEP= Dietilfosfato; DETP= Dietilfosfato, DEDTP= Dietilditiofosfato, DMTP= Dimetilfosfato DMDTP= Dimetilditiofosfato. Estándar interno DETPd<sup>10</sup> (25 ng/mL).

De acuerdo a los resultados obtenidos de los porcentajes del coeficiente de variación para cada uno de los analitos, se concluye que el método analítico es reproducible ya que los valores estimados del % de CV están dentro del intervalo de aceptación (16 al 23%) (Horwitz, 1982).

## Porcentaje de Recobro

Para la determinación de este parámetro se fortificaron por triplicado muestras de orina blanco, adicionándole la mezcla de los metabolitos alquilfosfatos en hexano, en niveles de concentración diferentes a los de las curvas de calibración. Las concentraciones utilizadas fueron de 1.5 ng/mL



(concentración baja) y de 40 ng/mL (concentración alta). Las muestras se agitaron en vórtex por 1 minuto y se dejaron en reposo y tapadas con papel aluminio para protegerlos de la luz a 5°C por 24 hrs. El proceso de extracción se realizó tal y como se indica en la sección de metodología de acuerdo al esquema de la pagina 43. El método de extracción es aceptado si el porcentaje de recobro está entre el 80% y el 120% (Howirtz et al., 1981). En la tabla.4 se muestran los porcentajes de recobro obtenidos a través del cálculo de la media de los triplicados para cada analito, todos cumplen con el criterio establecido en la literatura (porcentaje de recobro del 80 al 120%)

**Tabla.4. Porcentaje de recobro de muestras de orina fortificadas con mezcla de los metabolitos AFs**

Metabolito	Porcentaje de Recobro	
	1.5 ng/mL	40 ng/mL
DEP	83.66	96.0
DETP	90.0	105
DEDTP	104.0	105.0
DMTP	120.0	92
DMDTP	88.5	94

Los valores son el promedio de las tres réplicas. Concentración baja =1 ng/g y alta= 40 ng/g. Valores aceptables entre el 80% y el 120%.

### Limites de Detección y Cuantificación

El límite de detección (LD) es la mínima concentración de un analito que puede ser detectada por el instrumento, pero no necesariamente cuantificada. El límite de cuantificación (LC) es la menor concentración de un analito que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables (Eurachem Guide, 2011).



Para estimar estos parámetros se realizaron tres curvas de calibración de la mezcla de los metabolitos AF en Hexano por triplicado. Las concentraciones empleadas fueron: 0.5, 1.25, 2.5 y 5.0 ng/mL, utilizando como estándar interno al DETPd<sup>10</sup>. El cálculo para estimar los LD Y LC se realizó de acuerdo al método descrito por Miller y Miller (2004). Los valores obtenidos se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5. Límites de detección (LD) y cuantificación (LQ) para los metabolitos AF en orina.**

Compuesto	r	LD (ng/mL)	LC (ng/mL)
DEP	0.989	0.5	1.6
DETP	0.991	0.6	1.02
DEDTP	0.996	1.0	3.0
DMTP	0.998	0.7	1.0
DMDTP	0.995	0.7	1.5

r= Coeficiente de correlación, LD= Límite de Detección, LC= Límite de cuantificación. Los valores reportados son el promedio de curvas de calibración realizadas por triplicado. Concentración empleadas: 0.5, 1.25, 2.5 y 5.0 ng/mL. DEP= Dietilfosfato; DETP= Dietiltiofosfato, DEDTP= Dietilditiofosfato, DMTP= Dimetiltiofosfato DMDTP= Dimetilditiofosfato. Estándar interno DETPd<sup>10</sup> (25 ng/mL).



## **ANEXO IV**

### **PRUEBAS NEUROPSICOLÓGICAS APLICADAS**



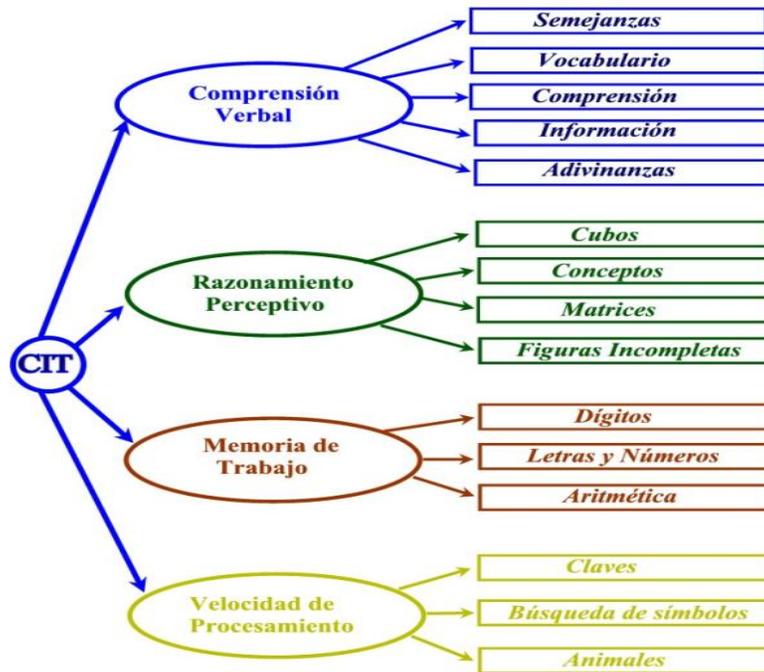
#### 4.1. ESCALA WECHSLER DE INTELIGENCIA PARA NIÑOS (WISC-IV)

Es un instrumento clínico de aplicación individual, para evaluar la inteligencia en niños. Proporciona cinco puntuaciones compuestas a partir de la ejecución de 10 pruebas principales y 5 optativas, proporcionando un CI total para representar la capacidad cognoscitiva general del niño y cuatro puntajes adicionales para representar el desempeño del niño en dominios independientes del funcionamiento cognoscitivo Índice de Comprensión verbal, Índice de Razonamiento perceptual, Índice de Memoria de trabajo e Índice de Velocidad de procesamiento.

WISC-IV conserva 10 subpruebas de WISC-III: Diseño con cubos, Semejanzas, Retención de Dígitos, Claves, Vocabulario, Comprensión, Búsqueda de símbolos, Figuras incompletas, Información y Aritmética y 5 subpruebas nuevas: Conceptos con dibujos, Sucesión de números y letras, Matrices, Razonamiento con pistas y Registros. El contenido y materiales de la prueba han sido actualizados y modernizados constituyendo la primera de las Escalas Wechsler estandarizada a nivel nacional en el territorio mexicano por lo que cuenta con las normas acordes a la población (Manual Moderno).

La aplicación de esta prueba requiere aproximadamente de 65 a 80 minutos para la mayoría de los niños. Para ello se le proporcionó al niño un ambiente confortable, en una habitación silenciosa y bien iluminada, libre de distracciones e interrupciones, reduciendo al mínimo las distracciones externas, con una silla y escritorio cómodo, para enfocar la atención del niño sobre las tareas presentada, en nuestro estudio se utilizó en algunas escuelas la biblioteca o la oficina del director.

La prueba fue aplicada por Psicólogos, los cuales fueron entrenados y estandarizados previamente, siguiendo las instrucciones referidas en el Manual del WISC IV.



**Protocolo de registro**

Perfil de puntuaciones escalares de subpruebas

Subprueba	Comprehension verbal			Razonamiento perceptivo			Memoria de trabajo			Velocidad de procesamiento		
	CI	VI	PI	CI	VI	PI	CI	VI	PI	CI	VI	PI
01	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
02	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
03	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
04	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
05	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
06	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
07	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
08	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
09	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
10	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
11	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
12	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
13	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
14	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
15	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
16	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
17	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
18	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
19	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
20	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
21	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
22	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
23	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
24	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
25	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
26	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
27	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
28	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
29	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
30	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

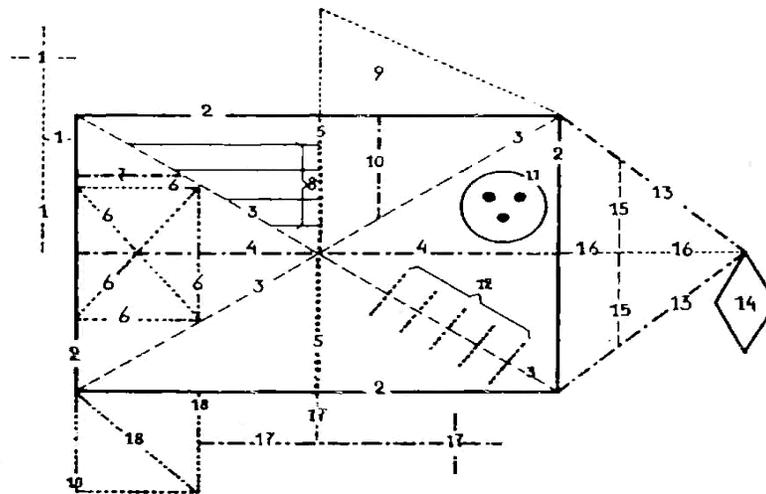
Perfil de puntuaciones compuestas

	CV	RP	MT	VP	CI
140					
130					
120					
110					
100					
90					
80					
70					
60					
50					
40					

Estructura y formato de registro del WISC-IV

## 4.2 FIGURA COMPLEJA DE REY OSTERRIETH

La figura compleja de Rey es un instrumento utilizado por los investigadores y los Psicólogos Clínicos para evaluar el funcionamiento neuropsicológico. Es un estímulo compuesto de 18 unidades perceptuales organizadas alrededor de un rectángulo de base, dividido en 8 segmentos iguales por una línea horizontal y otra vertical, intersectadas por dos líneas diagonales, incluyendo una gran variedad de estímulos internos y externos (Rey A, 1999; Galindo et al., 1996).



### Aplicación de la Prueba

El procedimiento a seguir consistió en pedirle al niño que realizará dos tipo de tareas: en primer lugar, debe de copiar, con el modelo a la vista, la figura que se le presenta (fase de copia). Transcurrido cinco minutos se le dio la indicación de reproducir la figura sin tenerla a la vista y sin recibir ayuda verbal que le permitiera identificar la forma (fase de memoria o reproducción). Ambas tareas se califican por separado aplicando los criterios específicos para cada caso.

A cada niño se le proporcionó una hoja blanca de papel bond tamaño carta y cinco colores y se le dieron las siguientes indicaciones:



*“Toma esta hoja y colócala (o ponla) en la forma que acostumbras para dibujar, una vez que la hayas colocado no podrás moverla, (cuidando siempre que la conserve en forma horizontal). Aquí tenemos un dibujo y tu tarea consiste en copiarlo en la hoja que te he entregado y utilizando los cinco colores. No es necesario que la copia sea exacta pero, has tu mejor esfuerzo y pon mucha atención a las proporciones y sobre todo no olvidar ningún detalle. No hace falta que lo hagas demasiado rápido y recuerda debes de utilizar los cinco colores”.*

Al iniciar a dibujar se pone en marcha el cronometro registrando el tiempo de inicio y de termino del proceso de copia.

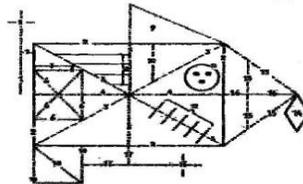
Pasado cinco minutos, se le dio inicio a la segunda parte de la prueba que consistió en reproducir de memoria la figura copiada. Se le proporcionó nuevamente al niño una hoja blanca tamaño carta dándole las mismas indicaciones sobre la colocación de la hoja que en la fase de copia. *“En esta hoja, quiero que dibujes todo lo que recuerdas sobre la figura que acabas de copiar y recuerda utilizar los cinco colores”.* Al iniciar a dibujar se pone en marcha el cronometro registrando el tiempo de inicio y de termino del proceso de memoria. Posteriormente todas las aplicaciones fueron calificadas e interpretadas de acuerdo a los estándares psicométricos y cualitativos mexicanos (Castro et al., 1999; Galindo et al., 1996).



FIGURA COMPLEJA DE REY.

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Manualidad: \_\_\_\_\_  
Escolaridad: \_\_\_\_\_ Tipo De Figura: I II III IV V VI VII

	COLOR	ROTACION	UBICACION	REPETICION	DISTORSION	ANGULACION DEFICIENTE	REPASO	TAMAÑO	OMISION	PUNTAJE	ADICION DE DETALLES	SUSTITUCION DE UNO DE LOS ELEMENTOS DE LA FIGURA	CONSERVACION	CONTAMINACION
1	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				MEMORIA
2										0.5 1.2 1.2				
3										0.5 1.2 1.2				
4										0.5 1.2 1.2				
5										0.5 1.2 1.2				
6	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				TIPO DE EJECUCION <input type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> M
7	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				TIEMPO DE EJECUCION <input type="text"/>
8	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				FECHA DE APLICACION <input type="text"/>
9	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				PUNTAJE TOTAL <input type="text"/>
10	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				
11	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				
12	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				
13	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				
14	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				
15	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				
16	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				
17	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				
18	45 90 180	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	A B C	0.5 1.2 1.2				
Num Colores	14	18	12	18	9	18	18	18		Proporción de error				
TAMANO Fm. COMPLETA	45	90	180							ROTACION Fm. COMPLETA <input type="checkbox"/> 45 <input type="checkbox"/> 90 <input type="checkbox"/> 180				



FoFormato de registro de calificación de la prueba Figura Compleja de Rey Osterrieth

### 4.3 TABLERO DE CLAVIJAS Y RANURAS (GROOVED PEGBOARD)



Es un test de destreza manipulativa que consiste en una superficie de 25 orificios con posiciones orientadas aleatoriamente. Esta prueba se origina de la batería de pruebas psicológicas de la Purdue Research Foundation. Requiere coordinación motora-visual compleja. La prueba se realiza en un tiempo definido.

#### **Descripción de la prueba:**

El niño tiene que sacar clavijas de un recipiente y colocarlas en los orificios que se encuentran en la tabla, lo más rápido que pueda. Las clavijas están diseñadas de forma particular y deben ser giradas para ser colocadas correctamente en los orificios. La prueba se hace primero con la mano dominante y posteriormente con la mano no dominante. Se anota el tiempo requerido por el participante para completar la prueba.

**Instrucciones:** A cada uno de los niños participantes en el estudio se les dio la siguiente instrucción para realizar esta prueba, con el tablero frente al niño se les indicó:

*“Esta es una prueba para conocer que tan rápido y preciso eres para trabajar con tus manos (se realizó la demostración mientras se daba la explicación): Recoge una clavija a la vez primero con tu mano con la que escribes (mano dominante) y colócala iniciando desde el extremo superior, colocando una clavija a la vez en la fila que correspondiente a la mano dominante. Se hizo una demostración con unas cuantas clavijas, en seguida se le indicó al niño que podía realizar una práctica. Si durante la prueba se te cae una de las clavijas no te detengas a recogerla, toma otra clavija del recipiente y colocalá donde*



*corresponda. Detenerlo y retira las clavijas del tablero, vamos a iniciar la prueba, cuando yo te diga “comienza”, vas a tratar de colocar la mayor cantidad de clavijas que puedas en la fila correspondiente a tu mano con la que escribes (derecha o izquierda), iniciando en el orificio superior. Trata de hacerlo lo más rápido que puedas, hasta que yo te diga Detente. Estas listo! Vamos a iniciar.*

En la hoja de registro se anota el número de clavijas que fueron colocadas correctamente así como el número de clavijas que se cayeron.

### **Calificación**

Para cada mano el número de clavijas colocadas y el número de clavijas caídas. Registro del tiempo de ejecución en segundos.



## Anexo V. CÁLCULO DEL VALOR $z$

**Puntuación  $z$**  también conocido como puntuación estándar, es el método de cálculo de cuántas desviaciones estándar en un conjunto de datos está por encima o por debajo de la media. La distancia entre la media y una puntuación  $z$  dada en cada distribución normal corta una proporción de la superficie total por debajo de la curva. Puntuaciones  $z$  son particularmente informativos cuando la distribución a las que se refieren es normal. El estándar de calificación de transformación es útil, en particular cuando tratando de comparar las posiciones relativas de elementos de distribuciones con diferentes medias y con diferentes desviaciones estándar

La puntuación estándar puede calcularse mediante la fórmula siguiente

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma}$$

Donde

$x$  es una puntuación cruda para ser normalizado

$\mu$  es la media de la población

$\sigma$  es la desviación estándar de la población