

Estimación de la exposición de ganado lechero a plaguicidas organofosforados por la concentración de butirilcolinesterasa

Guadalupe Prado Flores,¹ Mayorga Reyes Lino,²
Alejandro Alberto Azaola Espinosa ² y Arturo César García Casillas³

Resumen. *La producción lechera emplea plaguicidas organofosforados (POF) para controlar vectores de patologías y aumentar la productividad; por tanto, la leche puede contener residuos lesivos a la salud. Con el objeto de estimar la exposición del ganado a POF totales se empleó un método espectrofotométrico para determinar la concentración de butirilcolinesterasa (BChE) en suero sanguíneo, debido a que los POF inhiben la acción de la enzima. Se seleccionaron 84 vacas Holstein distribuidas en grupos de alta producción, baja producción, secas y becerras. La concentración media encontrada de BChE (437.10 ± 53.59 U/L) es consistente con los valores reportados por la literatura internacional. El grupo de alta producción mostró la menor concentración (366.46 ± 26.84 U/L), que sugiere una posible exposición a POF en el alimento y su manejo. El valor de BChE*

¹ Profesor Investigador, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana, Red Temática de Colaboración Académica: Producción, Calidad, e Inocuidad de la Leche de Vaca, Prodep. e-mail: gprado@correo.xoc.uam.mx

² Profesor Investigador, Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Red Temática de Colaboración Académica: Producción, Calidad, e Inocuidad de la Leche de Vaca, Prodep.

³ Estudiante Becario, Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma Metropolitana, Red Temática de Colaboración Académica: Producción, Calidad, e Inocuidad de la Leche de Vaca, Prodep, e-mail: cesargarciasillas@hotmail.com

fue similar entre vacas de baja producción y becerras. Las vacas secas mostraron la mayor concentración (501.81 ± 27.25 U/L), que significa menor exposición a POF. Los intervalos de confianza calculados podrían utilizarse a nivel hato para detectar situaciones de alerta cuando en al menos 5% de las vacas en la muestra se sitúen fuera de la referencia.

Palabras clave: Plaguicidas organofosforados, butirilcolinesterasa, vacas lecheras

Abstract. *Dairy production used organophosphorus pesticides (OPs) to control vectors of diseases and increase productivity; therefore, the milk can contain residues that are harmful to health. In order to estimate the exposure of livestock to total OPs, the concentration butyrylcholinesterase (BChE) in blood serum were quantified, because the OPs inhibit the action of the enzyme. 84 Holstein cows classified as high-producers, low-producers, dry cows, and dairy calves were selected. The concentration of BChE (437.10 ± 53.59 U/L) is consistent with values reported by international literature. The high-producers group showed the lowest concentration (366.46 ± 26.84 U/L), suggesting a possible exposure to OPs in food and management. The value of BChE was similar between low-producers and dairy calves. Dry cows showed the highest concentration (501.81 ± 27.25 U/L), which means less exposure to OPs. Calculated confidence intervals could be used at herd level, to detect alert situations when at least 5% of the cows in the sample were outside the reference.*

Keywords: *Organophosphorus pesticides, butyrylcholinesterase, dairy cows*

INTRODUCCIÓN

En el siglo xx se ha sintetizado, distribuido y aplicado una gran diversidad de productos en el mundo; entre ellos se registran los plaguicidas organofosforados (POF) (King y Aaron, 2015). Estos agroquímicos se in-

rodujeron en la década de 1940 y 1950 para el control de insectos y se convirtieron rápidamente en los plaguicidas más utilizados y vendidos en todo el mundo (Chowdhary *et al.*, 2014). Son derivados del ácido fosfórico, se clasifican en catorce grupos; entre los más frecuentes están los O-fosforotioatos, los S-fosforoditioatos, los fosforoamidatos y los fosfonatos. La mayoría son apolares y no volátiles, son poco persistentes y tienen diferentes mecanismos de acción: los oxones son más activos y rápidos en su hidrólisis y los tiones penetran más fácilmente las membranas celulares (Obiols, 1999). La acción principal de los POF es que inhiben la acción de la acetilcolinesterasa, perturbando la transmisión del impulso nervioso (López-Carrillo y López-Cervantes, 1993), por lo que se consideran tóxicos según el grado de exposición y concentración de sus formulaciones.

Aun con sus beneficios inmediatos al ser usados como insecticidas, fungicidas y herbicidas, es necesario mencionar que la exposición excesiva y su manejo incorrecto ocasiona daños genéticos y metabólicos (Karami-Mohajeri y Abdollahi, 2013; Pereira *et al.*, 2014). La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC), en el año 2015, clasificó al herbicida glifosato como posible carcinogénico en humanos en el grupo 2A. Hay investigaciones que los han vinculado con procesos de teratogénesis, mutagénesis y esterilidad en los animales, mientras que otras evidencias asocian su exposición o su residualidad con trastornos a nivel reproductivo, inmunológico y neurológico. Entre estos últimos daños se encuentran la neurotoxicidad crónica, polineuropatía retardada o el síndrome colinérgico agudo (Kakenyik, 2000; Rozengart, 2012; Carey *et al.*, 2013; Colovic *et al.*, 2013). Venerosi *et al.* (2015) mostraron que en ratones hubo una relación entre la exposición a clorpirifós y el retraso de la condición psicomotora y la maduración cognitiva, lo que afectó su conducta social. Además, encontraron un efecto endocrino que interfirió con el desarrollo.

El glifosato o N-fosfometilglicina es un herbicida que se aplica en 90% de cultivos transgénicos, se le considera ubicuo ya que su pre-

sencia se ha registrado en medios líquidos y sólidos, abióticos y bióticos. Morales (2015) informa de su presencia en frambuesa, fresa, lechuga y zanahoria en el estado de Veracruz, México. Inhibe la 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato sintetasa y reduce la producción de proteína (Coullery *et al.*, 2016). Greim *et al.* (2015) documentan su acción carcinogénica en diferentes órganos por exposiciones crónicas a las que se encuentran sometidas poblaciones humanas por cercanía a sitios de aspersión masiva o condiciones de trabajo.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación para los plaguicidas basada en su peligrosidad o grado de toxicidad, medida a través de la dosis letal media (DL_{50}), definida como la cantidad de una sustancia que al ser suministrada en animales de experimentación, mata 50% de esa población. Según esta descripción se establecieron cuatro categorías: 1) ≤ 5 mg/kg de peso corporal (banda roja); 2) 5-50 mg/kg de peso corporal (banda amarilla); 3) 50-500 mg/kg de peso corporal (banda azul), y 4) 500-5000 mg/kg de peso corporal (banda verde) (Rozengart, 2012; King y Aaron, 2015). No obstante, en México se utilizan al menos 12 POF prohibidos, por ejemplo paratión y malatión (Chowdhary *et al.*, 2014), y entre los restringidos (Icamex, 2016) a escala internacional se encuentran clorpirifós y diclorvos. En los años 2008 y 2009 la Food and Drug Administration (FDA) detuvo la entrada de 88 productos agrícolas no procesados de origen mexicano, ya que la Environmental Protection Agency (EPA) reportó que las frutas y los vegetales mexicanos representaron 42.9% de sus casos con residuos excesivos de plaguicidas. Este hecho ocasionó la “Estrategia federal para el fortalecimiento de los sistemas de reducción de riesgo de contaminación en la producción primaria de vegetales”, por parte de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa), y la publicación en el Diario Oficial de la Federación del proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-000-SAG-FITO/SSA1-2013. Dicha norma tiene por objetivo revisar los lineamientos técnicos y procedimientos para la autorización de límites máximos de residuos (LMR) de

plaguicidas químicos de uso agrícola (Milenio, 2014). La Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) señaló que en México se aplicaron 35 000 t de POF en el año 2012 (Ortiz *et al.*, 2013).

Las cadenas tróficas transportan los contaminantes en los medios bióticos y abióticos. Sus residuos pueden encontrarse en vegetales, alimentos lácteos, huevo y carne, en secreciones animales como leche, orina, semen y sangre; en órganos como hígado y riñón y en tejido hemático, nervioso y adiposo. Hay registros de presencia de diazinón, metamidofos, clorpirifós, paratión, ometoate y metomilo en chile, tomate, calabaza, pepino, melón y sandía en Yucatán, México. Entre 16 y 27% de estos plaguicidas son de alta toxicidad y los horticultores expuestos se estiman entre 55-96% (Alvarado y González, 2007).

Pérez *et al.* (2009) estudiaron la presencia de POF en muestras de brócoli (*Brassica oleracea*) en Mixquic, México. Reportaron residuos de malatión en 65% de las muestras, cuya media superó los límites establecidos por EPA; el diazinón estuvo presente en 56 % de las muestras y su media estuvo arriba de las normas de La Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (Cicoplafest), FAO y EPA. Clorfevinfos se encontró en 35% de las muestras de estudio y superó cien veces la norma de la EPA. Las muestras de jitomate colombiano (60%) mostraron presencia de dimetoato abajo del valor establecido por el *Codex Alimentarius* en su versión 2004, que corresponde a 1 mg/kg. Asimismo, estimaron clorfevinfos y metilparatión en concentraciones entre 0.01 y 0.02 mg/kg, también abajo de la norma (Castro *et al.*, 2004). Al respecto, Santa Eufemia *et al.* (2006) estudiaron la presencia de POF y triazinas en leche de origen español y reportaron concentraciones en su límite de detección: hallaron para diazinón 0.004 mg/kg, diclorvos 0.005 mg/kg, fentión 0.009 mg/kg, fenitrotión 0.004 mg/kg, metil paratión 0.003 mg/kg y paratión 0.001 mg/kg.

Por esta razón, es necesaria la elaboración de nuevos estudios que cuantifiquen la posible presencia de POF, tanto en alimentos lácteos,

como en los animales de los cuales provienen, es decir, bovinos, ovinos y caprinos (Ko *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2014; Shaker y Elsharkawy, 2015).

México ha centrado su interés en la cuantificación de los plaguicidas organoclorados por su elevada persistencia, sin embargo, las aplicaciones abundantes de los POF y su presencia en alimentos de origen vegetal y animal abren la necesidad de cuantificar su presencia en la leche y derivados.

En este sentido, la actividad de la butirilcolinesterasa (BChE) en el suero sanguíneo está catalogada a nivel mundial como una prueba sensitiva de la exposición a POF, debido a que estos compuestos inhiben la acción de la enzima (Casida y Durkin, 2013). Esta unión reprime la acción hidrolítica de la butirilcolinesterasa sobre el neurotransmisor de butirilcolina, ocasionando una activación excesiva (Colovic *et al.*, 2013), que impide la transmisión del impulso nervioso (Dhull *et al.*, 2013). Por esta razón, y con el objeto de estimar la exposición del ganado a POF totales, se determinó la concentración de BChE en el suero sanguíneo de vacas Holstein en establos tecnificados del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, Hidalgo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área y animales del estudio

El estudio se llevó a cabo durante el período comprendido entre el 1 de noviembre del año 2015 y el 30 de abril del año 2016, con 84 vacas pertenecientes a tres establos lecheros con sistemas de producción intensivos. Todos los establos se encontraban localizados en el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, Hidalgo, a una altitud de 2,260 m sobre el nivel del mar, con clima subhúmedo (Köppen Cfb) (Peel *et al.*, 2007), una temperatura promedio de 15 °C y una precipitación pluvial de 620 mm/año. De acuerdo a la metodología propuesta y descrita por Payne *et al.*

(1974), en el perfil metabólico Compton de cada establo se seleccionaron 28 vacas Holstein clínicamente sanas, distribuidas en cuatro grupos de producción: a) siete vacas de alta producción (42 ± 15 d después del parto y producción de leche 34.96 ± 1.69 kg); b) siete vacas de baja producción (91 ± 17 d después del parto y producción de leche 16.14 ± 1.12 kg); c) siete vacas secas (21 ± 5 d antes del parto; al final de la gestación y sin producción de leche) y d) siete becerras (35 ± 7 d después del nacimiento), para un total de 21 vacas/grupo.

La alimentación por vaca en el grupo de alta producción comprendió: 7.14 kg/d de heno de alfalfa, 1.32 kg/d de ensilaje de alfalfa, 1 kg/d de paja de avena, 14.06 kg/d de ensilaje de maíz y 3.38 kg/d de ensilaje de triticale. El grupo de baja producción se alimentó con 4 kg/d de heno de alfalfa, 14.3 kg/d de alfalfa picada, 1.5 kg/d de paja de avena y 2.5 kg/d de maíz en hojuelas. El grupo en período seco se alimentó con 8 kg/d de paca de alfalfa, 4.9 kg/d de paja de avena, 9.5 kg/d de ensilaje de triticale, 2 kg/d de pasta de canola y 1 kg/d de maíz en hojuelas. Los tres grupos recibieron adicionalmente 0.3 kg/d de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), suplemento mineral y agua fresca a libre acceso. Se les suministró concentrado con 17.80% de proteína cruda (PC), a razón de 13.25 kg/d para las vacas de alta producción, y concentrado con 14.60% de PC a razón de 7 kg/d para las vacas de baja producción. A las becerras se les suministró 700 g/d de concentrado con 21.15% de PC, 4.52% de grasa, junto con 1 kg/d de leche entera y/o mastítica por cada 10 a 12 kg de peso corporal.

Muestreo sanguíneo

Las muestras de sangre se obtuvieron después del primer ordeño de la mañana y antes de la alimentación, mediante punción en la vena coccígea, utilizando tubos al vacío de 8.5 mL con activador de coagulación y gel separador (BD Vacutainer 367988; Becton- Dickinson Co., Franklin Lakes,

Estados Unidos). Para obtener el suero, las muestras se centrifugaron directamente en los establos, a 1500 x g durante 10 min, como lo describe van Saun (2010), mediante una centrífuga portátil (Porta-Spin C828; UNICO, Dayton, Estados Unidos). Posteriormente, los sueros se separaron utilizando tubos de 5 mL con tapa (Tubes 933008; Eppendorf, Madrid, España) y se conservaron a 4 °C en una hielera flexible de 18 L (Cooler Flex Go M5644-710; The Coleman Company, Kansas, Estados Unidos). Se transportaron y congelaron a -20 °C hasta su análisis.

Determinación de butirilcolinesterasa

La concentración de BChE en el suero sanguíneo se determinó espectrofotométricamente (Biochemistry Analyzer ES-218 UV-Vis; KONTRON Lab., Guidonia, Italia) mediante la respuesta de su cinética de acuerdo con el siguiente fundamento: 1) la BChE cataliza la hidrólisis de butiriltiocolina formando butirato y tiocolina; 2) la tiocolina reduce el ferricianuro potásico trihidratado de color amarillo (Kit de Cholinesterase Butyrylthiocholine. Kinetic 41210; Spinreact, Gerona, España) a ferrocianuro potásico, incoloro; 3) Los POF bloquean la actividad de la BChE y, en proporción a su presencia, se dan las reacciones anteriores, por tanto, la absorbancia a 405 nm disminuye cuando el ferricianuro se reduce a la forma ferrosa incolora. La disminución de la absorbancia a 405 nm entre las formas oxidada y reducida del reactivo férrico potásico amarillo al ferrocianuro incoloro es directamente proporcional a la concentración de BChE en la muestra (Jiménez, 1999). Si la BChE no actúa por la inhibición de los POF, permanece alta la A, a 405 nm.

La precisión y la veracidad para la reproducibilidad de las técnicas se controló mediante la utilización de suero de control liofilizado bovino (Spintrol Normal 1002100; Spinreact, Girona, España). La hemólisis del suero se registró en una escala cualitativa entre 0 (nada) y 3 (oscuro) (Quiroz-Rocha *et al.*, 2009). La interferencia por hemólisis con puntua-

ción 2 o superior estuvo presente en 3 muestras, equivalente a menos de 1.3%; por lo tanto, se ignoró su influencia.

Análisis estadístico

Para medir la distribución y el comportamiento de los valores de la muestra, el conjunto de datos resultante se analizó mediante distribución gaussiana, y se determinaron los percentiles P10-P90 y P25-P75 mediante el programa estadístico SPSS Procedimiento Univariante (IBM SPSS Statistics, v 22.0, Armonk, Nueva York IBM Corp.). Para calcular el intervalo de confianza de 95% para BChE, se siguió la recomendación de la Federación Internacional de Química Clínica (Solberg, 1987). Los datos atípicos y los valores con más de 3 desviaciones estándar de distancia de la media fueron descartados. La comparación entre los cuatro grupos de vacas de alta producción, vacas de baja producción, vacas secas y becerras se realizó mediante el análisis de varianza ANOVA. Cuando se encontraron diferencias debido a grupo ($P < 0.05$) se procedió a realizar una prueba de comparación múltiple de Tukey.

RESULTADOS

Las vacas seleccionadas mostraron una media y desviación estándar de 437.10 ± 53.59 U/L de BChE, con valores en el P10 de 356.14 U/L y en el P90 de 516.08 U/L (Cuadro 1). El modelo presentó $P < W = 0.36$ como valor estadístico para la prueba de Shapiro-Wilk, el cual cubre el supuesto de normalidad.

Cuadro 1.

Analito	$\bar{x} \pm DE$	Referencia ^(b)	IC ^(c)	P ₁₀ - P ₉₀	P ₂₅ - P ₇₅
BChE ^(a) (U/L)	437.10 ± 53.59	355.67 ± 103.90	425.47 - 448.73	356.14 - 516.08	405.14 - 465.76
(a) Butirilcolinesterasa; (b) (Ramírez <i>et al.</i> , 2004); (c) intervalo de confianza a 95%.					

Media (\bar{x}), desviación estándar (DE), valor de referencia, intervalo de confianza (IC), y percentiles P10-P90 y P25-P75 para butirilcolinesterasa sanguínea, en establos tecnificados del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, Hidalgo (n = 84 vacas Holstein)

La concentración de BChE registró el valor más bajo (366.46 U/L) en las vacas de alta producción (Cuadro 2), y mostró diferencias ($P < 0.05$) con respecto a los otros tres grupos, mientras que fue similar en las vacas de baja producción y becerras, aunque presentó diferencias ($P < 0.05$) con las vacas secas, las cuales registraron la concentración más alta (501.81 U/L).

Cuadro 2. Comparación de butirilcolinesterasa por grupo de producción

Analito	Vacas de alta producción ⁽²⁾	Vacas de baja producción ⁽³⁾	Vacas secas ⁽⁴⁾	Becerras ⁽⁵⁾
BchE ⁽¹⁾ (U/L)	366.46 ± 26.84 ^a	435.87 ± 15.15 ^b	501.81 ± 27.25 ^c	444.28 ± 23.08 ^b
(1) Butirilcolinesterasa; (2) 42 ± 15 d después del parto; producción de leche (media ± DE): 34.96 ± 1.69; (3) 91 ± 17 d después del parto; producción de leche (media ± DE): 16.14 ± 1.12; (4) 21 ± 5 d antes del parto; al final de la gestación y sin producción de leche; (5) 35 ± 7 d después del nacimiento; * se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos indicados con letras diferentes ($P < 0.05$). Todos los datos son presentados por media ± DE.				

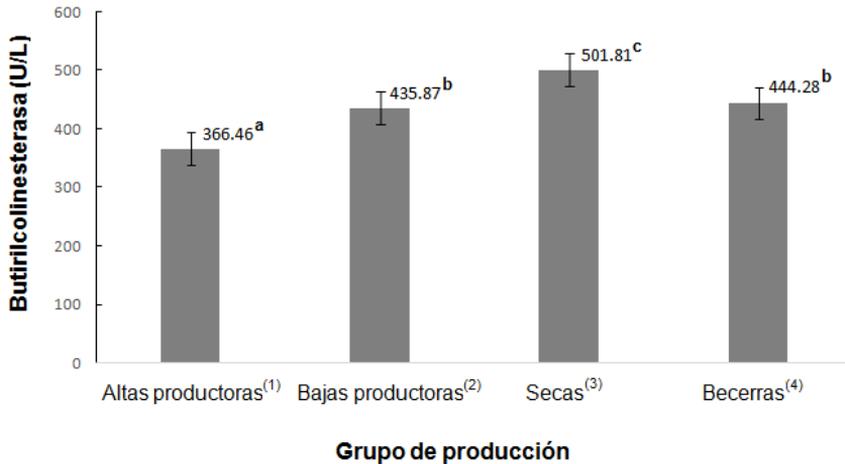
n = 21 vacas (Holstein/grupo).

DISCUSIÓN

Las vacas seleccionadas mostraron una concentración de **BChE** dentro del rango de referencia de 355.67 ± 103.90 U/L para vacas lecheras sanas (Ramírez *et al.*, 2004). Por lo tanto, se establece que las vacas pertenecientes a los establos seleccionados del Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, Hidalgo, no presentaron una intoxicación clínica por exposición a POF. Los cultivos forrajeros que llegan al Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca proceden principalmente del municipio Mixquihuala de Juárez, Hidalgo, donde se siembran aproximadamente 2 800 t anuales de alfalfa (INAFED, 2016). El estado tiene una producción agrícola de 7 millones 557 mil t, y el cultivo de alfalfa representa 57.7%; el maíz amarillo participa con 8.5%, la avena forrajera con 6.6% y la cebada en grano con 2.3% (Sedagro, 2016). En el estado de Hidalgo se utilizan de manera cotidiana el E-605, Agro-etil 48, Partil 606 y Tacsatión etílico para el control de organismos nocivos, ya sean insectos o vectores de patologías en los cultivos forrajeros de interés (Icamex, 2016), información que se verificó directamente con el proveedor de dichos cultivos, quien reportó utilizar Toxol, nombre comercial del paratión etílico.

Esta información sugiere que el forraje con el que se alimenta a las vacas en el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca puede contener residuos de POF, por lo que la diferencia estadística en la concentración de BChE, cuantificada entre el grupo de vacas altas productoras y bajas productoras (Figura 1), parece estar relacionada con la exposición a estos cultivos, al considerar que las vacas altas productoras consumen 23.5 kg/d de forraje asperjado con POF (heno y ensilaje de alfalfa, paja de avena y ensilaje de maíz), en comparación con las vacas secas que consumen 12.9 kg/d (paca de alfalfa y paja de avena).

Figura 1. Comparación de butirilcolinesterasa entre grupos



⁽¹⁾ 42 ± 15 d después del parto; producción de leche (media ± DE): 34.96 ± 1.69 kg/d

⁽²⁾ 91 ± 17 d después del parto; producción de leche (media ± DE): 16.14 ± 1.12 kg/d

⁽³⁾ 21 ± 5 d antes del parto; final de la gestación y sin producción de leche

⁽⁴⁾ 35 ± 7 d después del nacimiento

(n = 21 vacas Holstein/grupo)

Por su parte, el concentrado comercial (Orocría desarrollo; GAQSA, Ganaderos Asociados de Querétaro S. A. de C. V.), con el que se alimentó al grupo de becerras, cuenta con una certificación del National Forage Testing Association (NFTA), que garantiza niveles bajos con respecto a la concentración de micotoxinas y POF en su producto. Dicha información explicaría parcialmente la diferencia estadística en la concentración de BChE entre el grupo de vacas altas productoras y becerras (Figura 1). Además, de manera general, el tejido adiposo y la masa muscular son sustancialmente más escasos en becerras que en vacas adultas (Díaz *et al.*, 2006). A causa de que los POF tienen gran afinidad por estos tejidos, sobre todo el adiposo, se podría estimar que la carencia de estos depósitos en las becerras puede limitar la captación de ellos. Estos resultados son

coincidentes con los obtenidos por Picco (2009), quien al analizar la concentración de BChE, en función del tiempo de vida en terneros, cuantificó diferencias estadísticamente significativas entre el día 1 y el día 49 en adelante. De igual manera, identifica diferencias entre terneros y toros adultos, observando una menor concentración de BChE en el grupo de toros adultos. Pardío *et al.* (2001) también indicaron que los bovinos machos adultos presentan una mayor concentración de BChE en comparación con terneros.

La relativa presencia de la BChE en el suero es un indicador de las exposiciones a POF por la vía oral de los bovinos estudiados. Es importante mantener las consideraciones sobre el destino de la leche en la salud de los consumidores y, de manera paralela, tomar en cuenta la salud de los trabajadores agrícolas, los relacionados con la nutrición animal y el personal implicado en los procesos productivos. Los estudios siguientes ofrecen tres perspectivas de los efectos de algunos POF sobre la AChE/BChE, el perfil redox y efectos endocrinos.

El efecto de las exposiciones de POF sobre la acetilcolinesterasa (AChE) en trabajadores agrícolas ha sido estudiado por López-Carrillo y López-Cervantes (1993). Midieron los niveles de la enzima al comienzo y al final de la jornada de trabajo y hallaron diferencias significativas. Encontraron relaciones con la edad y el sexo de los trabajadores y estimaron mayor decremento de la enzima en los jóvenes, quienes realizaban mayor cantidad de tareas agrícolas por jornada.

Se considera al malatión como un POF neurotóxico. Los investigadores Da Silva *et al.* (2006) analizaron el efecto de la administración del compuesto en ratones madre y su descendencia en la etapa de lactación. Encontraron disminución en la actividad de la AChE en el cerebro de los ratones descendientes, así como disminución en los niveles de glutatión y las actividades de la glutatión reductasa y glutatión peroxidasa. El cerebro de las madres sufrió disminución de la AChE cuando la administración fue de 200 mg/kg de peso corporal, en cambio, los ratones de la descendencia fueron sensibles a la dosis de 20 mg/kg administrado

a sus madres. Estos datos guardan mucha importancia en el consumo humano de leche bovina, ya que hay alta probabilidad de que el fenómeno tenga semejanza, y la vaca libere el malatión en la leche por su naturaleza liposoluble.

Estos resultados se observan congruentes entre exposiciones a los POF y daños que causan en la salud. Los estudios de Lasacaña *et al.* (2010) señalaron su efecto global como disruptor endocrino, al mostrar relaciones entre las concentraciones de POF y la alteración en los niveles séricos de hormonas tiroideas en floricultores en el estado de Morelos, México. Los resultados indicaron aumento de la TSH y la T4, y descenso de la T3 asociados a los niveles de dimetilfosfato en orina con una P de 0.002, y la misma respuesta del perfil tiroideo asociada a dialquifosfatos en suero que son metabolitos en la degradación de los POF.

Selmi *et al.* (2012) estudiaron el efecto en la administración de 200 mg/kg de peso corporal de malatión a ratas en el período de lactación, y tomaron como indicadores la actividad de AChE, de BChE, el estrés oxidativo reflejado en la peroxidación, así como las enzimas antioxidantes catalasa y superóxido dismutasa en cerebro, eritrocitos y plasma en los 21 y 51 d postnatales. Los resultados encontrados manifestaron alta inhibición de las colinesterasas en cerebro, plasma y eritrocitos, así como efectos del estrés oxidativo y disminución de las enzimas antioxidantes. Los autores concluyeron que existe un grave efecto del malatión en el cerebro de ratas lactantes y se percataron de que el mecanismo de acción del malatión es por estrés oxidativo.

El presente trabajo se llevó a cabo en establos lecheros comerciales, por lo que hay un acercamiento con la realidad productiva, pero también limita el manejo experimental para una investigación más completa y determinante sobre la exposición del ganado a POF. Se sugiere continuar el estudio particular de los compuestos por cromatografía de gases con detector N-P, o por sensores electroquímicos, o *Headspace* para identificar y cuantificar cada compuesto en el suero sanguíneo de las vacas y en los cultivos forrajeros que las alimentan.

CONCLUSIONES

El enfoque propuesto para establecer la concentración de BChE sanguínea sirve como una prueba sensitiva de la exposición de vacas Holstein mexicanas a POF totales. Es una prueba de monitoreo general, barata y rápida, que cubre las expectativas de análisis básico porque ofrece información global acerca de la presencia de los POF en el suero de las vacas. Asimismo, los intervalos de confianza calculados se podrían utilizar a nivel hato para detectar situaciones de alerta; cuando en al menos 5% de las vacas de la muestra se sitúen fuera del intervalo de referencia. Las concentraciones de BChE determinadas en el presente estudio abren la posibilidad de comparación entre México y otros países con sistemas similares de producción lechera.

AGRADECIMIENTOS

El estudio fue apoyado por la Red Temática de Colaboración Académica: Producción, Calidad e Inocuidad de la Leche de Vaca, Prodep y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-México (Conacyt-México). Los autores desean agradecer la participación de Raquel Nochebuena Olayo, prestadora de Servicio Social, de la Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma Metropolitana, por su inestimable asistencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, J. y R. González, 2007, "Los plaguicidas en las comunidades de Yucatán. Regiones", en *El Regional*, 26(1): 20-23.
- Carey, L. *et al.*, 2013, "Central respiratory failure during acute organophosphate poisoning", en *Respir Physiol Neurobiol*, 189(2): 403-410.
- Casida, E. y K. Durkin, 2013, "Anticholinesterase insecticide retrospective", en *Chem Biol Interact*, 203(1): 221-225.
- Castro, P. *et al.*, 2004, "Residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de tomate", en *Rev Ing*, 20(2): 1-22.
- Chowdhary, S. *et al.*, 2014, "Acute organophosphorus poisoning", en *Clin Chim Acta*, 431: 66-76.
- Colovic, B. *et al.*, 2013, "Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology", en *Curr Neuropharmacol*, 11(3): 315-335.
- Coullery, P. *et al.*, 2016, "Neuronal development and axon growth are altered by glyphosate through a WNT non-canonical signaling pathway", en *NeuroToxicology*, 52(1): 150-161.
- Silva, P. *et al.*, 2006, "Lactational exposure to malathion inhibits brain acetylcholinesterase in mice", en *Neurotoxicology*, 27(6): 1101-5.
- Díaz, J. *et al.*, 2006, "Toxicidad producida por insecticidas en bovinos", en *Bovis*, 127(1): 7-23.
- Dhull, V. *et al.*, 2013, "Acetylcholinesterase biosensors for electrochemical detection of organophosphorus compounds", en *Biochem Res Int*, 13(1): 1-18.
- Greim, H. *et al.*, 2015, "Evaluation of carcinogenic potential of the herbicide glyphosate, drawing on tumor incidence data from fourteen chronic/carcinogenicity rodent studies", en *Crit Rev Toxicol* 45(3): 185-208.
- IARC, 2015, "International Agency for Research on Cancer: The first 50 years, 1965–2015", en <http://publications.iarc.fr>, consultado el 5/09/2016.

- IBM SPSS Statistics, 2013, "SPSS Statistics User's guide", 22.0 ed. IBM Corp., Armonk, Nueva York.
- Icamex, 2016, "Guía para el buen uso y manejo de Plaguicidas", en <http://icamex.edomex.gob.mx>, consultado el 5/07/2016.
- Inafed, 2016, "Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México/ Hidalgo", en <http://www.inafed.gob.mx>, consultado el 1/07/2016.
- Jiménez, M., 1999, "Modificación de un método para colinesterasa plasmática empleando la reducción del ferricianuro como indicador", en *Rev Costarric Cienc Méd*, 20(1-2): 1-7.
- Karami, S. y M. Abdollahi, 2013, "Mitochondrial dysfunction and organophosphorus compounds", en *Toxicol Appl Pharmacol*, 270(1): 39-44.
- Kuklenyik, P., 2000, *Detection and Quantification of Organophosphate Pesticides in Human Serum*, tesis the Doctor of Philosophy, College of Arts and Sciences Georgia State University, Atlanta, EUA.
- King, M. y C. Aaron, 2015, "Organophosphate and carbamate poisoning", en *Emerg Med Clin North Am*, 33(1): 133-151.
- Ko, Y. *et al.*, 2014, "Determination of organophosphorus pesticides in stomach contents of postmortem animals by QuEChERS and gas chromatography", en *J Anal Toxicol*, 38(9): 667-671.
- Lacasaña, M. *et al.*, 2010, "Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers", en *Toxicol Appl Pharmacol*, 243(1): 19-26.
- López, L. y M. López, 1993, "Effect of exposure to organophosphate pesticides on serum cholinesterase levels" en *Arch Environ Health*, 48(5): 359-63.
- Milenio, 2014, "En México se usan plaguicidas prohibidos a escala mundial / Estados Unidos y Japón, principales importadores de los productos agrícolas nacionales, recriminan el excesivo uso de estos contaminantes", en <http://www.milenio.com/cultura/Mexico-plaguicidas-prohibidos.html>, consultado el 19/07/2016.

- Morales, M., 2015, "Efectos del glifosato sobre la salud", en *Suplemento Científico de La Jornada Veracruz. El Jarocho Cuántico*, 2015(1): 2-8.
- Obiols, J., 1999, "Plaguicidas organofosforados. Aspectos Generales y Toxicocinética", Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, en <http://www.oect.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/NTP>, consultado el 19/09/2016.
- Ortiz, I. *et al.*, 2013, "Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulador", en *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 4(1): 26-46.
- Pardío, V. *et al.*, 2001, "Use of Cholinesterase Activity in Monitoring Organophosphate Pesticide Exposure of Cattle Produced in Tropical Areas", en *J Agric Food Chem*, 49(12): 6057-6062.
- Payne, M. *et al.*, 1974, "A statistical appraisal of the results of the metabolic profile tests on 191 herds in the B.V.A.-A.D.A.S joint exercise in animal health and productivity", en *Br Vet J*, 130(1): 34-44.
- Peel, C. *et al.*, 2007, "Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification", en *Hydrol Earth Syst Sci*, 12(2): 1633-1644.
- Pereira, F. *et al.*, 2014, "Animal models that best reproduce the clinical manifestations of human intoxication with organophosphorus compounds", en *J Pharmacol Exp Ther*, 350(2): 313-321.
- Pérez, A. *et al.*, 2009, "Organophosphate pesticide residues in broccoli (*Brassica oleracea*) heads determined by gas chromatography", en *Rev Int Contam Ambient*, 25(2): 103-110.
- Picco, E, 2009, *Influencia de los estados fisiológicos en la disposición cinética de clorpirifós en bovinos*, tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Argentina.
- Quiroz, G. *et al.*, 2009, "Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition", en *Can Vet J*, 50(4): 383-388.
- Ramírez, M. *et al.*, 2004, "Determinación de los niveles de referencia de la colinesterasa plasmática en el ganado vacuno de la Zona Sur del Lago de Maracaibo, Venezuela", en *Rev Fac Farma*, 46(1): 51-56.

- Rozengart, V., 2012, "From metabolism to comparative biochemistry of toxic organophosphorus compounds. To the 100th anniversary from the birth of V. I. Rozengart", en *Zh Evol Biokhim Fiziol*, 48(1): 3-7.
- Santa, M. *et al.*, 2006, "Estudio de la contaminación por plaguicidas organofosforados y triazinas en leche procedente de diversas rutas de recogida", en *Rev Toxicol*, 23(1): 7-10.
- Sedagro, 2016, "Sistema Producto: Maíz amarillo, Avena forrajera y Cebada en grano", en <http://sedagro.edomex.gob.mx>, consultado el 29/07/2016.
- Selmi, S. *et al.*, 2012, "Oxidative stress and cholinesterase inhibition in plasma, erythrocyte and brain of rats pups following lactational exposure to malathion", en *Environ Toxicol Pharmacol*, 34(3): 753-60.
- Shaker, M. y E. Elsharkawy, 2015, "Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in raw buffalo milk from agroindustrial areas in Assiut, Egypt", en *Environ Toxicol Pharmacol*, 39(1): 433-440.
- Solberg, E., 1987, "Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits", en *Clin Chim Acta*, 170(2-3): S13-S32.
- Van Saun, J., 2010, "Indicators of dairy cow transition risks: metabolic profiling revisited", en XXVI World Buiatrics Congress, Santiago, Chile.
- Venerosi, A. *et al.*, 2015, "Effects of maternal chlorpyrifos diet on social investigation and brain neuroendocrine markers in the offspring- a mouse study", en *Environ Health*, 14(1): 32-38.

