

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍA
ANALÍTICA CUALITATIVA DE RODENTICIDAS
ANTICOAGULANTES POR CROMATOGRFÍA
EN CAPA FINA**

MARÍA ISABEL MINERA BALDIZÓN

QUÍMICA FARMACEÚTICA

Guatemala, noviembre de 2006

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍA ANALÍTICA
CUALITATIVA DE RODENTICIDAS
ANTICOAGULANTES POR CROMATOGRFÍA EN
CAPA FINA**

Informe de Tesis

Presentado por:

MARÍA ISABEL MINERA BALDIZÓN

Para optar al título de

QUÍMICA FARMACEÚTICA

Guatemala, noviembre de 2006

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS Y FARMACIA**

OSCAR CÓBAR PINTO, Ph.D.	DECANO
LICDA. JANNETTE SANDOVAL MADRID DE CARDONA, M.A.	SECRETARIA
LICDA. LILLIAN RAQUEL IRVING ANTILLÓN, M.A.	VOCAL I
LICDA. LILIANA VIDES DE URÍZAR	VOCAL II
LICDA. BEATRIZ EUGENIA BATRES DE JIMÉNEZ	VOCAL III
BR. ÁNGEL DAMIÁN REYES VALENZUELA	VOCAL IV
BR. ÁNGEL JACOBO CONDE PEREIRA	VOCAL V

ACTO QUE DEDICO

A Dios

Por ser la fuente de sabiduría y entendimiento que me brinda cada día.

A la Santísima Virgen

Por ser la luz que me guía en mi camino.

A mis Padres

Manuel de Jesús Minera Bolaños
María Isabel Baldizón de Minera
Quienes con su amor, apoyo incondicional y esfuerzos han contribuido a la culminación de esta etapa importante de mi vida.

A mis Hermanos

Manuel Alberto, José Rafael, Julio César y Carlos Giovani.
Por su cariño y apoyo brindado.

A las Licenciadas

Mayté de Recinos, Carolina Guzmán, María del Carmen Samayoa, Fabiola de Micheo y Magda de Baldetti, por la ayuda brindada y por los sabios consejos dados.

A mis amigas

Con especial cariño.

AGRADECIMIENTO

Al Departamento de Toxicología por permitir la realización de la parte experimental de este trabajo de tesis y por el aporte brindado.

A la Licda. Mayté Donis de Recinos mi más sincero agradecimiento por su asesoría, orientación y apoyo durante el desarrollo del trabajo de investigación.

A la revisora de este trabajo: Licda. Carolina Guzmán de Meléndez.

A la Licda. María del Carmen Castillo por el apoyo y colaboración brindada.

A las Licenciadas María del Carmen Samayoa y Fabiola de Micheo por sus acertadas recomendaciones en la elaboración de esta tesis.

ÍNDICE

	pp.
I. RESUMEN	3
II. INTRODUCCIÓN	5
III. ANTECEDENTES	6
IV. JUSTIFICACIÓN.....	8
V. OBJETIVOS	9
VI. HIPÓTESIS.....	10
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	11
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	15
IX. CONCLUSIONES	24
X. RECOMENDACIONES	25
XI. REFERENCIAS.....	26
XII. ANEXOS.....	30
• GLOSARIO.....	45
• PREPARACIÓN DE REACTIVOS	48
• FOTOGRAFÍAS	49

I. RESUMEN

El método de análisis de rodenticidas anticoagulantes seleccionado para el presente trabajo fue el propuesto por Berny y colaboradores (6), por su simplicidad en el procedimiento de extracción y facilidad de adquisición de los solventes orgánicos.

Dentro del procedimiento, se indicaba la aplicación de la muestra en cromatoplasmas nano-HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography) reveladas a 286 nm, éstas detectan concentraciones pequeñas y proporcionan una alta resolución, la cual se refleja en el límite de detección que obtuvieron de 0.2 µg/ml.

Debido a la falta de estas cromatoplasmas en el país, se trabajó en unas de función similar, siendo éstas las de tipo TLC (Thin Layer Chromatography) observadas bajo luz UV de longitud de onda corta a 254 nm; ya que el rango de absorbancia es de 220 – 380 nm (6). Debido a estos cambios fue necesario comenzar a comprobar si el límite de detección seguía siendo el mismo.

Se procedió entonces a las pruebas directas con dos estándares de rodenticidas (brodifacoum y coumatetralil), diluidos en cloroformo y metanol, respectivamente.

Por su accesibilidad en diferentes comercios de nuestro país se utilizaron productos comerciales que contienen brodifacoum y coumatetralil, los cuales se detectan a un Rf de 0.2 y 0.6, respectivamente (6).

La concentración mínima detectada en ambos rodenticidas fue de 10 µg/ml, sin embargo, por ser poco perceptible se hicieron pruebas incrementando esta concentración hasta encontrar la óptima visible, siendo ésta de 30 µg/ml, por lo que los productos comerciales se prepararon a esta última concentración, obteniéndose buenos resultados.

Se realizó un control a las cuatro matrices en estudio (orina, suero, hígado de res y concentrado para animales), que consistía en aplicar el método a dichas matrices sin contaminación, observándose que no existía ninguna mancha o interferente a la altura de los estándares al revelarlo el mismo día de la extracción, sin embargo, al paso de las horas comienzan a aparecer manchas al mismo Rf del brodifacoum en las extracciones de hígado y concentrado para animales, por lo que es indispensable observar los resultados el mismo día del análisis y así evitar falsos positivos.

Al contaminar las matrices orina y suero con los productos comerciales a una concentración de 30 µg/ml, se observó una buena respuesta para brodifacoum pero para

coumatetralil fue necesario aumentar la concentración a 40 $\mu\text{g/ml}$, para obtener los resultados realmente esperados.

Con estas últimas concentraciones se contaminaron las matrices restantes obteniéndose al igual que en las anteriores manchas color marrón a un Rf de 0.2 para brodifacoum y 0.6 para coumatetralil.

Este método es específico para rodenticidas anticoagulantes ya que no necesita ningún tipo de procedimientos de purificación de matrices.

El límite de detección encontrado es elevado (30 $\mu\text{g/ml}$ para brodifacoum y 40 $\mu\text{g/ml}$ para coumatetralil), sin embargo, por su simplicidad, confiabilidad e identificación rápida es una buena alternativa como procedimiento de análisis toxicológico, el cual es requerido por el personal médico en determinados momentos para el diagnóstico y tratamiento de pacientes intoxicados con rodenticidas anticoagulantes.

II. INTRODUCCIÓN

Se denominan rodenticidas a aquellas sustancias que tienen como finalidad la eliminación de los roedores. Estos son un importante problema de salud pública, debido a que transmiten múltiples enfermedades y además, se reproducen rápidamente (1).

Entre los rodenticidas se encuentra el grupo de anticoagulantes, que deprimen la síntesis hepática de las sustancias esenciales para la coagulación de la sangre induciendo así a una hemorragia interna generalizada. Se dividen en primera generación, los derivados de la 4-hidroxycumarina como la warfarina y los de segunda generación, los derivados de la indano-1,3-diona como el brodifacoum y el difenacoum (2).

Estas sustancias se emplean frecuentemente en los hogares y son la causa de muchas intoxicaciones en este ámbito; siendo más vulnerables los niños y los animales domésticos. No se descarta las intoxicaciones en adultos ya que estas pueden ser intencionales y suicidas.

Debido a esto es necesario contar con una metodología de análisis que identifique la presencia de estos productos en varias matrices orgánicas, de tal manera que sea rápida y confiable, proporcionando así un apoyo valioso al sector médico.

III. ANTECEDENTES

En 1962, O' Reilly demostró que por medio de espectrofotometría ultravioleta a una absorción específica de 308 nm, es posible identificar la warfarina (3).

Lewis y colaboradores en 1970, utilizaron cromatografía en capa fina para la separación de warfarina y de sus metabolitos, antes de la cuantificación de la misma en fluorometría (4).

En 1973, Mallet y colaboradores detectaron plaguicidas de fluorescencia natural en cromatoplasmas de sílica gel, entre ellos se analizó coumatetralil, estimándose el límite de detección visual en 0.01 microgramos, este plaguicida se observó a una longitud de onda de 463 nm (13).

Hunter, desarrolló un método en 1983 para la determinación de warfarina, coumatetralil, bromadiolona, difenacoum y brodifacoum en tejidos de animales por HPLC con detección de fluorescencia. Comprobaron que la extracción con una mezcla de cloroformo y acetona (1:1) fue significativamente mejor que usando sólo cloroformo en tejidos de hígado. Los límites de detección fueron de 2 µg/Kg para coumatetralil, difenacoum y brodifacoum, 10 µg/Kg para bromadiolona, y 20 µg/Kg para warfarina (5, 35).

Felice y colaboradores desarrollaron un método en 1991 por cromatografía líquida en fase reversa con detección fluorescente para multicomponentes, donde se identificaron cinco rodenticidas en plasma con límites de detección de 10 a 20 ng/ml (5).

En 1992, Braselton y colaboradores, desarrollaron un método por espectrometría de masas con disociación activada/colisionada confirmando la presencia de rodenticidas de indandiona (difacinona y clorofacinona) en animales domésticos intoxicados (5).

Riley y Koves en 1992, desarrollaron una técnica de cromatografía líquida para distinguir la warfarina de sus metabolitos (3).

Kuijpers y colaboradores realizaron un método en 1995, para identificar y cuantificar cinco rodenticidas superwarfarínicos en suero humano en HPLC con detección ultravioleta a 285 nm y por fluorescencia a 265 nm (4).

El Centro para el Control de Envenenamientos de la Asociación Americana de Estados Unidos en 1996, recopiló información de los plaguicidas más comúnmente implicados en envenenamientos, en el cual figuran los rodenticidas anticoagulantes, con un total de 209 casos (176 en niños y 33 en adultos) (12).

Marques y colaboradores en 1999, determinaron productos cumarínicos por HPLC con detector de fluorescencia. En diferentes casos de intoxicación humana, se encontró warfarina en concentración de 0.4 µg/ml en sangre, difenacoum en concentraciones de 0.8 y 100 µg/ml en sangre y contenido gástrico respectivamente. Estos mismos investigadores detectaron coumatetralil en estómago e hígado de perros y en productos alimenticios, para los mismos. La extracción de estos productos se realizó a pH = 1 con cloroformo y purificación con solución de hidróxido sódico (8).

En 2004, Olmos y colaboradores cuantificaron brodifacoum, bromadiolona y difenacoum en suero humano por HPLC con detección ultravioleta y fluorométrica, estos superwarfarínicos se aislaron mediante una extracción con una mezcla cloroformo/acetona (1:1, v/v), obteniendo una recuperación entre 51 y 74 % a una longitud de onda de 254 nm (9).

En los años 2004 y 2005 la estadística del Centro de Información y Asesoría Toxicológica - CIAT- del Departamento de Toxicología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, mostró que de las intoxicaciones por plaguicidas de uso doméstico el 21 % correspondió a rodenticidas anticoagulantes (10).

IV. JUSTIFICACIÓN

El incremento de la suciedad en la ciudad capital y la localización de viviendas cerca de barrancos, terrenos baldíos, basureros clandestinos, etc., propician que los roedores proliferen en esos lugares. Ello ha obligado a las comunidades guatemaltecas al uso frecuente de los rodenticidas, principalmente los pertenecientes al grupo de los anticoagulantes, por lo que aumenta el riesgo de intoxicaciones especialmente en niños pequeños y animales domésticos, por su mal manejo, la mayoría de veces.

Al presentarse casos de personas intoxicadas por rodenticidas anticoagulantes ya sea de manera accidental o suicida en hospitales, centros de salud, etc., el personal médico necesita un apoyo analítico para confirmar su diagnóstico, por lo que el Departamento de Toxicología de la Escuela de Química Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC necesita contar con una metodología rápida y confiable que le permita informar la presencia o ausencia de esas sustancias lo más pronto posible y así el galeno aplicará el tratamiento adecuado.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo General:

1. Implementar una metodología, para la identificación cualitativa de rodenticidas anticoagulantes en diversas matrices.

B. Objetivos Específicos:

1. Establecer el procedimiento necesario para la purificación de las muestras.
2. Seleccionar las muestras o matrices con resultados altamente representativos.
3. Elaborar una técnica con el perfil de las existentes en el Departamento de Toxicología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC, para uso interno del mismo.

VI. HIPÓTESIS

Los rodenticidas anticoagulantes presentes en diversas matrices biológicas, pueden ser identificados de manera específica, mediante procesos selectivos de purificación, por medio de cromatografía en capa fina.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Descripción del universo

El universo de trabajo lo constituyen muestras de orina, sangre (humanos), hígado de res y concentrado para animales, todas las matrices contaminadas con rodenticidas anticoagulantes.

B. Medios:

1. Recursos Humanos:

- a) Autora: María Isabel Minera Baldizón
- b) Asesora: Licda. Mayté de Recinos
- c) Revisora: Licda. Carolina de Meléndez

2. Recursos institucionales:

- a) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
- b) Laboratorio del Departamento de Toxicología
- c) Biblioteca del Departamento de Toxicología
- d) Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
- e) Biblioteca de Instituto Nutricional de Centro América y Panamá (INCAP)
- f) Laboratorio Nacional de Salud (LNS)

1. Recursos Materiales:

a) Reactivos (6): Preparación de reactivos Pág. 48

- Solución patrón de rodenticida a 1 mg/ml
- Soluciones estándares de brodifacoum a 30 µg/ml y coumatetralil a 40 µg/ml
- Éter dietílico (anhidro, grado reactivo)
- Acetona
- Metanol
- Cloroformo
- Agua destilada

b) Equipo y Cristalería (6):

- Tubos de ensayo con tapón de vaquelita
- Beakers de 10 ml

- Balón aforado de 25 ml
- Probeta de 10 ml
- Pipetas serológicas (5 y 1 ml)
- Micropipetas
- 1 baño seco de temperatura controlada con bloques calefactores
- Cámaras de desarrollo
- Cromatoplasmas RP - 18 F_{254S} de 5 x 10 cm con indicador de fluorescencia
- Lámpara UV de onda corta con un rango de transmisión máximo de 254
- Pipetas de pasteur
- Mortero y pistilo
- Agitador eléctrico (Vortex)
- Balanza analítica
- Tubos capilares
- Mechero
- Ventilador
- Licuadora
- Espátulas
- Agitador de vidrio

C. Método:

1. Extracción para Hígado (6):

- a) Pesar dos muestras de 2 g de hígado de res de cada una, previamente licuadas, colocar en diferentes tubos de ensayo.
- b) Contaminar la muestra, pesando 1.2 g del producto comercial (Klerat[®], concentración: 0.005 % de brodifacoum) para obtener una concentración de 30 µg/ml de brodifacoum, agregar al tubo de ensayo y homogenizar con el agitador eléctrico por un minuto,
- c) En otro tubo de ensayo, pesar 0.2 g del producto comercial (Racumín[®], coumatetralil: 0.0375 %) para obtener una concentración de 40 µg/ml de coumatetralil, proceder de la misma manera que el tubo anterior.
Nota: Estos productos comerciales deben triturarse, antes de pesarlos.
- d) Extraer con 5 ml de acetona cada tubo de ensayo, mezclar y centrifugar a 2000 rpm por 5 minutos. Guardar el sobrenadante.

- e) Volver a extraer el residuo con 4 ml de acetona, centrifugar de igual manera que el inciso d). Mezclar los sobrenadantes y descartar adecuadamente el residuo.
- f) A la mezcla de los líquidos anteriores, agregar 1 ml de éter dietílico y mezclar.
- g) Medir 1 ml de f) en un beacker de 10 ml y evaporar a sequedad sobre un baño seco con temperatura controlada a 40 ° C.
- h) Redisolver con 100 µl de metanol y aplicar a la cromatoplaca.

2. Extracción para suero (6):

- a) Medir en dos tubos de ensayo, 2 ml de suero en cada uno y proceder de igual manera a la extracción de hígado.

3. Extracción para Orina (6):

- a) Medir en dos tubos de ensayo, 2 ml de orina en cada uno y proceder de igual manera a la extracción de hígado.

4. Extracción para concentrado de animales (6):

- a) Pesar dos muestras de 2 g de concentrado para animales previamente triturado, colocar en diferentes tubos de ensayo y proceder de igual manera a la extracción de hígado.

5. Cromatografía en Capa Fina (6):

a) Aplicación:

- Medir y marcar 1 cm en la parte inferior de la cromatoplaca y 1 cm en la parte superior. Aplicar sobre esta de 10 µl de cada uno de los extractos de las muestras y estándares. Colocar estándares a la izquierda y las muestras a la derecha.

b) Desarrollo:

- Esperar que la cámara cromatográfica se sature por 5 – 10 minutos con los solventes, colocar la cromatoplaca dentro de la cámara de desarrollo, que contiene la fase móvil: Metanol-Ácido fosfórico (9:1), cerrarla adecuadamente y esperar a que el solvente asciende aproximadamente a una distancia de 8 cm.

- Sacar y dejar que la cromatoplaca se seque completamente con aire por 5 minutos.

c) Revelado:

- Observar la cromatoplaca bajo luz UV a una longitud de onda corta. (254 nm)
- El coumatetralil, se localiza a un rf de 0.6.
- El brodifacoum, se localiza a un rf de 0.2.
- Observar manchas fluorescentes de color marrón, la intensidad y tamaño de la mancha se compara con la del estándar.

D. Diseño de la investigación:

1. Diseño de muestreo:

Se realizó dos replicas del método cualitativo en las muestras de orina, sangre, hígado de res y concentrado de animales contaminadas con los rodenticidas anticoagulantes.

2. Diseño Estadístico:

a) Muestra: Las muestras fueron las matrices contaminadas con rodenticidas anticoagulantes.

b) Variable de Interés: Fase móvil, procedimientos de limpiezas y procedimientos de extracción.

c) Análisis de Resultados: Se demostró la validez de este método a través de ensayo y error, analizando la especificidad y presentando los resultados en forma descriptiva.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se realizó una investigación a través de diferentes fuentes bibliográficas para seleccionar el método más adecuado, el cual se encontró en el Journal Analytical of Toxicology (6), por su simplicidad en el procedimiento de extracción, facilidad de aplicación en las cromatoplasmas, accesibilidad a los solventes orgánicos de desarrollo y por obtener resultados inmediatos. El método original, proponía la utilización de cromatoplasmas tipo nano-HPTLC (del inglés High Performance Thin Layer Chromatography) las cuales por razones de costo y falta de existencia en Guatemala, se sustituyeron por las de función similar que ofrecía el mercado local siendo éstas las del tipo TLC (del inglés Thin Layer Chromatography).

Además, Berny utilizó para el revelado una lámpara de luz UV a 286 nm, sin embargo, realizó un espectro completo de 220 – 380 nm donde pudo comprobar que los rodenticidas anticoagulantes son absorbidos en todo ese rango, basado en ello se utilizó una lámpara de luz UV a 254 nm para el revelado de éstas cromatoplasmas en el ensayo experimental, aún con los cambios realizados se obtuvieron excelentes resultados.

En nuestro país los productos comerciales más usados como rodenticidas contienen sustancias activas tales como: brodifacoum y coumatetralil, los cuales se detectan a un Rf de 0.2 y 0.6, respectivamente (6).

El límite de detección obtenido por Berny y colaboradores fue de 0.2 µg/ml por lo que se procedió a preparar una concentración similar para observar si las cromatoplasmas a utilizar tenían la misma resolución. Se preparó una solución patrón de 1 mg/ml (1000 µg/ml), una solución intermedia de 20 µg/ml y una solución de trabajo de 0.2 µg/ml de los estándares y productos comerciales. Se llevó a cabo el procedimiento completo (extracción, aplicación, desarrollo y revelado), pero no hubo respuesta positiva. El método no mencionaba si era necesaria la activación de las cromatoplasmas, por lo que se investigó el procedimiento para ello, al aplicarlo se obtuvo nuevamente una respuesta negativa.

De igual forma, se trabajó con cromatoplasmas de Sílica Gel 60 F, debido a que se dudó del funcionamiento de las cromatoplasmas tipo TLC pero tampoco se obtuvo ningún resultado. Conociendo la alta resolución de las cromatoplasmas nano-HPTLC, se sospechó que la falla estaba en el límite de detección. Para tratar de obtener una respuesta positiva, se procedió a trabajar sólo con los estándares, aplicando directamente la solución patrón (sin extracción) a la cromatoplasma. Se identificaron los

rodenticidas como manchas de color marrón para ambos (brodifacoum y coumatetralil, a los Rf esperados de 0.2 y 0.6, respectivamente). Con base en esta prueba se prepararon diferentes concentraciones de ambos rodenticidas para determinar el límite de detección en las cromatoplasmas tipo TLC, los cuales aparecen en la siguiente tabla:

Tabla No. 1: Estándares de brodifacoum y coumatetralil observados a λ de 254 nm

No. de muestras	Concentración	Rf de brodifacoum	Rf de coumatetralil	Resultado
1	1000 $\mu\text{g/ml}$	0.1	0.5	Positivo, mancha color marrón
2	500 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.6	Idem
3	250 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.6	Idem
4	125 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.6	Idem
5	62.5 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.6	Idem
6	30 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.6	Idem
7	10 $\mu\text{g/ml}$ *	0.1	0.5	Idem
8	7.8 $\mu\text{g/ml}$	No detectado	No detectado	-----
9	3.9 $\mu\text{g/ml}$	No detectado	No detectado	-----

* Muy leve fluorescencia

Esta tabla muestra que el límite de detección para ambos estándares es de 10 $\mu\text{g/ml}$. En la misma se observa un cambio pequeño de Rf en las muestras uno y siete, esto puede ser por el Coeficiente de Variación de las cromatoplasmas calculado por Berny que fue menor del 5 % (6) ya que la muestra uno fue aplicada por separado, el grupo dos, tres, cuatro, cinco y seis en una sola cromatoplasma, finalmente siete, ocho y nueve en una tercera.

Se procedió a trabajar extrayendo los productos comerciales, tomando en cuenta que la fluorescencia a 10 $\mu\text{g/ml}$ era muy baja y que el contenido en grasas y excipientes de dichos productos es elevado, se inició con una concentración de 30 $\mu\text{g/ml}$, para lo cual se pesó el equivalente al principio activo sabiendo que el Racumín® tiene 0.0375 % de coumatetralil y el Klerat 0.005 % de brodifacoum, disminuyendo dicha

concentración hasta llegar a 10 $\mu\text{g/ml}$, los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla No.2:

Tabla No. 2: Principios activos en los productos comerciales observados a λ de 254 nm

Rodenticidas Anticoagulantes	Concentración	Rf	Resultado
Brodifacoum	30 $\mu\text{g/ml}$	0.2	Positivo, mancha color marrón
Coumatetralil	30 $\mu\text{g/ml}$	0.6	Idem
Brodifacoum	20 $\mu\text{g/ml}$ *	0.2	Idem
Coumatetralil	20 $\mu\text{g/ml}$ *	0.6	Idem
Brodifacoum	10 $\mu\text{g/ml}$	No detectado	-----
Coumatetralil	10 $\mu\text{g/ml}$	No detectado	-----

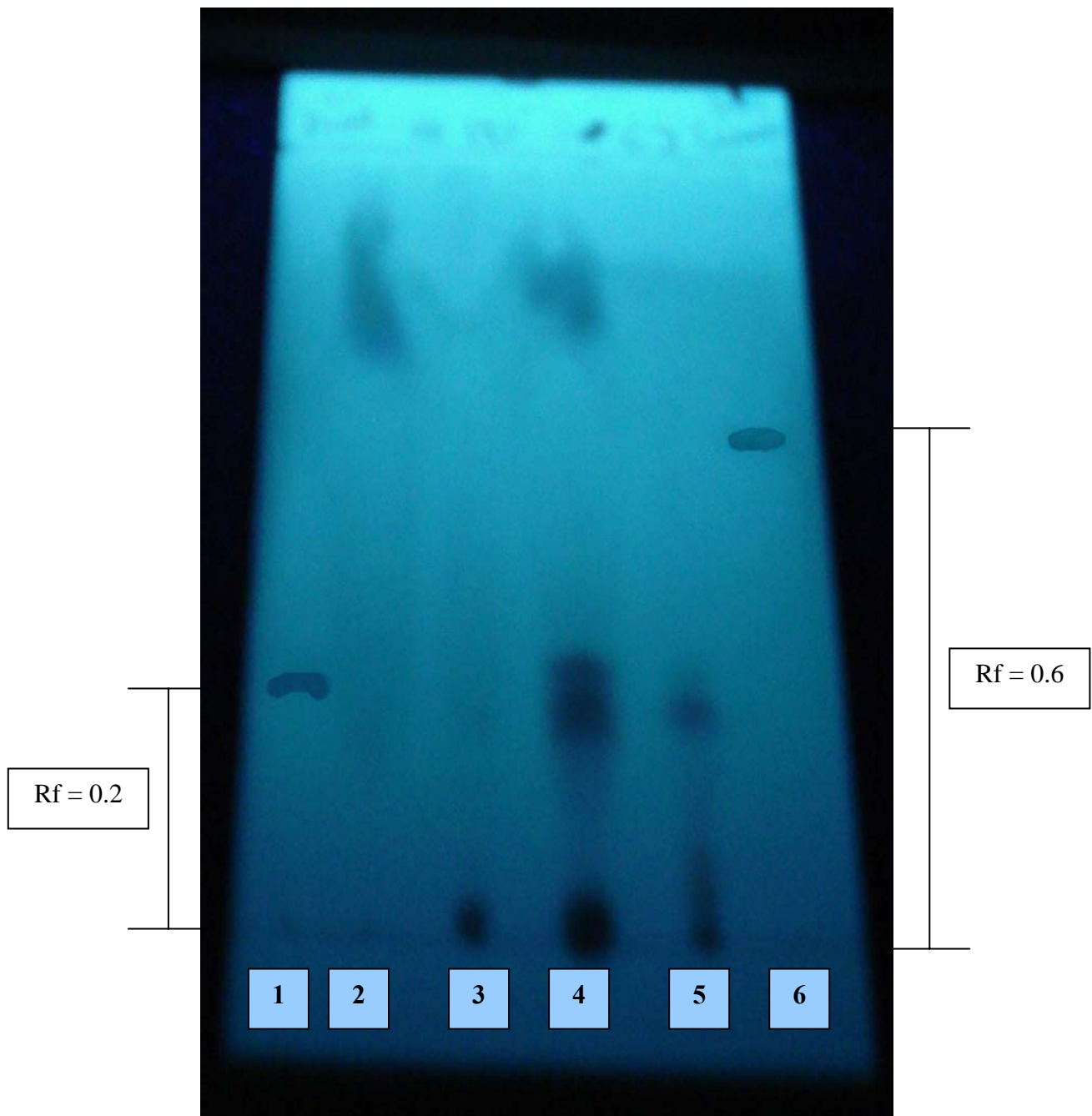
* Muy leve la fluorescencia

A 10 $\mu\text{g/ml}$ se obtuvo un resultado negativo, en 20 $\mu\text{g/ml}$, se observó una tenue fluorescencia que para evitar falsos positivos, se decidió a trabajar con concentraciones no menores a 30 $\mu\text{g/ml}$ en las muestras subsiguientes.

La mayoría de métodos para muestras biológicas recomiendan procedimientos de purificación para eliminar interferentes, sin embargo, este método es tan selectivo que con sólo utilizar los solventes de extracción (acetona y éter etílico) se obtiene una buena respuesta para los dos rodenticidas anticoagulantes.

La especificidad del método fue determinada aplicando el procedimiento completo a cuatro matrices individualmente (orina, suero, hígado de res y concentrado para animales).

Al observar la cromatoplaqueta inmediatamente después de secar los solventes con aire, no se observó ninguna mancha a la altura de los estándares, por lo que se determinó que no existen interferentes, sin embargo, al transcurrir el tiempo aparecieron otras manchas cercanas a la altura del estándar de brodifacoum ($R_f = 0.2$) en las matrices de hígado y de concentrado para animales, lo cual erróneamente se puede interpretar como falso positivo, por lo que es necesario realizar el análisis completo en un solo día.

Fotografía No. 1: Cromatoplaaca tomada varios días después de su revelado

En esta fotografía, se muestra que toda la cromatoplaaca tiene un color azul esto se debe a su revelación con luz UV de onda corta (254 nm). El orden de posición es el siguiente (izquierda a derecha): 1) estándar de brodifacoum, 2) orina, 3) plasma, 4) hígado, 5) concentrado para animales y 6) estándar de coumatetralil. Se observa que la segunda y tercera matrices no muestran interferencias, la cuarta y quinta presentan una mancha a la altura del brodifacoum, por lo que no sería un resultado válido y se confirma que es necesario realizar el análisis completo el mismo día.

Se procedió a trabajar en duplicado para las cuatro matrices, en el siguiente orden: orina, suero, hígado de res y concentrado para animales.

La primera en analizar fue la orina, debido a que posee menos impurezas. Se contaminó con la cantidad detectada en los productos comerciales, que fue de 30 $\mu\text{g/ml}$ para los dos rodenticidas, se realizó el método completo y se reveló por luz UV, las manchas fueron comparadas con el factor de retención (Rf) de los estándares. Los resultados se encuentran en la tabla No. 3:

Tabla No. 3: Orina contaminada con rodenticidas anticoagulantes observados a λ de 254 nm

Rodenticida Anticoagulante	Concentración	Rf de estándar	Rf de muestra	Resultado
Brodifacoum (Klerat ®)	30 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.2	Positivo, mancha color marrón
Brodifacoum	30 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.2	Idem
Coumatetralil (Racumín ®)	30 $\mu\text{g/ml}$ *	0.6	0.6	Idem
Coumatetralil	30 $\mu\text{g/ml}$ *	0.6	0.6	Idem
Coumatetralil	40 $\mu\text{g/ml}$	0.6	0.6	Idem
Coumatetralil	40 $\mu\text{g/ml}$	0.6	0.6	Idem

* Muy leve fluorescencia

Los resultados no fueron los esperados para el coumatetralil debido a que la mancha presentaba muy poca fluorescencia (casi imperceptible), por lo que se procedió a aumentar la concentración a 40 $\mu\text{g/ml}$, obteniendo mejores resultados.

La siguiente matriz a extraer fue el suero, debido a los resultados anteriores se trabajó contaminando con dos concentraciones 30 y 40 $\mu\text{g/ml}$ en los dos rodenticidas, a continuación se presentan los resultados:

Tabla No. 4: Suero contaminado con Rodenticidas anticoagulantes observados a λ de 254 nm

Rodenticida Anticoagulante	Concentración	Rf de estándar	Rf de muestra	Resultado
Brodifacoum (Klerat ®)	30 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.2	Positivo, mancha color marrón
Brodifacoum	30 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.2	Idem
Brodifacoum	40 $\mu\text{g/ml}$	0.2	0.2	Idem
Coumatetralil (Racumín ®)	30 $\mu\text{g/ml}$ *	0.6	0.6	Idem
Coumatetralil	40 $\mu\text{g/ml}$	0.6	0.6	Idem
Coumatetralil	40 $\mu\text{g/ml}$	0.6	0.6	Idem

* Muy leve fluorescencia

Puede observarse que la respuesta de coumatetralil a 30 $\mu\text{g/ml}$ fue muy baja (casi imperceptible), obteniéndose mejores resultados para 40 $\mu\text{g/ml}$, por lo que las últimas matrices se contaminaron con estas mismas concentraciones.

La tercera matriz analizada fue el hígado de res, obteniéndose buenos resultados con el brodifacoum a una concentración de 30 $\mu\text{g/ml}$. Sin embargo, se presentaron algunos problemas al contaminar con coumatetralil, siendo esta una matriz sólida, al igual que el rodenticida y la cantidad pesada muy pequeña (0.2 g) comparada con dicha matriz, al no mezclar adecuadamente, no hubo extracción por parte de la acetona.

Pensando en el tipo de matriz, se creyó que el límite de detección era más alto por lo que se procedió a realizar pruebas con concentraciones mayores (60, 120 y 180 $\mu\text{g/ml}$ de los productos comerciales), se hizo una extracción exhaustiva agitando fuertemente obteniéndose manchas a lo largo de toda la cromatoplaaca sin definición alguna, ni a la altura de los estándares (esto pudo ser por la excesiva cantidad de grasa extraída al agitar muy fuertemente).

Se procedió a preparar soluciones del estándar de coumatetralil a 40, 50 y 60 $\mu\text{g/ml}$, aplicándose directamente a la cromatoplaaca como se realizó al inicio, para asegurar que si se detectaba.

El resultado fue positivo para las tres, por lo que se pensó que el error estaba en la homogenización de la matriz con el rodenticida.

Se varió levemente el procedimiento para este rodenticida, mezclando previamente el mismo con la matriz por medio de un agitador de vidrio, luego se homogenizó totalmente a través de un agitador mecánico (Vortex) por un minuto. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla No. 5: Hígado de res contaminado con Rodenticidas anticoagulantes observados a λ de 254 nm

Rodenticida Anticoagulante	Concentración	Rf de estándar	Rf de muestra	Resultado
Brodifacoum (Klerat ®)	30 μ g/ml	0.2	0.2	Positivo, mancha color marrón
Brodifacoum	30 μ g/ml	0.2	0.2	Idem
Coumatetralil (Racumín ®)	40 μ g/ml	0.6	0.6	Idem
Coumatetralil	40 μ g/ml	0.6	0.6	Idem

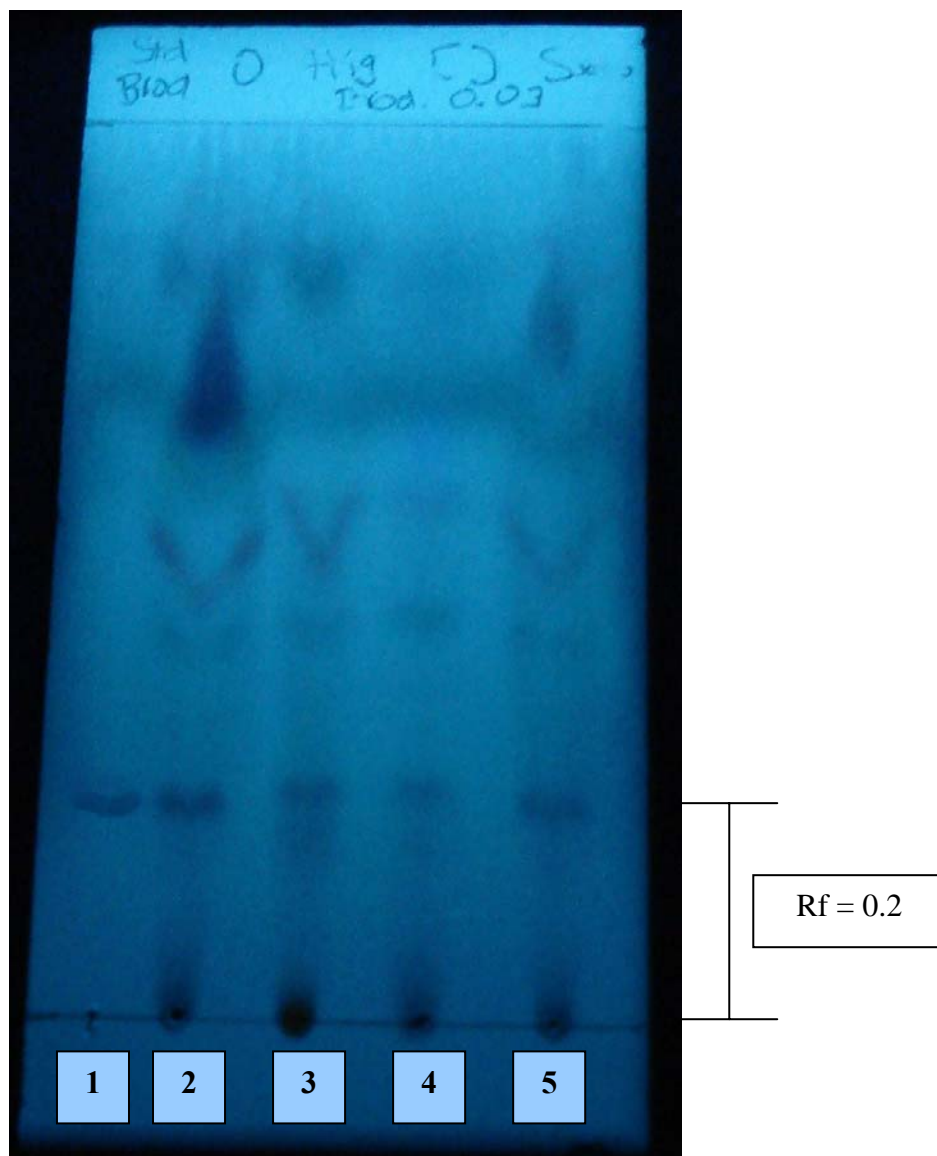
Con este tratamiento, se obtuvieron los resultados esperados a las mismas concentraciones.

En las matrices orina y suero no existió este problema debido a que son muestras líquidas que no necesitan una mezcla tan fuerte antes de la extracción con los solventes.

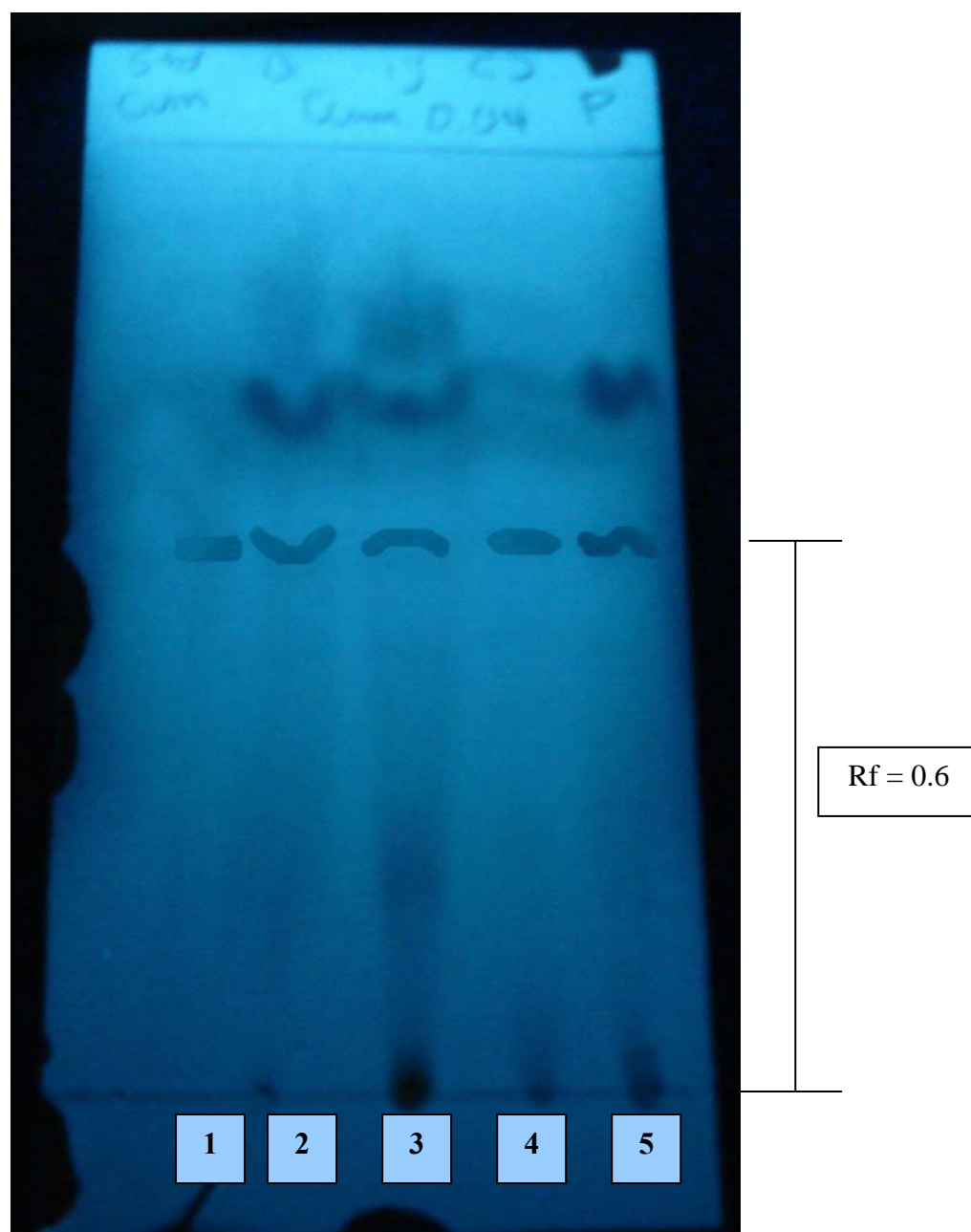
Por último, se trabajó el concentrado para animales de igual manera que las anteriores matrices a 40 μ g/ml para coumatetralil y brodifacoum con 30 μ g/ml. Siempre se compararon las matrices con los Rf de los estándares, los resultados son los siguientes:

Tabla No. 6: Concentrado para animales contaminado con Rodenticidas anticoagulantes observados a λ de 254 nm

Rodenticida Anticoagulante	Concentración	Rf de estándar	Rf de muestra	Resultado
Brodifacoum (Klerat ®)	30 μ g/ml	0.2	0.2	Positivo, mancha color marrón
Brodifacoum	30 μ g/ml	0.2	0.2	Idem
Coumatetralil (Racumín ®)	40 μ g/ml	0.6	0.6	Idem
Coumatetralil	40 μ g/ml	0.6	0.6	Idem

Fotografía No.2: Las cuatro matrices contaminadas con Brodifacoum

La fotografía No.2 muestra las manchas alineadas con el estándar, en el siguiente orden de posición (izquierda a derecha): 1) estándar de brodifacoum, 2) orina, 3) hígado, 4) concentrado para animales y 5) suero.

Fotografía No.3: Las cuatro matrices contaminadas con Coumatetralil

En la Fotografía No.3, se muestran las cuatro matrices contaminadas con coumatetralil, las manchas de las mismas se encuentran al mismo Rf que el estándar del rodenticida, en el siguiente orden de posición (izquierda a derecha): 1) estándar de coumatetralil, 2) orina, 3) hígado, 4) concentrado para animales y 5) suero.

IX. CONCLUSIONES

1. El método propuesto por Berny y colaboradores, es simple, confiable e identifica rápidamente los rodenticidas anticoagulantes en diferentes matrices.
2. Los rodenticidas anticoagulantes analizados por este método en CCF son identificados en forma específica.
3. El método es selectivo para los rodenticidas anticoagulantes y no necesita procedimientos de purificación adicionales, por lo que se eliminó las limpiezas de Sílica Gel y SEP-PAK propuestas en el protocolo.
4. Para obtener resultados altamente representativos, es indispensable observar la cromatoplaqueta el mismo día de aplicación, desarrollo y revelado.
5. El límite de detección en este método fue de 30 $\mu\text{g/ml}$ para brodifacoum y 40 $\mu\text{g/ml}$ para coumatetralil en las diferentes matrices.
6. Es necesario el uso de las cromatoplacas RP-18 _{254S} para este método debido a que son específicas para la extracción de los rodenticidas anticoagulantes.
7. Siendo la acetona un solvente altamente volátil que se evapora a temperatura ambiente, no es necesario la utilización de nitrógeno por este método, disminuyendo de esta manera los costos analíticos.
8. No es necesario utilizar un aplicador automático como en la metodología original, ya que con aplicaciones manuales se obtuvo un excelente resultado.

X. RECOMENDACIONES

1. Para una buena identificación de los rodenticidas anticoagulantes, realizar siempre blancos de las matrices comparándolos con los estándares y así evitar falsos positivos en los resultados.
2. Es necesario validar este método, para observar si los resultados se mantienen de una manera uniforme y continua.
3. Analizar este método con otros rodenticidas anticoagulantes comercializados en Guatemala.
4. Aplicar este método utilizando cromatoplasmas tipo HPTLC y revelar con luz UV a una longitud de onda de 286 nm, para observar si disminuye el límite de detección.

XI. REFERENCIAS

1. Munaiz C. 2005. Proliferan las ratas, Plaga: Vecinos de Pinula piden ayuda. PRENSA LIBRE, Guatemala, octubre. p. 8.
2. OPS. 2004. Normas terapéuticas para la intoxicación por Rodenticidas. Nicaragua. Catálogo Oficial de Registro de Plaguicidas del Ministerio de Agricultura y Forestal. Consultado el 13 de mayo de 2004. Disponible en <http://www2.ops.org.sv/plagsalud/teni/rodenticidas.pdf>
3. Baselt, R. 2000. DISPOSITION OF TOXIC DRUGS AND CHEMICALS IN MAN. 5ª Edición. E.U.A. Chemical Toxicology Institute Foster City. 882 p.
4. Kuijpers, E., et. al. 1995. A Method for the simultaneous identification and quantitation of five superwarfarin rodenticides in human serum. Journal of Analytical Toxicology. Amsterdam (Holanda). 19(7): 557 – 562 p.
5. IPCS (International Programme on Chemical Safety), INCHEM (Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations). 1995. Rodenticidas Anticoagulantes, Inglaterra, IPCS. Consultado el 21 de octubre de 2005. Disponible en <http://www.inchem.org/pages/search.html>
6. Berny, P., et. al. 1995. Anticoagulant poisoning in animals: A simple new high-performance thin layer chromatographic (HPTLC) Method for the simultaneous determination of eight anticoagulant rodenticides in liver samples. Journal of Analytical Toxicology. 19(7): 576 – 580 p.
7. Morgan, D.; 1989. Diagnóstico y Tratamiento de los envenenamientos por plaguicidas. 4ª Edición. EUA. EPA. 19-22, 119, 120, 123, 124, 126, 134, 136-138, 161 y 162 p.
8. Marques, P. 1999. Determinación de Productos Rodenticidas Cumarínicos, a propósito de dos casos de intoxicación humana aguda y de dos casos mortales de animales de raza canina. Revista de Toxicología. 16: (175).
9. Olmos, V. 2004. Cuantificación de Brodifacoum, Bromadiolone y Difenacoum en Suero Humano por HPLC con detección Ultravioleta y Fluorométrica. Publicación Oficial de la Asociación Toxicológica Argentina (ATA). 12(1): 9 – 14.
10. Estadística del CIAT. 2005. RECTOX.
11. Stahr, H. 1991. ANALYTICAL METHODS IN TOXICOLOGY. USA. John Wiley & Sons, Inc. 203 – 206 p.

12. Routt Reigart, J.; Roberts J. 1999. Reconocimiento y Manejo de los Envenenamientos por Pesticidas. 5ª Edición. EPA. 5 – 7 y 199 p.
13. Mallet, et al. 1973. Detection of Naturally Fluorescent Pesticides on Silica Gel Layers. *Journal of Chromatography*. 79 (1): 217-222 p.
14. Rodas López, E. 1987. Identificación de colorantes artificiales utilizados en caramelos típicos de Guatemala y algodones de azúcar de la Ciudad Capital usando comparativamente los procedimientos de Extracción con lana y filtro SEP PAK C18. 83 p. Tesis Licenciada en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica.
15. LaDou, J.; 1999. MEDICINA LABORAL Y AMBIENTAL. 2ª Edición. México. Manual Moderno. 622 p.
16. Cassarett & Doull. 2001. MANUAL DE TOXICOLOGÍA. 5ª Edición. E.U.A. McGraw-Hill. 654 p.
17. García, E. 2005. Urgencias en Pequeños Animales. Tu botica.net, el portal de Farmacia en la red. Consultado el 1 de agosto de 2005. Disponible http://www.tubotica.net/seccionconsejos_det.php?IdConsejo=570
18. Ladrón de Guevara, J., et. al. 1995. TOXICOLOGÍA MÉDICA CLÍNICA Y LABORAL. 1ª Edición. España. Interamericana Mc Graw – Hill. 499- 505 p.
19. Martí Mercadal J.A. et al., 2002. MEDICINA DEL TRABAJO. 2a. Edición. España. Masson. 286 – 288 p.
20. Mencías Rodríguez, E. y L.M. Mayero F. 2000. Manual de Toxicología Básica. España. Díaz de Santos. 585 y 586 p.
21. Henao, S. y Nieto O. 1999. Diagnóstico, Tratamiento y Prevención de Intoxicaciones Agudas Causadas por Plaguicidas. 3ª. Edición. INCAP-PLAGSALUD. Costa Rica. 2-11 p.
22. Leikin, J., Paloucek, F. 2002. Poisoning and Toxicology Handbook, 3rd edition, American Pharmaceutical Association, APhA, Canada, 241- 243 p.
23. Berman, J.M. 1995. Parte III: Emergencias Médicas; Sección 3.7: Rodenticidas. Estados Unidos. CASAFE. Consultado el 1 de agosto de 2005. Disponible <http://casafe.org/manual/emergenc.html>
24. Sumano, H. 1997. FARMACOLOGÍA VETERINARIA. 2ª Edición. McGraw-Hill Interamericana. México. 391, 466-469 y 560 p.

25. Córdoba, D. 2000. TOXICOLOGÍA. 4ª Edición. Colombia. Manual Moderno. 319 y 320 p.
26. Katsung, B. 2002. FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA. 8ª Edición. México. Manual Moderno. 641 p.
27. Manual de Prevención y Tratamiento de las Intoxicaciones por Plaguicidas para EPS Química Farmacéutica, USAC. CIAT. 11 p.
28. Dreisbach, R., 2002. Manual de toxicología clínica de Dreisbach: prevención, diagnóstico y tratamiento. 7ª. Edición. México. Manual Moderno. 389 – 390 y 427 – 428 p.
29. Bayer, 2001. Material Safety Data Sheet of Racumín®. Bayer Environmental Science. Alemania. Consultado el 10 de octubre de 2005. Disponible <http://www.bayercropscience.com.au/products/resources/msds/Racumin%208.pdf>
30. Dell Acqua,; Pronczuk J. 1999. Poisons information monograph, brodifacoum. IPCS. Inglaterra. Consultado el 29 de octubre de 2005. Disponible <http://www.cepis.org.pe/bvsapud/i/fulltext/brodifa77/brodifa77.htm>
31. Gennaro A. 2003. Remington Farmacia. 20ª Edición. Tomo 2. Argentina. Editorial Médica Panamericana. 708 - 712 y 2506 p.
32. Barceloux D., et. al. 1988. Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. USA. Elsevier. 1461-1463 p.
33. Ford, et al. 2001. CLINICAL TOXICOLOGY. USA. Saunders Company. 849 y 850 p.
34. Alonso. J. 1999. DICCIONARIO DE MEDICINA. Facultad de Medicina de la Universidad de Navarra. ESPASA. España. 27, 51, 70, 130, 137, 356, 437, 439, 442, 444, 456, 497, 575, 596, 603, 605, 609, 611, 642, 639, 731, 778, 864, 913, 974, 980, 1012, 1051, 1103, 1106, 1108, 1154, 1196, 1292 p.
35. Hunter, K. 1985. High-performance liquid chromatographics strategies for the determination and confirmation of anticoagulant rodenticide residues in animal tissues. Journal of Chromatography. Amsterdam (Holanda). 321(1): 255-272.
36. Dominguez, J. 1975. CROMATOGRAFÍA EN PAPEL Y EN CAPA DELGADA. México. 12 p.
37. Wallach, J. 1998. INTERPRETACIÓN CLÍNICA DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO. 3ª edición. España. Masson. 526-527 p.

38. Balcells, A. 1997. LA CLÍNICA Y EL LABORATORIO. 17ª edición. España. Masson. 200-201 p.
39. 2005. Barranco F. Capítulo 10.7: Intoxicaciones por rodenticidas: Rodenticidas Gaseosos. Uninet. Consultado el 16 de febrero de 2006. Disponible. <http://tratado.uninet.edu/c100702.html>

XII. ANEXOS

A. RODENTICIDAS

1. Generalidades:

Los rodenticidas son aquellas sustancias que tienen como finalidad la eliminación de los roedores. El envenenamiento con rodenticidas es el método más usual para control de pequeños mamíferos. Para que sea eficaz, el rodenticida debe ser atractivo para las ratas como alimento, hecho que es difícil ya que son comedores caprichosos (15).

Para que un raticida sea eficaz pero seguro, debe satisfacer los criterios siguientes: a) Ser de sabor agradable para la especie blanco, y por ende, ser potente; b) No hacer que los roedores huyan del señuelo de modo que el animal seguirá, comiéndolo; c) La muerte debe ocurrir de una manera que no suscite sospechas en los sobrevivientes; d) Debe hacer que el animal intoxicado salga hacia espacios abiertos para morir (de otro modo, los cadáveres en putrefacción crean peligros para la salud), y e) Debe ser específico para la especie, con toxicidad considerablemente más baja para otros animales que podrían consumir de manera inadvertida el señuelo o comer el roedor intoxicado (16).

Los rodenticidas comprenden sustancias de diferentes grupos tales como (19):

- Rodenticidas de Ingestión
- Rodenticidas de Contacto
- Gases Fumigantes

2. Rodenticidas de Ingestión

Un rodenticida que actúe por vía digestiva ha de ser tóxico a pequeñas dosis para los roedores, poco tóxico para el hombre y otros animales distintos de los roedores, de fácil preparación y sin peligro para que los que lo manipulan; además, ha de ser aceptado con facilidad por los roedores, sin provocar una muerte demasiado rápida y espectacular, que haría desconfiar a sus congéneres. Se utilizan mezclas de cebos (19).

Dentro de los rodenticidas de ingestión se encuentran:

- Anticoagulantes
- Origen Mineral
- Orgánicos de Síntesis
- Origen Vegetal (19)

a). Rodenticidas Anticoagulantes

Los rodenticidas anticoagulantes son los más frecuentemente empleados ya que se consideran un medio eficaz de desratización. Debido a que las ratas desarrollan resistencia a su acción, es necesario ir rotando su uso periódicamente y no utilizar concentraciones elevadas ya que exponen a mayores riesgos, más para los animales domésticos que para el hombre (18, 19).

Todos ellos actúan como antagonistas de la vitamina K, produciendo una diátesis hemorrágica (glosario) que causa la muerte del animal por hemorragias internas. El shock hipovolémico (glosario) hace que la rata salga de su guarida para beber agua, por lo que mueren fuera de los refugios. Los cadáveres de los animales, contienen anticoagulante suficiente como para que los animales que comen sus carroñas padezcan también la intoxicación (18).

Por lo general, los venenos para roedores se añaden a cebos (granos o pastas apetitosos para propiciar el consumo) (7).

En los seres humanos, es frecuente la intoxicación de los niños, que juegan o ingieren los granos envenenados, formulación más común de estos rodenticidas (18).

La seguridad para los animales y los seres humanos depende de la toxicidad de los agentes, la concentración del ingrediente activo en el cebo y la probabilidad de que las dosis tóxicas sean consumidas por especies a las cuales no se desea controlar (7).

i. Toxicidad

En general los productos warfarínicos son de baja toxicidad debido a que se necesita una ingesta grande o prolongada por varios días para poder ocasionar el efecto anticoagulante. Los productos superwarfarínicos sólo necesitan pequeñas ingestiones, una sola dosis, provoca efectos anticoagulantes severos (2).

Toxicidad oral aguda en ratas (20)

Clasificación	Rodenticida	DL ₅₀
Sustancias derivadas de la 4-hidroxycumarina (1 ^o generación)	Warfarina	Rata macho = 323 ± 70 mg/kg. Rata hembra = 58 ± 18

		mg/kg.
	Cumacoloro	400 – 1,200 mg/kg
	Cumafeno	14 – 20 mg/kg
	Cumeno	1,400 mg/kg
Sustancias derivadas de la 4-hidroxycumarina (2 ^o generación); superwarfarinas o raticidas de larga duración	Brodifacoum	0.27 mg/kg
	Bromadiolona	1.13 mg/kg
	Cumatetralilo	16.5 mg/kg
	Difenacoum	1.8 – 2.45 mg/kg
Sustancias derivadas de la indano-1,3, diona	Clorofacinona	21 mg/kg
	Difacinona	3 mg/kg
	Fenindiona	100 –200 mg/kg
	Pindona	280 mg/kg

ii. Toxicocinética y Toxicodinamia (2, 21)

- **Absorción, biotransformación y excreción:**

Las cumarinas, indandionas y otros anticoagulantes se absorben muy bien a través del tracto gastrointestinal, a los pocos minutos de ser ingeridos. Otra vía importante, especialmente para quienes preparan las formulaciones, es el tracto respiratorio. La proporción de lo que se absorbe a través de la piel intacta es muy baja.

La warfarina se metaboliza en el hígado. Estas sustancias y sus productos de biotransformación se excretan por la orina y las heces.

- **Mecanismos de acción sobre el organismo:**

Los rodenticidas warfarínicos deprimen la síntesis hepática de las sustancias esenciales para la coagulación de la sangre (protrombina o factor III y los factores VII, IX y X). Al mismo tiempo se produce un aumento de la permeabilidad capilar. El efecto definitivo de estas acciones es la inducción de una hemorragia interna generalizada.

iii. Manifestaciones Clínicas

Las manifestaciones clínicas se presentan más rápido en el caso de ingesta tóxica de warfarínicos no así con los superwarfarínicos donde los síntomas se presentan más tardíamente (2).

Se puede presentar en la intoxicación aguda: Epistaxis, gingivorragia, hematemesis, melena, hematuria, equimosis y sangrado gastrointestinal. En los casos graves se puede presentar hemorragia subaracnoidea o epidural, adrenal, articular, retroperitoneal y pericárdica (glosario) (2).

En ingestiones masivas se han identificado tiempos de protrombina prolongados (22).

No existe información disponible acerca de efectos crónicos en el organismo a causa de sustancias empleadas como rodenticidas anticoagulantes (21).

Algunos compuestos análogos a los rodenticidas cumarínicos son usados en forma terapéutica como anticoagulantes (como el dicumarol), presentándose en muchas ocasiones efectos adversos tales como trastornos gastrointestinales (especialmente diarrea), necrosis del intestino delgado, aumento de las transaminasas, urticaria, dermatitis, leucopenia y alopecia (glosario) (23).

Con las indandionas se ha observado síntomas y signos de daño neurológico y cardiopulmonar en ratas de laboratorio, por lo regular han muerto antes de que se presente la hemorragia (2).

iv. Diagnóstico

El diagnóstico se hace sobre la base de la historia de exposición, las manifestaciones clínicas de sangrado y el aumento del tiempo de protrombina (2).

El tiempo de protrombina, es un tiempo de coagulación que se utiliza para la monitorización y control de la terapéutica de anticoagulantes. Se suele expresar en porcentaje (normal entre 80-120%) y en tiempo de coagulación (normal entre 10 – 12 segundos) (37).

Si existe exposición a rodenticidas anticoagulantes, el tiempo de protrombina se prolongará disminuyendo el porcentaje de coagulación (38).

v. Antídoto

El único antídoto para los rodenticidas anticoagulantes es la vitamina K₁ (fitomenadiona) (2).

vi. Tratamiento

Si existe envenenamiento aplicar primeros auxilios y procedimientos de descontaminación.

En caso de contacto cutáneo:

Lavar la piel con agua y jabón.

En caso de contacto ocular:

Mantener los ojos abiertos y enjuagarlos con agua por lo menos 15 minutos (29).

En caso de ingesta:

Administrar jarabe de Ipecacuana; carbón activado es útil si sólo han transcurrido no más de 4 horas ; purgante salino (23).

En caso de sangrado (2):

Administrar vitamina K₁ por vía intravenosa lentamente no más de un mg por minuto disuelta en solución salina o glucosada, si no hay manifestaciones de sangrado se puede aplicar la vitamina K₁ por vía intramuscular u oral, hasta que los tiempos de protrombina retornen a la normalidad o permanezcan así.

Las dosis recomendadas son las siguientes:

Niños menores de 12 años:

Oral 5-10 mg/dosis.

Subcutánea o intramuscular: 1-5 mg/dosis.

Intravenosa: 0.6 mg/kg/día

Adultos y niños mayores

Oral 15-25 mg.

Subcutánea o intramuscular: 15-25 mg/día.

Intravenosa: 10-50 mg /día (21).

El tratamiento se ajustara de acuerdo con los tiempos de protrombina.

En casos de hemorragias severas, se debe administrar también sangre fresca o plasma.

En la terapia de recuperación se puede administrar sulfato ferroso y ácido fólico, para ayudar a restaurar la masa de eritrocitos perdidos.

vii. Pronóstico

Se considera un buen pronóstico si las hemorragias subdurales (glosario) o las lesiones vasculares en otros tejidos no dejan secuelas (2).

Importante:

- En caso de intoxicaciones con rodenticidas anticoagulantes, se recomienda evitar golpes, para prevenir la formación de hematomas superficiales o profundos.
- NO administrar vitamina K₃ o vitamina K₄.
- En cualquier caso observar a la persona afectada durante 4-5 días (23).

Formas disponibles de Rodenticidas Anticoagulantes (33)

Rodenticida	Concentración	Forma
4-Hidroxicumarina		
Brodifacoum	0.005 %	Cebo
Bromadiolona	0.005 %	Cebo
Difenacoum	0.005 %	Cebo
Coumatetrailo	0.005 %	Polvo, Cebo, Pasta
Indandionas		
Clorofacinona	0.005 %, 0.25 %, 2.5 %	Cebo Solución Concentrado
Difacinona	0.005, 0.05, 0.1, 0.2 % y 2 %	Torta Cebo Concentrado
Pindona	0.025, 0.1, 0.2, 0.5 % 0.5, 1.5, 2.0 %	Polvo Concentrado

viii. Intoxicaciones en animales (17, 24)

Según el tipo de raticida ingerido, el animal puede presentar desórdenes en la coagulación, problemas neurológicos, problemas gastrointestinales o infarto de riñón. En algunos casos resulta fatal y acaba con la muerte del animal.

Al sospechar ingesta del raticida por parte del animal, observarlo y buscar síntomas guías que nos ayuden a actuar con la mayor rapidez posible, como son: Depresión, somnolencia prolongada y profunda, pérdida de apetito, vómitos, diarrea, incoordinación motora, dificultad respiratoria, excitación a la luz, tacto o al ruido, incremento de las micciones y coma.

El tratamiento a tiempo es vital en estos casos. Por lo que es necesario llevarlo lo más pronto posible al veterinario, quién hará al animal un test de diagnóstico, que debe incluir:

- Análisis completo de sangre.
- Estudio bioquímico del suero.
- Análisis de orina.
- Examen del contenido gástrico.
- Recuento de plaquetas.
- Tiempo de coagulación.
- Recuento de Reticulocitos (glosario).

La terapia del envenenamiento por raticidas varía en función de la clase, la cantidad ingerida y el tiempo transcurrido desde la ingestión.

Un ejemplo de Protocolo a seguir por parte del veterinario, en caso de sospecha de ingestión, es el siguiente:

- Si la ingestión fue reciente, provocar el vómito.
- Lavado de estomago.
- Soluciones Hidroeléctricas como lo son: Solución Salina 0.9, Dextrosa al 5 %, Hartmann, Ringer Lactato y Bicarbonato de Sodio.
- Sustancias anticonvulsionantes como el pentobarbital sódico.
- Relajantes musculares como lo son: Bromuro de pancuronio, bromuro de vecuronio y besilato de atracurio.
- Sustancias para tratar el infarto de riñón como la dopamina y furosemida.
- Sustancias para reducir la frecuencia respiratoria como el manitol y esteroides.
- Vitamina K₁

Toxicidad oral aguda (DL₅₀) en perros (20)

Raticida y su concentración (%)	DL ₅₀ (mg/kg) del producto activo	Cantidad de formulado ingerido para producir DL ₅₀ en perro de 10 Kg
Warfarina 0.025	20 – 50	400 g
Warfarina 0.05	200 – 300	6 g
Brodifacoum 0.005	0.25 – 3.6	50 – 720 g
Bromadiolona 0.005	11 – 20	2.2 – 4.0 g
Clorofacinona 0.005	50 – 100	10 – 20 kg
Difacinona 0.005	0.88 – 7.5	176 – 3,000 g
Pindona 0.025	4 – 100	160 – 4,000 g
Difetialona 0.0025	4	1.600 g

ix. Productos anticoagulantes

- **Warfarina**

Descripción:

Desde el punto de vista de la toxicología, la warfarina, que pertenece al grupo de las hidroxycumarinas, se comercializa como rodenticida, en concentraciones de 0.25 y 0.50 %, además, se utiliza como antitrombótico en seres humanos (25, 26).

La seguridad de la warfarina como un raticida se fundamenta en los siguientes hechos: Se requieren muchas dosis antes que aparezca toxicidad, y de que las dosis únicas tienen poco efecto (16).

Mecanismo de Acción:

La warfarina inhibe la formación de la protombina (27). Pág. 32.

Toxicidad:

Pág. 31.

Datos Clínicos: (28)

La principal manifestación de la intoxicación es la hemorragia. Existen hemoptisis, hematuria, heces sanguinolentas, hemorragias en órganos, equimosis generalizadas y hemorragia hacia espacios articulares (glosario).

Datos de Laboratorio (28):

La concentración de protombina disminuye después del uso de la warfarina. Se deben medir los niveles de hemoglobina y efectuar pruebas de sangre en heces e identificación del analito por CCF (11).

Antídoto

Vitamina K₁. Dosis: Pág.: 34.

- **RACUMIN® (29)**

Descripción:

Es un rodenticida anticoagulante de primera generación de tipo warfarínico, cuyo principio activo es el coumatetralil.

Mecanismo de Acción:

Disminución de la síntesis de protrombina. Pág. 32.

Toxicidad:

Pág. 31.

Datos Clínicos:

Síntomas con trastornos de coagulación de la sangre, incluyen sangrado de encías. Después de una exposición, la toxicidad del coumatetralil es relativamente baja, porque la sustancia activa es rápidamente metabolizada. Si la exposición continúa por varios días el producto se convierte en más tóxico.

Tratamiento:

Pág. 34.

- **KLERAT® (30)**

Descripción:

Es un raticida cumarínico, cuyo principio activo es el Brodifacoum. Este producto pertenece a la familia de las "superwarfarinas", raticidas con propiedades anticoagulantes de segunda generación. Este compuesto, y otros de estructura química parecida tales como la bromadiolona, el difenacoum, y la clorofacinona son productos de síntesis desarrollados para combatir las resistencias a las warfarinas por los roedores. Es un raticida, que se expende como gránulos y bloques para cebos (31).

Mecanismo de Acción:

Las propiedades anticoagulantes del brodifacoum, como las de la warfarina, se deben a su acción inhibitoria de la reducción de la vitamina K₁. Esta, en forma reducida, es necesaria para la formación de protrombina. Actúa inhibiendo la reductasa epóxida de la vitamina K₁, impidiendo el ciclo de regeneración de la misma.

A pesar de la similitud en el mecanismo de acción respecto a las warfarinas, el Brodifacoum es cinco veces más potente, como anticoagulante.

Toxicidad:

La alta toxicidad del producto se debe a:

- Una vida media bastante larga (24 días, aproximadamente)
- Su gran volumen de distribución (seis veces más alto que el de la warfarina);
- Un aclaramiento plasmático muy bajo, probablemente porque la droga posee un circuito entero-hepático.

Datos Clínicos:

En la intoxicación aguda, la coagulación disminuirá provocando sangrado en encías, epistaxis, equimosis, melena y hematuria (glosario). El diagnóstico está basado en la historia de exposición (generalmente por la ingestión del rodenticida); la evidencia clínica de sangrado, la cual puede aparecer varios días después de la exposición; y un tiempo de protrombina anormal. Entre los análisis biomédicos más relevantes, están: Estudios de coagulación, tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA).

Antídoto:

Pág. 34.

b). Rodenticidas de origen mineral

Se clasifican en:

i. Fósforo: Su toxicidad es debida al anión. Dentro de estos tenemos: Fósforo blanco; fosfuro de cinc y fosfuro de aluminio, quienes liberan fosfina al contacto con la humedad, tienen efecto en el sistema nervioso central y son hemolíticos (19, 27). Aunque éstos emiten un olor desagradable a pescado podrido, los roedores lo aceptan (16). El fósforo blanco es corrosivo a la piel. Los síntomas luego de una ingestión pueden aparecer desde unos minutos hasta las 24 horas posteriores a la misma, entre ellos tenemos: Dolor quemante en garganta, pecho y abdomen, lo cual refleja una lesión severa en la mucosa. Por lo general, estos síntomas son seguidos de vómito y diarrea. Sin embargo, en algunos casos los primeros síntomas son letargo (glosario), inquietud e irritabilidad, seguidos de síntomas de lesión gastrointestinal. El fosfuro de cinc es mucho menos irritante para la piel y las membranas mucosas que el anterior, es importante tener gran cuidado para evitar la inhalación del polvo, el cual puede producir edema pulmonar. Provoca náuseas y vómitos, excitación, escalofríos, opresión en el pecho, disnea y tos. El fosfuro de aluminio provoca fatiga, náusea, dolor de cabeza, mareo, sed, tos, respiración entrecortada y parestesia (glosario).

Tratamiento General:

En contacto cutáneo: Cepillar o raspar el fósforo que esté sobre la piel y lavar las quemaduras con cantidades abundantes de agua, asegurarse que todas las partículas de fósforo sean eliminadas (7,32). Si es ingerido, el lavado gástrico debe hacerse con sorbitol, bicarbonato sódico al 3 ó 5 % (neutraliza el ácido gástrico) o con una solución de permanganato potásico al 1: 5000 que oxida el fósforo a fosfatos.

ii. Talio y sus sales:

Su toxicidad es debida al catión sobre todo el sulfato y el acetato. El sulfato de talio, provoca una sed intensa a las ratas. Su mecanismo de acción es a nivel celular (27). Son muy tóxicos y peligrosos, ya que su carácter inodoro e insípido facilita las ingestiones accidentales; la intoxicación se traduce en graves alteraciones nerviosas

(polineuritis), gastrointestinales, renales y azoemia (glosario) y una alopecia secundaria característica (19).

Tratamiento General: Administrar jarabe de ipecacuana si no ha transcurrido más de 4 horas de la ingestión y si el paciente está totalmente alerta, seguido de 1 ó 2 vasos de agua. Dosis: adultos 30 ml; niños 15 ml (7, 32).

iii. Carbonato de bario:

Menos tóxico que el anterior y de acción irregular, es un anticonvulsivante que tiene una acción estimulante directa sobre el músculo (27). Al ingerirse provoca graves alteraciones digestivas, neuromusculares y cardiovasculares (19). Al igual que el talio, provoca una sed intensa en las ratas envenenadas, que salen de sus escondites para beber agua, debido a esto favorece la intoxicación de animales domésticos (18).

c). Rodenticidas orgánicos de síntesis:

Entre estos se encuentran:

i. Derivados de cresoles y fenoles nitrados: Rodenticidas de escaso valor.

ii. Alfa-naftiltiourea: Aumenta la permeabilidad y daño capilar pulmonar, causando edema pulmonar. DL₅₀: 50- 500 mg/kg. Dosis Fatal: Mayor a 4 g/kg. El Antu tienen el inconveniente de crear habituación en la rata, motivo por el cual ha disminuido sensiblemente su aplicación. La intoxicación puede provocar disnea, hipotermia y cianosis (glosario). Tratamiento: Émesis o lavado gástrico seguido de carbón activado, si el tiempo transcurrido no es más de 4 horas y catarsis (32).

iii. Monofluoracetato de sodio o 1080:

Es un inhibidor de las enzimas que participan en la respiración celular (27). Polvo blanco, inodoro e insípido que se emplea a concentraciones del 2 – 5 % en solución acuosa para la confección de cebos; eficaz en ratones y ratas. Es sumamente tóxico para el hombre y animales domésticos, al ingerirse puede provocar ocasionando alteraciones neuromusculares con convulsiones que pueden conducir al coma, con frecuencia se asocian alteraciones gastrointestinales graves (19).

Tratamiento: El primer paso es eliminar el tóxico del intestino, sin embargo, si la víctima presenta convulsiones, es necesario controlarlas antes de realizar lavado gástrico y catarsis (32).

iv. Fluoroacetamida: Tres o cuatro veces menos tóxica que el 1080 (8).

d) Rodenticidas de origen vegetal:

Entre estos se encuentran:

i. Escila roja marítima: Se utiliza a concentraciones del 10 %. El principio activo está constituido por una mezcla de heterósidos (glosario) de tipo digitálico y las escilarinas (glosario) extraídas del bulbo de la planta. Es un raticida selectivo y poco tóxico para el hombre. Tiene la ventaja de evitar la putrefacción de los cadáveres de ratas. La ingestión accidental de grandes dosis ha provocado en niños intoxicaciones caracterizadas por trastornos digestivos (vómitos, diarreas), neuromusculares, cardíacos (alteraciones del ritmo cardíaco).

Tratamiento: Probablemente no necesite tratamiento alguno, por su efecto emético intenso, si por alguna razón, la escila roja es retenida, se debe administrar jarabe de ipecacuana, seguido de uno o dos vasos con agua para iniciar el vómito (12).

ii. Estricnina (28)

Mecanismo de Acción Tóxico:

Esta sustancia produce un aumento importante en la excitabilidad refleja (glosario) de la médula espinal; esto conduce a la pérdida de la inhibición normal de las células motoras, que ocasiona contracción simultánea de todos los músculos.

Datos clínicos:

Las principales manifestaciones de la intoxicación aguda por estricnina son convulsiones.

Intoxicación aguda:

Después de la ingestión, la estricnina intensifica los reflejos tendinosos profundos (glosario). Después aparece rigidez en las rodillas. Enseguida se observan espasmos (glosario) aislados de músculos extensores en brazos y piernas. Conforme la intoxicación evoluciona, los espasmos se vuelven cada vez más

intensos y frecuentes, hasta que el paciente parece estar en opistótonos (glosario) continuo.

Datos de Laboratorio:

La estricnina se identifica en el líquido de lavado gástrico o vómito con las pruebas apropiadas.

Tratamiento:

Administrar diazepam, 0.05 a 0.1 mg/kg por vía IV y repetir cuando sea necesario.

3. Rodenticidas de Contacto (7)

Se trata de polvos tóxicos, insípidos, que se depositan en los lugares de paso de los roedores, se adhieren por contacto a las patas, cola o piel, y los animales los ingieren al lamerlos, pero su acción radica en la vía digestiva (19).

a). Alfa-naftiltiourea o Antu: Pág. 41.

b). Norbonamida (dicarboximida):

Es un compuesto orgánico sintético, a las ratas les causa una intensa vasoconstricción generalizada que conduce a la muerte por anoxia tisular (glosario) (7). Su mecanismo de acción tóxico es vasoconstricción e isquemia en las ratas. Se utiliza en forma de polvo. DL₅₀: 50- 500 mg/kg. Las manifestaciones son: Hipotermia transitoria e hipotensión con dosis mayores a 300 mg. Tratamiento: Émesis o lavado gástrico seguido de carbón activado y catarsis, si el tiempo transcurrido no es más de 4 horas (32).

c). Insecticidas organoclorados (7):

Entre estos están: DDT o clorfenotano (dotado de una eficacia notable en el ratón), toxafeno y endrina. Las manifestaciones iniciales del envenenamiento son alteraciones sensoriales: hiperestesia (glosario) y parestesia de la cara y extremidades. También se ha informado dolor de cabeza, mareo, náusea, vómito, incoordinación, temblor y confusión mental. El envenenamiento más severo causa movimientos espasmódicos seguido de convulsiones clónico-tónicas generalizadas. El tratamiento es sólo sintomático.

4. Gases Fumigantes (7)

Constituye un medio radical pero inespecífico de destruir todas las especies de roedores domésticos, así como los parásitos que albergan. Los más empleados son:

a). Ácido cianhídrico o cianuro de hidrógeno gaseoso: Causa envenenamiento por inactivación de la citocromo oxidasa, la enzima esencial para la respiración celular de los mamíferos. Al parecer, las células del cerebro son las más vulnerables a la acción de éste. Cuando se inhala una alta concentración, aparecen convulsiones tónico-clónicas violentas y la muerte puede sobrevenir de inmediato, siendo la parálisis respiratoria el principal mecanismo responsable. Exposiciones menores causan contracción y entumecimiento de garganta, rigidez de la mandíbula, salivación, náusea, vómito y mareo. Una señal de envenenamiento es el olor a almendras en el vómito.

b). Cloropicrina: Tiene un fuerte olor y es un fuerte irritante de las vías respiratorias superiores, ojos y piel. Se formula con bromuro de metilo como rodenticida (39).

c). Bromuro de metilo: Se encuentra prohibido en algunos países, debido a su alta toxicidad. La fumigación con este, es eficaz contra las ratas, por lo que se emplea en la protección general contra parásitos de granos almacenados (18). Luego de una exposición, se manifiesta irritación, salpullidos, ampollas en la piel y en los ojos se presenta conjuntivitis (irritación de las membranas mucosas y lagrimeo). Su empleo está contraindicado en presencia de alimentos.

El tratamiento en general para los fumigantes es el siguiente: Lavar la piel y los ojos contaminados con cantidades abundantes de agua o solución salina, por lo menos durante 15 minutos. Trasladar de inmediato al paciente a una zona donde haya aire fresco y atención médica.

GLOSARIO (34)

- **Alopecia:**
Calvicie, deficiencia natural o anormal del cabello.
- **Anoxia tisular:**
Ausencia de oxígeno. Cuando no existe aporte de oxígeno a los tejidos, o se realiza en cantidad insuficiente.
- **Azoemia:**
Elevación de la urea o de nitrógeno ureico y de la creatinina sérica, producidos en el hígado y en el metabolismo muscular, respectivamente, por una disminución del filtrado glomerular.
- **Cianosis:**
Coloración levemente azulosa o de color púrpura oscura de la piel y las mucosas, a causa de una deficiencia de oxígeno.
- **Dermatitis:**
Inflamación de la piel.
- **Diátesis Hemorrágica o Hemofilia:**
Tendencia congénita y hereditaria a las hemorragias espontáneas y traumáticas, por la deficiente coagulabilidad de la sangre; es exclusiva del sexo masculino, pero se transmite por la madre.
- **Disnea:**
Sensación subjetiva de falta de aire o de dificultad respiratoria.
- **Edema Pulmonar:**
Acumulación anormal de líquido intersticial en los espacios tisulares y alvéolos pulmonares, a causa de aumento en la permeabilidad o presión de los capilares pulmonares.
- **Eosinofilia:**
Formación y acumulación de un número extraordinario de células eosinófilas en la sangre; presencia de numerosos leucocitos eosinófilos en un exudado.
- **Epistaxis:**
Hemorragia por las fosas nasales.

- **Equimosis:**
Extravasación de la sangre en el interior de los tejidos. Coloración de la piel producida por la infiltración de sangre en el tejido celular subcutáneo o por la rotura de los vasos capilares subcutáneos.
- **Escilareno:**
Mezcla de glucósidos de la escila de acción diurética y tonicardíaca análoga a la de la digital.
- **Espasmo:**
Contracción muscular violenta, mantenida y dolorosa, en un músculo o grupos musculares, de etiología y fisiopatología.
- **Excitabilidad refleja:**
Irritabilidad, facultad de responder a un estímulo.
- **Gingivorragia:**
Hemorragia de las encías.
- **Hematemesis:**
Vómito de sangre.
- **Hematuria:**
Emisión por la uretra de sangre pura o mezclada con la orina.
- **Hemoptisis:**
Expulsión de sangre procedente del árbol respiratorio.
- **Hemorragia:**
Salida o más o menos copiosa de sangre de los vasos por rotura accidental o espontánea de estos.
- **Heterósido (Glucósido):**
Principio vegetal que puede descomponerse en glucosa y otro principio por la influencia de ciertos fermentos, de ácidos o de álcalis.
- **Hiperestesia:**
Trastorno de la percepción que consiste en una distorsión sensorial por un aumento de la intensidad de las sensaciones, en el que los estímulos, incluso los de baja intensidad, se perciben de forma anormalmente intensa.
- **Hipotermia:**
Temperatura corporal anormalmente baja.
- **Letargia:**

Estado de somnolencia o estupor profundo.

- **Leucopenia:**

Reducción del número de leucocitos en la sangre por debajo de 5,000.

- **Melena:**

Expulsión de sangre alterada por el ano, sola o con heces consecutivas.

- **Micción:** Acto de expulsar la orina de la vejiga urinaria.

- **Opistótonos:**

Posición de hiperextensión corporal debida a un espasmo muscular intenso de los músculos erectores espinales, y prolongado, que hace que la espalda se arquee de forma marcada, la cabeza se desplace hacia atrás sobre el cuello, los talones se inclinen posteriormente sobre las piernas y los brazos y las manos se flexionen.

- **Parestesias:**

Sensación anormal de hormigueo, ardor, etc., que experimenta la piel.

- **Polineuritis:**

Inflamación simultánea de varios nervios.

- **Reflejo tendinoso:**

Reflejo en el que intervienen solo dos neuronas, que consiste en la respuesta involuntaria a un estímulo sensorial.

- **Recuento de reticulocitos:**

Examen de laboratorio que mide el índice de eritropoyesis y evalúa la respuesta de la médula ósea ante la anemia o para vigilar el tratamiento de anemia.

- **Rf (Razón de frentes):** Es la distancia recorrida por el sustrato dentro la distancia recorrida por el disolvente (36).

- **SEP-PAK:** Es un filtro que contiene sílica gel químicamente tratada con octadecilsilano (ODS), muy importante para la purificación de las muestras (14).

- **Shock hipovolémico:**

Estado de shock causado por una falta de volumen intravascular, generalmente como consecuencia de una hemorragia aguda.

- **Urticaria:**

Afección cutánea caracterizada por la erupción súbita de placas o ronchas ligeramente elevadas de forma y dimensiones variables, acompañadas de prurito intenso.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS (6)

- **Solución patrón de Rodenticida Brodifacoum 1 mg/ml:** En un balón aforado de 10 ml, disolver 10 mg de brodifacoum en 10 ml de cloroformo y agitar bien.
- **Solución patrón de Rodenticida Coumatetralil 1 mg/ml:** En un balón aforado de 10 ml, disolver 10 mg de coumatetralil en 10 ml de metanol y agitar bien.
- **Solución Estándar de Rodenticida Brodifacoum 30 µg/ml:** En beacker de 10 ml, medir un ml de cloroformo y agregar 30 µl de la solución patrón brodifacoum 1 mg/ml y agitar.
- **Solución Estándar de Rodenticida Coumatetralil 40 µg/ml:** En un beacker de 10 ml, medir un ml de metanol y agregar 40 µl de la solución patrón coumatetralil 1 mg/ml y agitar.
- **Ácido Fosfórico 4.72 M:** Tomar 8.1 ml de ácido fosfórico al 85 % y aforar en un balón de 25 ml con agua destilada y agitar bien. Nota: Tomar en cuenta que es una reacción exotérmica, por lo que el balón debe tener un poco de agua destilada y luego se le agrega el ácido.
- **Metanol/Ácido Fosfórico 9:1:** Tomar 9 ml de metanol y 1 ml de Ácido Fosfórico en una probeta de 10 ml y agitar bien.

FOTOGRAFÍAS



Productos comerciales utilizados



Centrífuga



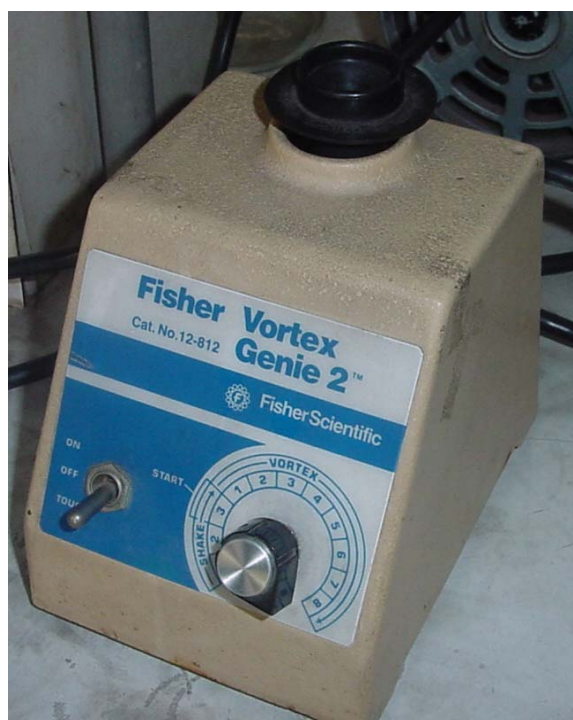
Lámpara UV de longitud de onda corta (254 nm)



Cuatro matrices (concentrado para animales, suero, orina e hígado de res)



Baño seco de temperatura controlada con bloques calefactores



Agitador eléctrico



Cromatoplasas RP - 18 F_{254s} de 5 x 10 cm con indicador de fluorescencia



Aplicación manual sobre la cromatoplaaca



Cromatoplaacas recién aplicadas

Plaga Vecinos de Pinula piden ayuda

Proliferan las ratas

POR CLAUDIA MUNAIZ/PERIODISMO COMUNITARIO

En la colonia Santa Sofía, San José Pinula, las ratas son un dolor de cabeza para los vecinos, quienes han recurrido a todos los métodos para tratar de erradicarlas, sin éxito. Los ministerios de Salud y de Agricultura dijeron que tomarán medidas al respecto.

"Son enormes, parecen tacuacines. Se meten en los cajones y lo muerden todo. Echamos veneno, pero se muere entre las láminas y eso desprende mal olor", expresó Zola Mirtala Lemus, quien vive con sus cuatro hijos desde hace seis meses en una casa de lámina, en la ladera de un cerro.

La plaga ha aumentado porque las intensas lluvias de los últimos días han abierto hoyos en el cemento, entre la madera, la basura, el río y los campos de trigo seco.

Los vecinos afirmaron que los roedores "se cueclan" en las casas de madrugada, por lo que temen enfermedades.

"Ya hemos matado siete en el último mes. Tenía un gato que las perseguía, pero se ha ido", relató Mirna de Rodríguez.

En su vivienda y en la de sus hermanas, los roedores han mordido enseres, madera y asustan a

los niños. "En la madrugada, se oye cómo se agarran a todo", añadió De Rodríguez.

En la colonia Santa Sofía, San José Pinula, las autoridades de Salud han verificado la existencia de roedores en los campos aledaños. "Hemos ido a comprobar unas denuncias de vecinos", indicó Rony Contreras, coordinador de gestión de riesgos del Ministerio de Salud.

Esa cartera ha tomado las medidas de prevención necesarias y ha informado a la población de que coordina con el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (Maga) la fumigación para erradicar la plaga.

"Las ratas buscan lugares secos y calientes. Son ratas de campo, que son más peligrosas porque pueden transmitir rabia o peste bubónica, a través de la orina o por mordedura", afirmó Contreras.

Amenaza

La rata de campo es un roedor de mediano tamaño, de unos 300 gramos de peso.

Las ratas ocasionan
Pérdidas económicas en la agricultura, alimentación e industria.

Propagan enfermedades que afectan al hombre.

Entre éstas:

- Leptospirosis
- Salmonelosis
- Peste bubónica
- Tifus
- Rodentiosis
- Melioidosis
- Fiebre
- Dermatofitosis
- Coriomeningitis linfocitaria

Reproducción
Una sola pareja de ratas puede procrear a unos **35,000** ratones al año, pues su período de gestación es de 27 días y las camadas de unos 12 ratones.



Hábitat

Los roedores proliferan por las lluvias, viven en madrigueras en el campo, en tragan-tés y lugares más rurales y menos urbanizados.



¿Cómo acabar con ellas?
Veneno doméstico
Fumigación industrial
Limpieza con cloro



Las vías de transmisión son

- Orina del animal
- Mordedura
- Contacto
- Pulgas



Br. María Isabel Minera Baldizón
Autora

Licda. Mayté Donis de Recinos
Asesora

Licda. Carolina Guzmán de Meléndez
Revisora

Licda. Lillian Irving Antillón, M.A.
Directora

Dr. Oscar Cobar Pinto, Ph. D.
Decano

