



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

Índice

Resumen/Abstract	P. 3
Justificación y objetivos	P. 4
Metodología	P. 4
1. Estructura química y origen de los plaguicidas organofosforados	P. 5
1.1. Carbamatos	P. 5
1.2. Organofosforados	P. 6
2. Impacto medioambiental	P. 8
2.1. Uso como plaguicida	P. 8
2.2. Persistencia en el medio ambiente	P. 9
2.3. Intoxicaciones y envenenamientos en especies no diana	P. 9
3. Vías de entrada al organismo e importancia de la etología	P. 10
4. Toxicodinamia	P. 11
4.1. Diferencias entre especies y tipos de enzimas	P. 12
5. Toxicocinética	P. 13
5.1. Hidrólisis enzimática	P. 13
5.2. Papel de las fosfotriesterasas	P. 14
6. Clínica	P. 15
6.1. Síndrome muscarínico	P. 15
6.2. Síndrome nicotínico	P. 16
6.3. Síndrome neurológico	P. 16
6.4. Importancia de la liposolubilidad	P. 17
7. Tratamiento	P. 17
7.1 Tratamiento sintomático	P. 17
7.2. Tratamiento etiológico con oximas	P. 18
8. Prevalencia de las intoxicaciones en la Comunidad Autónoma de Aragón	P. 21
8.1. Sesgo en el muestreo de las intoxicaciones	P. 21

8.2. Intoxicaciones según el tipo de compuesto	P. 22
8.3. Intoxicaciones según la especie afectada	P. 24
8.4. Intoxicaciones por año de ingreso	P. 25
8.5. Estado de los animales al ingresar	P. 26
Conclusiones/Conclusions	P. 28
Valoración personal	P. 30
Bibliografía	P. 31

Resumen

Los plaguicidas inhibidores de la acetilcolinesterasa son compuestos químicos de dos tipos: organofosforados y carbamatos. Son productos que históricamente se han empleado para el control de los insectos en agricultura, y en ganadería como antiparasitarios, aunque algunos de ellos estén prohibidos actualmente en Europa por su impacto sobre el medio ambiente y la salud humana. Además de afectar a insectos benéficos para el ecosistema, hay especies de animales silvestres que se ven frecuentemente intoxicadas por este tipo de productos, y hasta un 78,3% de todos los casos en España son envenenamientos deliberados. En este trabajo se ha hecho una revisión bibliográfica sobre la composición química de estas moléculas, su impacto medioambiental, las vías de entrada en animales salvajes, la toxicodinamia, la toxicocinética, los síntomas clínicos y su posible tratamiento. Posteriormente, con datos cedidos por el *Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de la Alfranca (Gobierno de Aragón)*, se ha realizado un breve análisis sobre 249 casos positivos a este tipo de tóxicos llegados entre 1994 y 2016, clasificados por tipo de químico e incidencia, clasificada por especie y por año.

Abstract

Acetylcholinesterase inhibitors pesticides are chemical compounds that can be divided in two types: organophosphates and carbamates. These are products that have been historically used as pest control in agriculture, and to fight parasites in cattle, although some of them are forbidden of use in Europe due to its impact in the environment and the human health. In addition to affecting beneficial insects, many wildlife species are frequently intoxicated by these compounds, and up to 78,3% of the cases in Spain are deliberate poisonings. This piece of work consists in a bibliographic review about chemical composition of these molecules, its impact on the environment, its entry on the animals affected, toxicodynamics, toxicokinetics, clinical signs and its possible treatments. Afterwards, with data obtained from the *Alfranca* wildlife rescue center (*Government of Aragón*), a brief analysis about 249 positive cases arrived between 1994 and 2016 has been done, taking into account the type of compound and incidence by species and by year.

Justificación y objetivos

Las intoxicaciones en Fauna Silvestre no son una causa importante de ingreso de animales en centros de recuperación, pero es importante tener en cuenta que la gran mayoría son envenenamientos deliberados. Es por esto que son muertes evitables, y en este trabajo se pretende estudiar el impacto que estos tóxicos tienen sobre el ecosistema para recalcar su importancia. Se parte de la idea de que todo ser vivo que forma parte de un ecosistema tiene su importancia, por sí mismo y por la relación que tiene con ese medio. Los plaguicidas afectan negativamente al medio ambiente de varias formas, y este trabajo versará sobre las muertes directas de animales, una pequeña pero importante parte del gran impacto que los tóxicos realizan.

Los objetivos de este trabajo son realizar una revisión bibliográfica acerca de la historia, la composición química, el impacto medioambiental, las vías de entrada al organismo, la toxicodinamia, la toxicocinética, la clínica y los posibles tratamientos. En segundo lugar, se recopilarán datos del Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de la Alfranca del Gobierno de Aragón acerca del número de animales intoxicados que han ingresado en el centro clasificados por especie, año de entrada y tóxico detectado en el laboratorio. Con ellos se realizará un análisis para determinar su incidencia estimada y valorar qué tipo de especies son más afectadas y por qué, con el fin último de dar voz a un problema que no representa un elevado porcentaje de los ingresos anuales, pero que serían totalmente evitables si no se emplearan cebos envenenados.

Metodología

Para realizar este trabajo, se han empleado artículos científicos, tesis doctorales e informes encontrados en internet, a través de buscadores como Google y Google Académico o de bases de datos como PubMed. También se han empleado libros, todos ellos de la biblioteca de la Universidad de Zaragoza.

En cuanto a la segunda parte del trabajo, todos los datos que se han utilizado provienen del Centro de Recuperación de Fauna Salvaje de la Alfranca, perteneciente al Gobierno de Aragón. Se han obtenido con colaboración de Manuel Alcántara de la Fuente, jefe del servicio de biodiversidad del Gobierno de Aragón, y Javier González Esteban, veterinario responsable del Centro y cotutor de este trabajo.

1. Estructura química y origen de los plaguicidas organofosforados

Los plaguicidas inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) son un grupo de plaguicidas que se incluyen en un mismo grupo debido a su mecanismo de acción: ambos actúan sobre la enzima encargada de la degradación de la acetilcolina (ACh). Existen dos tipos de compuestos en este conjunto: los organofosforados (OP) y los carbamatos (Moreno, 2003).

1.1. Carbamatos

Los carbamatos están muy relacionados con un alcaloide natural llamado fisostigmina (Fig. 1), conocido por sus propiedades anticolinesterásicas y procedente del Haba del Calabar (*Physostigma venenosum*) (Garrido-Lestache *et al*, 1988). Esta planta típica de África Oriental con hojas lanceoladas puede alcanzar hasta los quince metros de altura, y produce unas vainas aplanadas de unos 15 centímetros, dentro de las cuales hay hasta tres semillas de gran tamaño. En estas semillas se encuentran compuestos alcaloides, entre los cuales está la fisostigmina (Starý, 1995). La síntesis de los primeros compuestos carbámicos data de los años 30, y consisten todos ellos en ésteres del ácido metil carbámico (Fig. 1), análogo estructural de la fisostigmina.

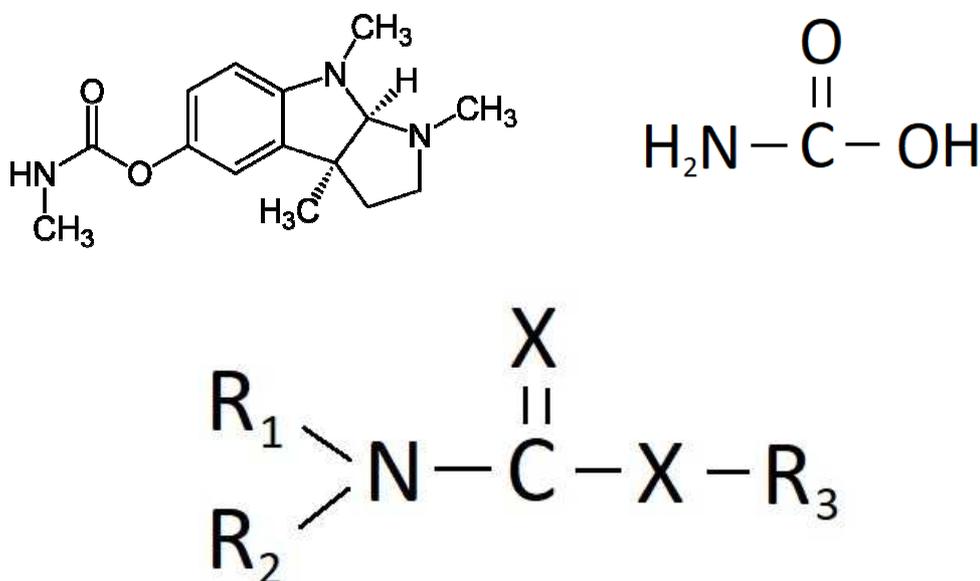


Fig. 1. Estructura molecular de la fisostigmina (izquierda), del ácido carbámico (derecha) y fórmula general de los plaguicidas carbamatos (abajo) (Sogorb *et al*, 2002; Moreno, 2003)

Dentro de la estructura general de los carbamatos, los radicales X pueden ser oxígeno o azufre. En cuanto a los R1 y R2, normalmente pertenecen a compuestos orgánicos, pero también pueden sustituirse por un átomo de hidrógeno. R3 puede ser un compuesto orgánico igualmente, pero también un metal. En función de las moléculas que se unen al ácido carbámico, el plaguicida resultante tendrá actividad insecticida, herbicida o fungicida (Sogorb *et al*, 2002). La gran mayoría de los carbamatos son N-metilcarbamatos, pero también hay de otros tipos, como N-dimetilcarbamatos, N-Fenilcarbamatos o N-Alquilcarbamatos. Los compuestos más utilizados son aldicarb, carbaril y carbofurano (Garrido-Lestache, 1988; Klaasen, 2013). Destaca el aldicarb sobre los demás, ya que ha sido el carbamato más utilizado para envenenamientos en fauna silvestre en España. Se encontró en un 50% de los cebos envenenados en España entre 2005 y 2010 (de la Bodega, 2012), y está prohibido su uso como fitosanitario por su elevada toxicidad y efectos sobre el medio natural. Hay algunos carbamatos que no tienen acción anticolinesterásica (Errecalde, 1989).

1.2. Organofosforados

En cuanto a los organofosforados, el estudio de las moléculas orgánicas con fósforo comenzó en 1820 con Lassaigne (Badii *et al*, 2008), previamente a su uso como pesticidas. Durante la Segunda Guerra Mundial se emplearon compuestos precursores a los OP a modo de arma química, que poseían propiedades tóxicas mayores, y fueron conocidos como los gases tabún, sarín y somán (Moreno, 2003). Ciertos ésteres fosfóricos se utilizaron en la década de los años 30 como adulterante alimentario y aromatizante, especialmente durante la “Ley Seca” estadounidense, en la que se produjeron graves intoxicaciones (Garrido-Lestache *et al*, 1988). El doctor alemán Gerhard Schrader, quien trabajaba en el sector de la agricultura, fue el primero en encontrar evidencia científica de sus capacidades tóxicas tanto para insectos como para seres humanos, en 1932 (Ponce *et al*, 200; Benedico, 2002). No fue hasta 1944 que Schrader desarrolló el primer insecticida de uso práctico contra pulgones y ácaros, bautizado como *BLADAN*, cuya molécula es el tetraetilpírofosfato (Badii *et al.*, 2008; Moreno, 2003).

Los primeros compuestos OP presentaban una alta toxicidad frente a mamíferos y muy poca estabilidad en el agua, por lo que se avanzó en la investigación de nuevas moléculas que fueran más seguras (Fig. 2). Finalmente, Schrader sintetizó nuevamente en 1944 el parathion etílico, primer organofosforado de producción industrial distribuido mundialmente. A partir de esta molécula se desarrollaron otros insecticidas de diferentes características, y menor toxicidad (Badii *et al*, 2008). A pesar de su prohibición como arma química a nivel

internacional, han sido utilizados recientemente como tal en casos como la guerra de Irak o en los atentados terroristas del metro de Tokio de 1994 y 1995 (Benedico, 2002; Moreno, 2003).

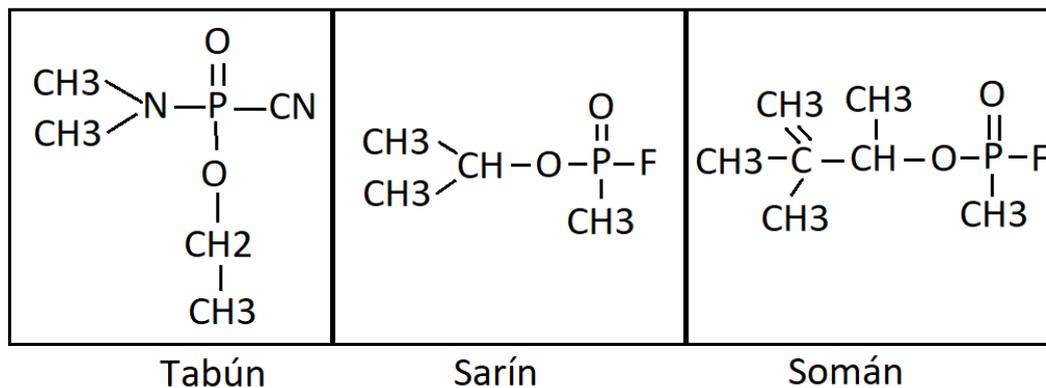


Fig. 2. Estructura molecular de tres de los gases empleados como arma química, de los que provienen los plaguicidas organofosforados (Moreno, 2003).

En cuanto a la estructura química, todos los organofosforados parten de la misma base estructural, a la que se añaden diferentes radicales y/o moléculas para formar compuestos variados (Fig. 3). Todos los OP son ésteres o tioles que derivan de los ácidos fosfórico, fosforoso (o hipofosforoso) y fosforamídico (Fig. 3).

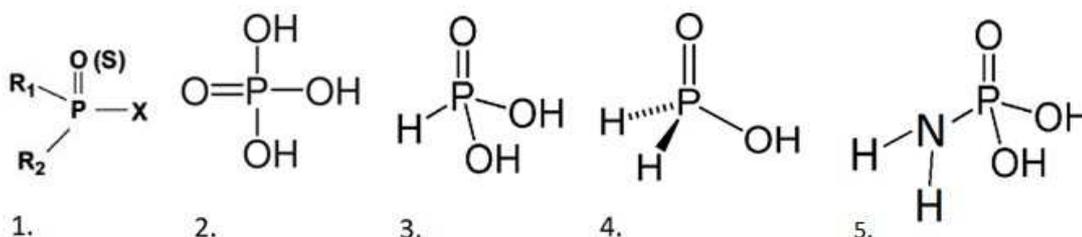


Fig.3. (1) Estructura general de los compuestos organofosforados, (2) estructura molecular del ácido fosfórico, (3) del ácido fosforoso, (4) del ácido fosfínico (5) y del ácido fosforamídico. (Sogorb *et al*, 2002; National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database).

Los radicales R1 y R2 son en casi todos los casos hidrocarburos aromáticos o grupos alquilo, que se unen directamente con el átomo de fósforo, aunque también puede ser a través de átomos de oxígeno o azufre. En algunos compuestos es posible encontrar además nitrógeno. Por último, la X representa a una gran variedad de grupos, ya sean halogenados, hidrocarburos cíclicos o alifáticos... que se unen al átomo de fósforo también directamente o a

través de un átomo de oxígeno o azufre. Este grupo es el que se separa del resto de la molécula cuando se fosforila la enzima diana (grupo “abandonador”), provocando los efectos tóxicos (Klaasen, 2013). En función del tipo de átomos y/o radicales que se unan al fósforo, se obtendrán diferentes tipos de OP, algunos de ellos son los siguientes (Sánchez-Barbudo *et al*, 2012):

- **Fosfatos:** se sustituye el grupo OH (el X) por un radical orgánico OR. Son muy tóxicos e inestables.
- **Tionofosfatos:** el doble enlace con el oxígeno se sustituye por azufre. Se trata de compuestos menos tóxicos.
- **Tiofosfato:** se sustituye el oxígeno del radical OR por azufre, pasando a SR.
- **Fosforoditioatos:** compuestos que contienen dos átomos de azufre, uno de ellos como en el caso de los tionofosfatos y el otro como en los tiofosfatos.
- **Amidofosfatos:** se sustituye el radical X por el radical amino (NH₂).

El tipo de moléculas que se unen al fósforo determinan la naturaleza del compuesto, sus propiedades físico-químicas, su capacidad de penetración, su distribución, su activación y su degradación. (Sogorb *et al.*, 2002). Algunos de los OP más relevantes son el malatión, el diclorvós y el paratión (Moreno, 2003; Klaasen, 2013).

2. Impacto medioambiental

2.1. Uso como plaguicidas

La mayoría de los plaguicidas inhibidores de la AChE actúan por contacto con los insectos y arácnidos, que lo absorben a través de los lípidos de su caparazón quitinoso, tras fumigar o por acción estomacal. Existe la posibilidad de que al aplicarlo al suelo y/o plantas, éste sea absorbido por las raíces, hojas o tallos y termine en la savia, de modo que cuando lo coma un insecto quede intoxicado. En insectos afecta exclusivamente al sistema nervioso central, único lugar en este tipo de animales donde se produce la sinapsis colinérgica y encontramos la enzima AChE (Ponce *et al*, 2006; Garrido-Lestache *et al*, 1988). Además, algunos carbamatos de acción herbicida tienen la capacidad de inhibir la división celular en las raíces de las plantas, impidiendo su normal crecimiento (Repetto, 1995).

2.2. Persistencia en el medio ambiente

Estos compuestos son poco persistentes en el medio ambiente, por lo que los efectos negativos en animales no humanos se podrán observar a corto plazo (Badii, 2008), aunque existen patologías crónicas descritas en personas (Benedico, 2002). Son moléculas poco solubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos, se trata de moléculas liposolubles, lo que puede favorecer que se absorba directamente a través de piel y mucosas (Repetto, 1995). Es de gran importancia la interacción que tienen estos plaguicidas con el suelo y el agua, y cabe tener en cuenta que el producto puede ser arrastrado por lluvias o incluso el viento, a pesar de que se metabolizan rápidamente por hidrólisis en plantas y animales y se degradan químicamente por los microorganismos presentes en el suelo. La velocidad de degradación de estas sustancias depende de la naturaleza del compuesto, el método de aplicación, el estado de desarrollo de la planta, el clima y las propiedades físico-químicas de la molécula (Badii *et al*, 2008). El carbofurano, uno de los carbamatos más empleados, puede tener una vida media de 0,2 días a un pH de 9,5 y de hasta 1700 días a pH de 5,2 (Elliott *et al*, 1996).

2.3. Intoxicaciones y envenenamientos en especies no diana

Los insectos benéficos, como *Apis mellifera*, y la fauna silvestre son muy sensibles a la intoxicación aguda por estos plaguicidas, y debido a su distribución mundial son pocos los sitios que no reportan estos casos anualmente. En el caso de insectos benéficos y fauna acuática, las intoxicaciones son accidentales por un uso inadecuado (Badii, 2008). Se ha demostrado cómo los plaguicidas que alcanzan de forma accidental ecosistemas pueden afectar a la normal fisiología de anfibios y otros animales, provocando inmunodepresión, una mayor incidencia de enfermedades infecciosas y parasitarias y, en consecuencia, una mayor mortalidad, siempre a dosis por debajo de la letalidad (Pochini, 2017). Es importante también tener en cuenta el riesgo que el mal uso de los inhibidores de la AChE suponen para la salud pública, por su potencial paso a acuíferos naturales e incluso a la cadena alimentaria (Jerez *et al*, 2007).

En el caso de otros animales silvestres se trata de envenenamientos en gran parte de los casos (especialmente aves rapaces), hasta un 78,3% de los casos positivos en España han sido producidos conscientemente (Sánchez-Barbudo *et al*, 2012). El hecho de que existan productos cuya posesión es ilegal y su DL50 es baja, permite que se puedan preparar gran cantidad de dosis tóxicas con poca cantidad de producto, incluso durante años tras su prohibición (Sánchez-Barbudo *et al*, 2012).

El uso de venenos para la eliminación de fauna silvestre se lleva realizando en España desde la Ley de Caza de 1879 (de la Bodega, 2012), e incluso el Decreto del 11 de agosto de 1953 del Ministro de Agricultura declaraba “Juntas Provinciales de Extinción de Animales Dañosos”, que animaba a la realización de este tipo de prácticas (Jerez *et al*, 2007). La caza mediante uso de cebos envenenados no fue ilegalizada hasta 1983 (de la Bodega, 2012). El uso ilegal de los plaguicidas lo encontramos reflejado en el Reglamento (CE) n o 1107/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo. También se recoge la prohibición del uso de venenos como métodos de caza de aves silvestres en la Directiva 2009/147/CE del Parlamento Europeo, y en la Ley 42/2007 del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad, de España. La mayoría de las intoxicaciones en fauna silvestre se producen por el uso ilegal de venenos en forma de cebos, y suele estar relacionado con el presunto daño que éstos producen a las cosechas, el ganado o la caza. Hoy en día el uso de estos cebos está ligado a la gestión de cotos de caza menor y en algunas regiones, aunque en menor medida, a la ganadería (Cano, 2007). Los inhibidores de la AChE, y dentro de ellos los carbamatos, son los pesticidas más empleados para los envenenamientos, hasta en un 80% de todos los cebos analizados en la península ibérica (Sánchez-Barbudo, 2012). Una de las razones por las que el uso de este tipo de insecticidas sea tan extendida es porque en el medio rural y agrícola son productos que encontramos frecuentemente, y la población está familiarizada con su uso rutinario (Jerez *et al*, 2007). En muchos casos las especies afectadas no son el principal objetivo del envenenamiento, ya que se trata de métodos no selectivos (Soler Rodríguez, 2006). Cabe también mencionar la existencia de intoxicaciones secundarias por parte de animales necrófagos que consumen cadáveres de aquellos muertos por intoxicación, y tampoco debemos ignorar que la fuente de estos pesticidas puede encontrarse en las prácticas agrícolas normales. (Elliott, 1997; Sánchez-Barbudo *et al*, 2012).

3. Vías de entrada al organismo e importancia de la etología

Los plaguicidas pueden penetrar al organismo por varias vías. La vía oral es la más frecuente, pero no la más rápida. Por lo general se produce cuando el pesticida se encuentra en forma granulada dentro de un cebo, que hasta que llega al estómago no se libera. La vía inhalatoria es la más rápida, produciendo graves trastornos respiratorios. Se produce por la fumigación de los campos de cultivo, fundamentalmente. Por último está la vía cutáneo-mucosa, se puede absorber por la propia piel y a través de las mucosas, si el pesticida se encuentra poco integrada en el cebo, o si el animal ingiere los gránulos directamente (Robles

Sanmartín *et al*, 2007). Cuando las intoxicaciones son deliberadas, la mayoría de los cebos utilizados en España se preparan con carne, sus derivados o despojos, pero también pueden emplearse cadáveres frescos o huevos impregnados. Por último, aunque en pocas ocasiones, se pueden mezclar con cereales si se tiene como objetivo a aves de pequeño tamaño (Jerez *et al*, 2007; Sánchez-Barbudo *et al*, 2012). Es muy importante tener en consideración la propia etología de los animales afectados. Las aves carroñeras, como el buitre leonado (*Gyps fulvus*), tienen mala fama y se les considera animales “indeseables” por presuntos ataques que realiza a animales moribundos. Su forma de alimentación hace que tengan mayor facilidad para encontrar cebos cárnicos envenenados y cadáveres deliberadamente contaminados con pesticidas. Es en función del tipo de aves que el responsable quiere eliminar el tipo de cebo que emplea (Berny *et al*, 2015). Las rapaces depredadoras, por otro lado, son prácticamente siempre objeto de intoxicaciones deliberadas (Alcántara, 2008).

4. Toxicodinamia

Antes de comprender el mecanismo de acción de los compuestos inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE), hay que saber cómo actúa y cuál es la función de la enzima AChE (Fig. 4). Cuando una neurona presináptica colinérgica recibe el estímulo, se liberan los neurotransmisores (ACh) al espacio extracelular. La ACh puede unirse a la neurona postsináptica, puede unirse a los receptores de recaptación o puede quedar en el espacio y unirse a la AChE. La función de la enzima es metabolizar la ACh en acetato y colina, y posteriormente la colinoacetiltransferasa puede sintetizar nuevos neurotransmisores a partir de las dos moléculas. Los tóxicos reaccionan con los grupos hidroxilo del aminoácido serina de la AChE impidiendo que realice su función, por lo que no se puede sintetizar nuevos neurotransmisores, y terminarán acumulándose en el espacio extracelular causando una hiperexcitación. La unión de los OP suele ser irreversible debido al envejecimiento enzimático, razón por la cual produce neuropatías, al contrario que los carbamatos (Sogorb *et al*, 2002; Moreno, 2003; Robles Sanmartín, 2007). El tiempo de recuperación, en caso de que el animal no muriera, corresponde con el que se tarde en sintetizar nuevas enzimas, entre 25 y 30 días (Moreno, 2003). En el caso de los carbamatos, se trata de una unión reversible rápidamente, y si la dosis ingerida no es muy grande, el afectado puede recuperarse en unas horas (Moreno, 2003; Klaasen, 2013).

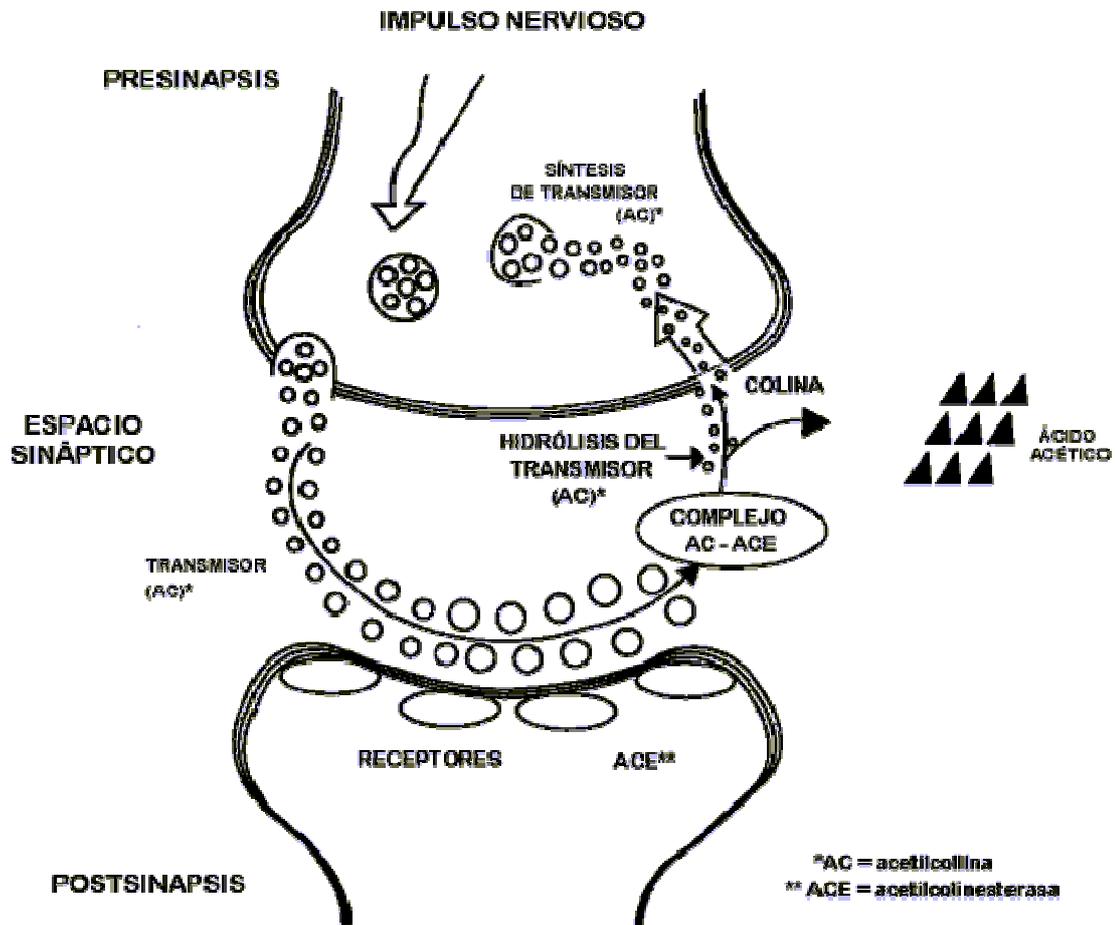


Fig. 4. Esquema general de la sinapsis colinérgica. (Imagen tomada de la página de la Universidad Autónoma de Madrid, Prof. M^a Cristina Tejedor).

La ACh se encuentra en numerosas sinapsis del sistema nervioso autónomo, pero fundamentalmente en el sistema parasimpático, y en las conexiones neuromusculares. Los receptores para la ACh pueden ser muscarínicos, que podemos encontrarlos en músculo liso y cardíaco, glándulas endocrinas y sistema autónomo, o nicotínicos, que lo encontramos en músculo esquelético. La localización de estos receptores de ACh permitirá explicar la clínica de los individuos intoxicados (Ruiz Muñoz, 2011).

4.1. Diferencias entre especies y tipos de enzimas

Hay una notable diferencia entre las enzimas de los mamíferos y las de las aves, lo que hace más sensibles a estas últimas a la intoxicación por estos compuestos. Existen tres tipos de

AChE en función de la interacción que sufren en presencia de uno de estos plaguicidas. Las esterasas tipo A, deficitarias en aves, pueden hidrolizarse y volver a ser funcionales, mientras que las de tipo B, mayoritarias en las aves, son inhibidas y nunca se regeneran. Por último tenemos las de tipo C, que no interaccionan con los OP ni con los carbamatos (Robles Sanmartín, 2007).

5. Toxicocinética

5.1. Hidrólisis enzimática

La principal enzima del organismo que actúa en la detoxificación e hidrólisis de estos compuestos es la carboxilesterasa (CbEs). La CbEs es una enzima perteneciente al grupo de las hidrolasas cuya forma de actuar frente a los carbamatos consiste en la acilación reversible de un aminoácido serina, presente en la parte activa de esta proteína. Esto provoca la liberación de un alcohol y el ácido carbámico, que es inmediatamente dividido en dióxido de carbono y metilamina (Fig. 5). Esta enzima puede encontrarse en varios tejidos biológicos tales como hígado, riñón, intestino delgado, pulmones y testículos, además de libremente en el plasma. La enzima puede volver a reactivarse en presencia de agua (Fig. 6) (Sogorb *et al*, 2002).

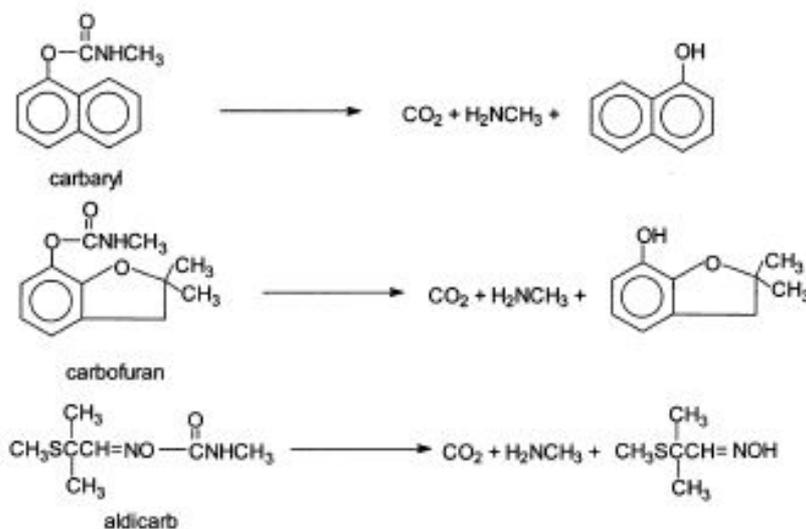


Fig. 5. Detoxificación del carbaril, carbofurano y aldicarb por acción de la CbEs, produciéndose en los tres casos una molécula de dióxido de carbono, una molécula de metilamina y un alcohol, diferente en cada caso (Sogorb *et al*, 2002).

Al realizarse esta hidrólisis, se pasa de moléculas liposolubles a hidrosolubles, evitando que pueda acumularse en tejidos y permitiendo que pueda eliminarse a través de la orina. En función del animal y la estructura química el metabolismo es diferente, variando en eficacia o en velocidad. Podemos encontrar CbEs en suero sanguíneo, relacionado con la albúmina, e hígado en los mamíferos, y también se han detectado en varios géneros de bacterias. En 1953, Norman Aldridge clasificó las CbEs en función de cómo reaccionan ante los compuestos organofosforados: tipo A y tipo B. Ambas son capaces de hidrolizar ésteres carboxílicos, pero las de tipo B pueden unirse y ser inhibidas por los organofosforados. De esta forma, puede inactivar compuestos organofosforados, pero también la reactivación en presencia de H₂O (Fig. 6) no es posible (Sogorb *et al*, 2002). Se ha sugerido que la medición del nivel de inhibición de estas enzimas plasmáticas puede servir como marcador y para monitorizar la exposición de la fauna silvestre a plaguicidas (Sogorb *et al*, 2007).

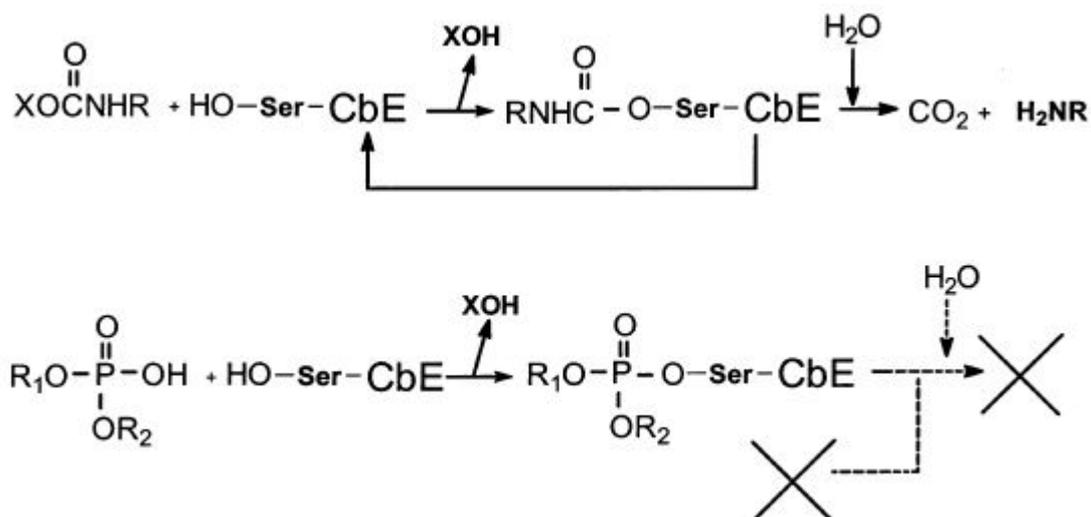


Fig. 6. Diferencias entre la carbamitación de la enzima CbEs por compuestos carbamatos, reversible en presencia de agua (arriba) y la fosforilación irreversible por parte de compuestos organofosforados (abajo) (Sogorb *et al*, 2002).

5.2. Papel de las fosfotriesterasas

Hay otro tipo de enzimas llamadas fosfotriesterasas (PTEs), que se ha demostrado su presencia en diversos tejidos de mamíferos, peces, moluscos y aves, y en bacterias, siendo mayor su concentración en suero e hígado. En aves se ha demostrado que su concentración es bastante más baja que en otros animales, por lo que las CbEs son más importantes para la detoxificación en este grupo (Sogorb *et al*, 2007). No se ha encontrado esta enzima en insectos, razón por la cual los OPs son buenos insecticidas (Robles Sanmartín, 2007). Esta

enzima rompe el enlace entre el fósforo y el grupo “abandonador”, permitiendo que las moléculas sean más hidrosolubles y puedan eliminarse a través de la orina. Estos compuestos secundarios presentan una capacidad de fosforilación mucho menor, y por lo tanto son menos tóxicos. Esta vía de detoxificación es mucho más efectiva que la que llevan a cabo las CbEs, ya que las PTEs pueden hidrolizar a varias moléculas de organofosforados porque no quedan inactivadas como en caso de las otras. Se pueden emplear PTEs exógenas como forma de tratamiento de intoxicaciones en animales (Sogorb *et al*, 2002).

6. Clínica

En función de la dosis de tóxico ingerida, la sintomatología del animal será de tipo agudo, de tipo crónico o de tipo intermedio. El tipo de cuadro clínico que sufrirá el animal depende del tipo de plaguicida ingerido, la vía de entrada, la dosis, la dieta y de la susceptibilidad individual (Garrido-Lestache *et al*, 1988; Robles Sanmartín, 2007). Se ha estimado que para que aparezcan síntomas, la inhibición debe ser aproximadamente del 50% de las enzimas totales (Repetto, 1995). En el caso de envenamientos deliberados, lo más frecuente es que nos lleguen con un cuadro agudo, debida a la ingesta de altas dosis de plaguicidas, que se produce a partir de los 30 minutos y las dos horas (Robles Sanmartín, 2007). La duración de los síntomas depende en su mayoría de la liposolubilidad del compuesto, de la unión entre el plaguicida y la enzima y de si ésta es reversible o no (Jokanović *et al*, 2006). Además de los síntomas específicos de este tipo de compuestos hay que tener en cuenta que pueden aparecer inflamaciones faríngeas, ulceraciones traqueales e irritaciones en las mucosas que han estado en contacto con los venenos (Robles Sanmartín, 2007). Se deben distinguir los síntomas en función de la localización de la AChE inhibida, habiendo así tres tipos de síndromes: muscarínico, nicotínico y neurológico (Repetto, 1995), que aparecen de forma escalonada.

6.1. Síndrome muscarínico

El síndrome muscarínico, que es el primero en aparecer (Garrido-Lestache *et al*, 1988), consiste en la unión del compuesto a las AChEs localizadas en receptores muscarínicos, por lo que actúa como parasimpaticomimético. Esto causa miosis, sudoración, lagrimeo, broncoespasmos con hipersecreción bronquial, edema, tos, construcción torácica, disnea y fallo respiratorio, especialmente por la hipersecreción (Repetto, 1995; Moreno, 2003). Estos signos van acompañados también de síntomas digestivos como diarrea, sialorrea y dolor abdominal

(Robles Sanmartín, 2007) y cardíacos, con bradicardia e hipotensión (Garrido-Lestache *et al*, 1988). Todo ello puede derivar en una hipotermia.

6.2. Síndrome nicotínico

El síndrome nicotínico aparece en segundo lugar (Garrido-Lestache *et al*, 1988) y se produce por la unión a los receptores del músculo estriado, causando fasciculaciones musculares, calambres, mialgias e incontinencia urinaria por aumento de la presión sanguínea y de la frecuencia cardíaca (Repetto, 1995; Moreno, 2003). Las uniones a los receptores musculares producen finalmente una debilidad muscular y parálisis de los miembros y de los músculos empleados durante la respiración, causando la muerte (Repetto, 1995). La parálisis muscular en aves causa la inhabilitación para volar, haciendo que los animales caigan y sufran traumatismos ocasionalmente mortales, que podrían enmascarar la causa real de muerte (Robles Sanmartín, 2007). Esta parálisis muscular se produce en dos fases. En una primera fase. Toda la ACh acumulada provoca potenciales de acción continuos, produciendo contracciones continuadas, a lo cual la unidad motora responde mediante fasciculaciones. Finalmente, se produce una desensibilización y se bloquean los receptores neuromusculares, resultando en esa debilidad y parálisis muscular. En la segunda fase, cuando tenemos unos bajos niveles de AChE activa, se produce una gran entrada de iones de calcio a la célula. Estos iones activan una serie de proteasas, fosfolipasas y endonucleasas que producen la necrosis celular, razón por la cual la recuperación de la fuerza muscular del animal lleva un tiempo. La necrosis se produce unas 48 horas tras la exposición. Algunos plaguicidas pueden producir una neuropatía por desmielinización, y la parálisis puede ser permanente (Repetto, 1995).

6.3. Síndrome neurológico

Por último, aparece el síndrome neurológico (Garrido-Lestache *et al*, 1988), que se produce a nivel del sistema nervioso central, produciendo una fase inicial de estimulación y una final de depresión. El animal puede sufrir ansiedad, ataxia, polidipsia, piloerección (también del plumaje), confusión mental, convulsiones, colapso, coma y depresión de los centros cardiorrespiratorios. En exposiciones crónicas (durante dos y cuatro semanas), se produce una polineuropatía retardada, que consiste en una degeneración axonal que puede no ir precedida de un cuadro agudo. También puede encontrarse tras intoxicaciones agudas que habrían resultado mortales sin la intervención del tratamiento veterinario (Repetto, 1995; Robles Sanmartín, 2007).

6.4. Importancia de la liposolubilidad

Debido a las características químicas de los organofosforados y carbamatos, éstos se acumulan en tejido graso. Esto debe tenerse en cuenta, ya que un animal que parece recuperado puede sufrir una segunda intoxicación más adelante, debido a la liberación de las moléculas desde tejido adiposo (Haschek, 1991; Robles Sanmartín, 2007).

7. Tratamiento

En primer lugar, hay que tener en cuenta que el tratamiento será eficaz siempre y cuando no se haya producido la neuropatía por envejecimiento enzimático. Un animal que ha ingerido el tóxico en un periodo más largo de 48 horas es probable que sea irrecuperable. El tratamiento va dirigido a aquellos animales que se encuentran en la fase aguda de la enfermedad, en las primeras 24 o 48 horas, en función de la dosis ingerida (Robles Sanmartín *et al*, 2007).

7.1. Tratamiento sintomático

El tratamiento sintomático es el primero que debe realizarse, para mantener al animal con vida. Debido a los síndromes muscarínico y nicotínico, el animal puede sufrir convulsiones o parálisis muscular, depresión respiratoria, hipotensión e hipotermia que son los principales síntomas que amenazarán la vida. Por ello hay que asegurar que se mantenga la temperatura corporal mediante, siendo un método efectivo una fluidoterapia con suero atemperado, lo que también permite restablecer la volemia. Si es necesario habrá que intubar al animal, pero en el caso de las aves no es posible. La atropina se puede utilizar para contrarrestar los efectos muscarínicos, ya que tiene afinidad por estos receptores, administrada por vía intravenosa, intramuscular u oral. Es importante tener en cuenta que su eliminación es rápida y puede ser necesaria una redosificación. En aves rapaces hay que usarla con precaución, ya que puede producir arritmias y estasis gastrointestinal. Por último, se recomienda administrar diazepam u otra benzodiazepina en caso de que haya convulsiones o fasciculaciones musculares, para así evitar daño en el SNC. La vía de administración puede ser intravenosa o intramuscular (Jokanović *et al*, 2006; Robles Sanmartín *et al*, 2007).

En caso de que se tenga la certeza de que la intoxicación ha sido por ingestión de alimento envenenado, debería hacerse un lavado gástrico con carbón activado (Barco *et al*, 2008) y se pueden administrar laxantes también (Robles Sanmartín *et al*, 2007). Si la absorción

ha sido cutánea, se realizarán lavados de la zona con abundante agua y jabón alcalino, sin frotar. Por último, en caso de inhalación se deberá limpiar las secreciones respiratorias y dar un aporte de oxígeno (Robles Sanmartín *et al*, 2007).

7.2. Tratamiento etiológico con oximas

Para el tratamiento etiológico se emplean las oximas piridínicas, llamadas así porque en su composición encontramos piridinio (Fig. 7). Se trata de antídotos capaces de reactivar la AChE fosforilada, siempre y cuando no haya llegado a la fase de envejecimiento. Estas moléculas se unen específicamente al complejo formado entre la enzima y el plaguicida, acelerando la recuperación espontánea de la forma activa de la AChE. Su acción se ve potenciada si se administra junto con atropina, previamente mencionada. Las oximas actúan sobre la zona fosforilada de la enzima diana, y se fosforilan a sí mismas en consecuencia (Fig. 8). La efectividad y velocidad de esta reactivación enzimática depende de la estructura de la parte fosforilada y la estructura y concentración de la oxima empleada. Existe el riesgo de que esta reacción se revierta, fosforilándose de nuevo la AChE y obteniendo la oxima original (Jokanović *et al*, 2006).

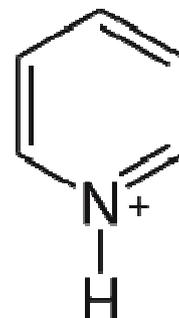


Fig. 7. Estructura química del piridinio.

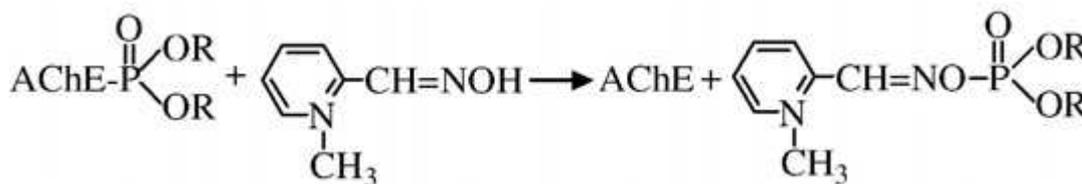


Fig. 8. Reactivación de una enzima AChE fosforilada por acción de la pralidoxima (Jokanović *et al*, 2006)

Dentro del grupo de las oximas piridínicas se encuentran las monopiridínicas y biperidínicas. La única oxima monopiridínica de interés para tratar envenenamientos es la pralidoxima (PAM-2), y las biperidinas más importantes son la trimedoxima (TMB-4), obidoxima (LüH-6 o togoxina), la HI-6 y la HLö-7 original (Jokanović *et al*, 2006).

La PAM-2 (Fig. 9) se sintetizó en 1955 en Estados Unidos, y se trata de una oxima muy eficiente a la hora de recuperar a la AChE, pero sólo con determinados agentes como el gas sarín. Esta molécula no era capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, por lo que se

diseñaron compuestos similares capaces de hacerlo, aunque se redujo algo la efectividad. Se ha demostrado que al administrarla con atropina aumenta su concentración en el SNC. Su uso ha sido más descrito en casos humanos frente a los gases de guerra (Jokanović *et al*, 2006).

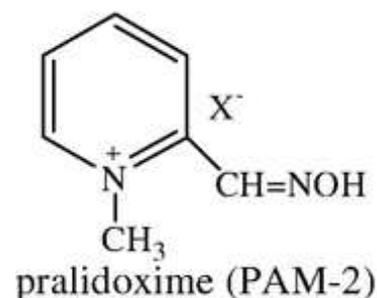


Fig. 9. Estructura química de la pralidoxima (Jokanović *et al*, 2006)

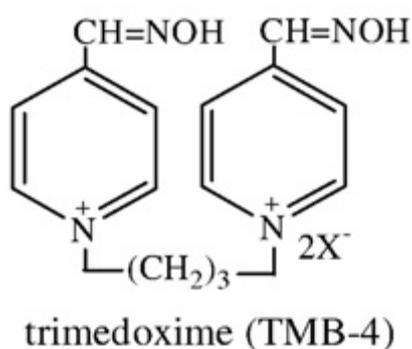


Fig. 10. Estructura química de la trimedoxima (Jokanović *et al*, 2006)

La TMB-4 (Fig. 10) se sintetizó en 1957, también en EEUU, demostrándose que era más efectiva que la PAM-2. Fue la primer oxima empleada para el tratamiento de animales intoxicados con tabún y sarín, pero no protege frente al Somán. Tras realizarse estudios de toxicidad, se concluyó que la TMB-4 tenía una muy baja LD50 en comparación con otras oximas (Jokanović *et al*, 2006).

La LüH-6 (Fig. 11) fue creada en Alemania en 1964, cuyo nombre se le atribuye a los descubridores Lüttringhaus y Hagedon. Administrada junto con atropina, es un buen protector frente a varios gases nerviosos, y es más efectiva que la TMB-4. Aunque es menos tóxica que otras, puede afectar a las funciones hepáticas (Jokanović *et al*, 2006).

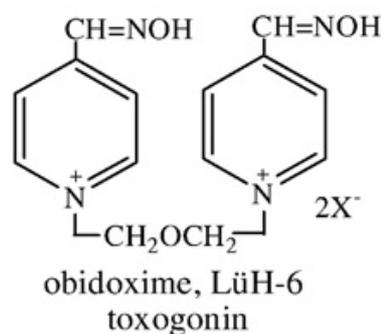
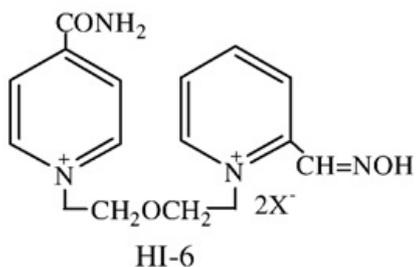


Fig. 11. Estructura química de la toxogonina (Jokanović *et al*, 2006)



La HI-6 (Fig. 12) fue la primera oxima capaz de proteger a los animales frente a la acción del gas Somán. Es la menos tóxica de todas las oximas sintetizadas (Jokanović *et al*, 2006).

Fig. 12. Estructura química de la HI-6
(Jokanović *et al*, 2006)

Por último, la HLö-7 (Fig. 13) fue la última oxima descubierta, en 1986 en Friburgo. Capaz de revertir los efectos de todos los gases nerviosos, también se estudió su eficacia *in vitro* para restaurar la transmisión neuromuscular. Al igual que las demás moléculas, su permeabilidad a través de la barrera hematoencefálica aumenta si es administrada junto con atropina (Jokanović *et al*, 2006).

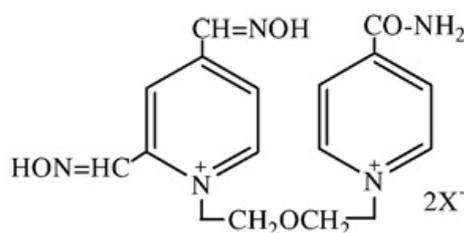


Fig. 13. Estructura química de la HLö-7
(Jokanović *et al*, 2006)

Se han realizado varios estudios con diferentes oximas y diferentes plaguicidas inhibidores de la AChE (Jokanović *et al*, 2006), y se concluyó que la TMB-4 es la molécula más efectiva para estas intoxicaciones, seguido del HLö-7. Hay que tener en cuenta varios criterios a la hora de escoger la oxima de elección, especialmente el tipo de pesticida con el que el animal se ha intoxicado (Jokanović *et al*, 2006).

En muchas ocasiones no se puede saber cuál es el agente implicado en el envenenamiento, ya que son animales que ingresan sin una historia clínica previa y con poca información. Por ello, lo más importante es llevar a cabo el tratamiento sintomático, para evitar que el animal muera por insuficiencia respiratoria.

8. Prevalencia de las intoxicaciones en la Comunidad Autónoma de Aragón

Los siguientes resultados se han obtenido todos del Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de la Alfranca (CRFSA), localizado en Pastriz, Zaragoza.

Entre 1994 y 2016 ha habido en el centro un total de 29.284 ingresos, y se han obtenido 249 casos positivos de animales intoxicados por diferentes compuestos. Esto quiere decir que de todos los animales que han ingresado al centro, vivos o muertos, de los que se sospechaba que habían sufrido una intoxicación y se enviaron sus muestras a un laboratorio de referencia, 249 de ellos salieron positivos (0,8% del total de ingresos). Hay que tener en cuenta que hay una gran cantidad de animales sospechosos de intoxicación por la necropsia de los que no se enviaron muestras o no se detectó nada en el laboratorio, y esto aumenta el número a 970 casos para este periodo (3,3% del total de ingresos).

8.1. Sesgo en el muestreo de las intoxicaciones

Es muy importante tener en consideración el sesgo que sufre el muestreo de animales intoxicados. Esto se debe a la mayor facilidad que hay en encontrar un animal víctima de una colisión con un tendido eléctrico, con un vehículo, con parques eólicos o ahogado en una fuente de agua, y es más difícil localizar a un animal que ha muerto intoxicado en una zona de monte incomunicada, zona donde habitualmente se encontrarán los cebos.

Por esta razón la principal causa de ingreso de la mayoría de los animales salvajes es por traumatismo. A pesar de ello, hay que tener en cuenta que un animal que ha muerto por una colisión no excluye que haya podido ser envenenado, es más, el haber sido envenenado puede haber propiciado el accidente debido a los propios efectos del tóxico. Frecuentemente se tiene como primera sospecha que la causa de la muerte del animal es un traumatismo o una electrocución, pero es conveniente tener en consideración la intoxicación como causa principal subyacente.

Como conclusión, tenemos que tener en cuenta que el número de animales envenenados en la Comunidad Autónoma de Aragón es muy posiblemente superior al de casos positivos en laboratorio.

8.2. Intoxicaciones según el tipo de compuesto

De los 249 casos positivos a tóxicos entre 1994 y 2016, en 165 de ellos (66%) se encontraron compuestos inhibidores de la acetilcolinesterasa, siendo por ello los más frecuentemente utilizados. En segundo lugar se sitúan los rodenticidas y alterantes de la coagulación, con 44 casos positivos (17%), seguido de la estricnina con 20 casos (8%). Por último, los compuestos menos utilizados son los barbitúricos con 5 casos (2%), el plomo con 4 casos (2%), los organoclorados con 4 casos (2%) y los neonicotinoides con 3 casos (1%). Dentro de la categoría otros, que supone el 2% con 4 casos, se incluyen, entre otros, los contaminantes orgánicos persistentes. La proporción de estas intoxicaciones se encuentra representada gráficamente en la figura 14.

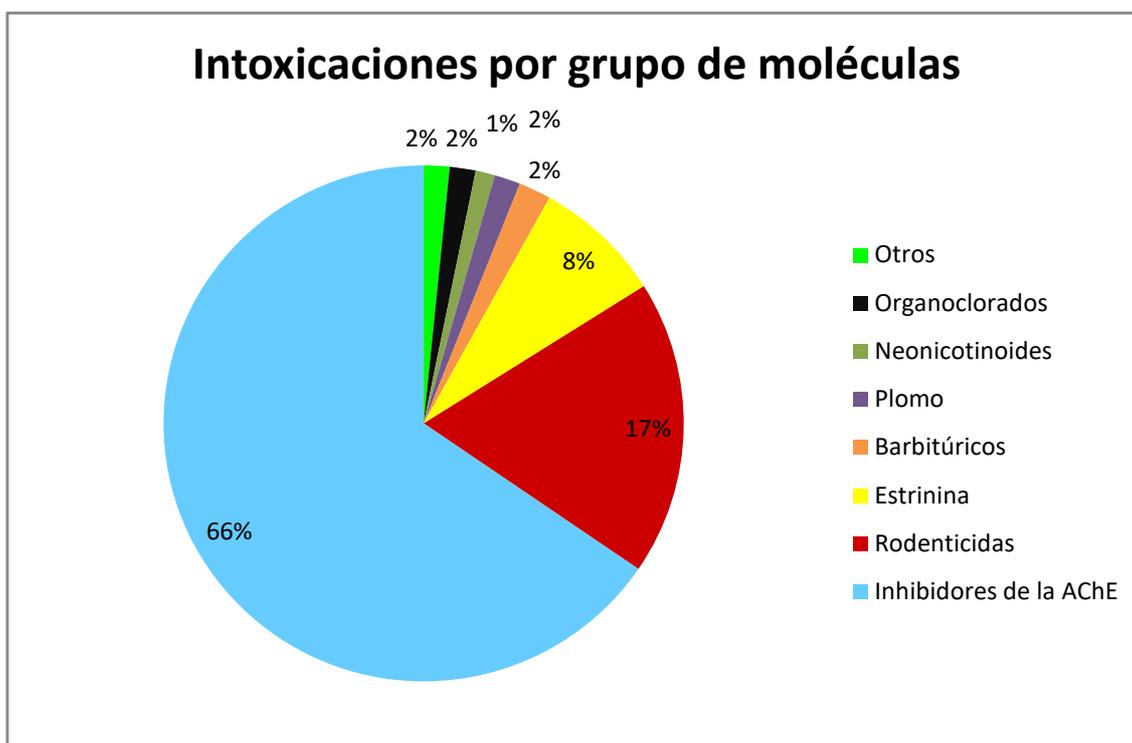


Fig. 14. Frecuencia relativa de los distintos grupos de tóxicos hallados en análisis laboratorial en 249 casos de intoxicación ingresados en el CRFSA entre 1994 y 2016. (Datos cedidos por el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de la Alfranca).

Dentro de los 165 casos de intoxicación por plaguicidas inhibidores de la AChE, el 51% (85 casos) fueron positivos a compuestos pertenecientes al grupo de los carbamatos, y el 49% (80 casos) a compuestos organofosforados.

Dentro del total de intoxicaciones por inhibidores de la AChE, 41 de los casos (25%) se deben al carbofurano, y 38 de ellos (23%) al aldicarb. El resto de casos de intoxicación por carbamatos, hay registrados 5 casos por oxamilo (3%) y 1 por bendiocarb (1%).

En cuanto a los organofosforados detectados en los casos de intoxicación, hay una gran variedad de compuestos, por lo que se han clasificado en este trabajo en función de su uso comercial previsto. 48 de los casos positivos (29%) se atribuyen al conjunto de organofosforados que se encuentran en antiparasitarios para el ganado, que son el coumafós (24 casos), el fentión (18 casos), el fenitrotión (3 casos), el diazinón (2 casos) y el dimetoato (1 caso). 26 casos (16%) se atribuyen a insecticidas organofosforados empleados en agricultura. Estas moléculas son metamidofós (7 casos), monocrotofós (6 casos), demetón-S-metil (3 casos), dicrotofós (3 casos), metil-paratión (2 casos), disulfotón (1 caso), fenamifós (1 caso), fosfamidón (1 caso), malatión (1 caso) e isofenfós (1 caso). Por último, hay 6 casos (4%) que se corresponde con el diclorvos, un producto empleado para la desinsectación de naves y locales. Estos datos se encuentran representados en la figura 15.

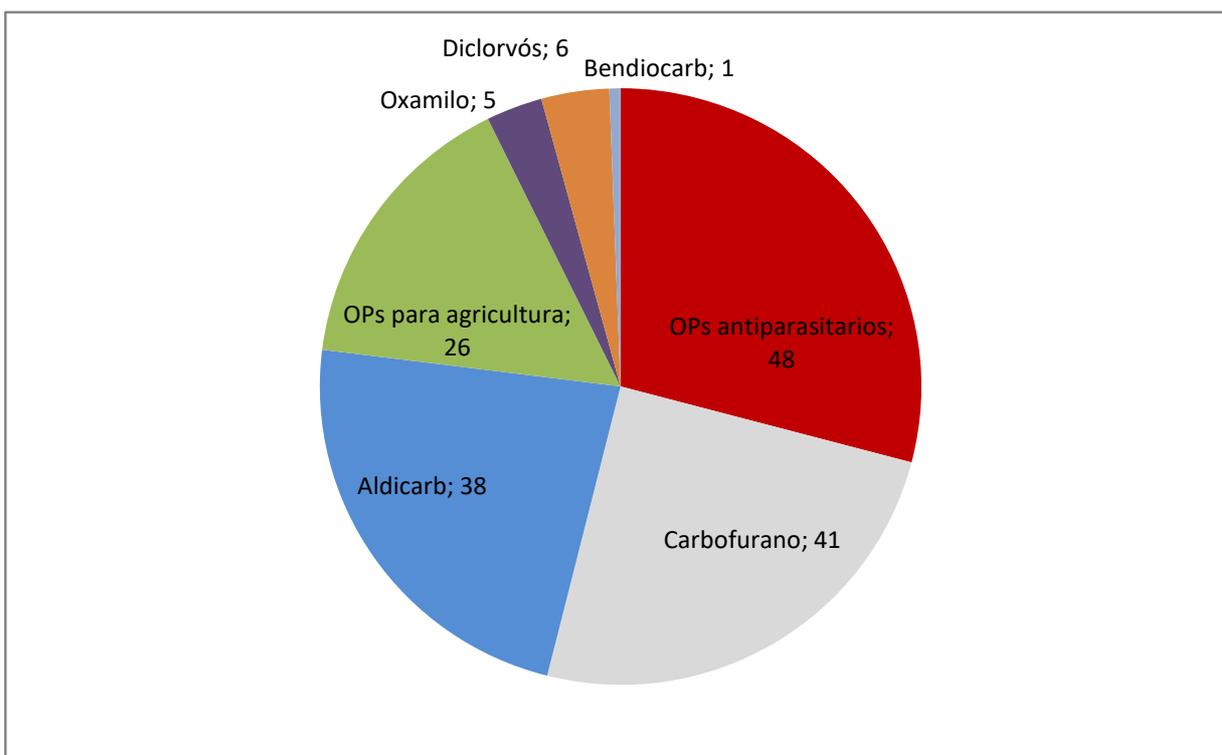


Fig. 15. Número de casos positivos de animales intoxicados por inhibidores de la AChE ingresados entre 1994 y 2016, distribuidos por tipo de compuesto. (Datos cedidos por el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de la Alfranca).

De los OPs empleados como antiparasitarios, todos están permitidos, aunque el uso de algunos es residual. En cuanto a los productos empleados como fitosanitarios, de los que se han hallado en los casos de intoxicación, únicamente está permitido el fenamifós. El diclorvós está permitido. Esto significa que 105 de los 165 casos positivos entre 1994 y 2016 (63%) han sido causados por sustancias cuyo uso agrícola es ilegal actualmente. No todos estos productos eran ilegales en 1994, sino que las prohibiciones se han ido levantando conforme se evaluaba su toxicidad. A pesar de ello, hay que tener en cuenta que, en su mayoría, se trata de compuestos muy tóxicos y peligrosos para el medio ambiente y los seres humanos, de ahí estas restricciones de uso.

8.3. Intoxicaciones según la especie afectada

El 97% (161 casos) de las intoxicaciones por inhibidores de la AChE se han producido en aves, todas ellas del catálogo de especies protegidas. El 3% restante (4 casos) se atribuye a mamíferos. El número de casos por especie se encuentra representado en el diagrama de la figura 16.

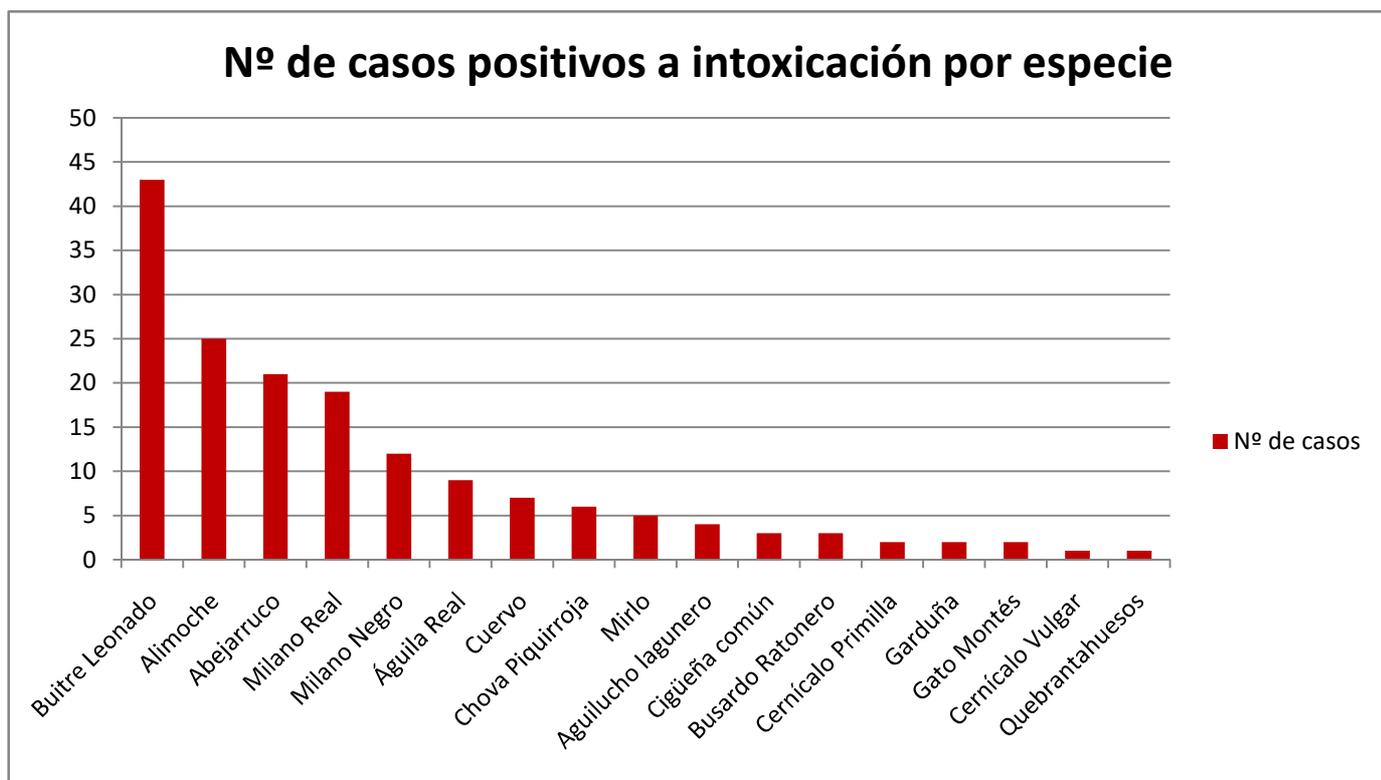


Fig. 16. Número de casos positivos de animales intoxicados por inhibidores de la AChE ingresados entre 1994 y 2016, distribuido por especies. (Datos cedidos por el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de la Alfranca).

Las especies más afectadas son el buitre leonado (*Gyps fulvus*) con 43 casos (26%) y el alimoche común (*Neophron percnopterus*) con 25 casos (15%). El ave más afectada a continuación es el abejaruco (*Merops apiaster*) con 21 casos (13%), pero todos los casos provienen del mismo lugar y datan de la misma fecha, por lo que se trata de un caso excepcional en el que 21 individuos se intoxicaron a partir de la misma fuente. A continuación se encuentran las dos especies de milanos, el milano real (*Milvus milvus*) y el milano negro (*Milvus migrans*), con 19 y 12 casos respectivamente (11,5% y 7,2%).

El resto de casos positivos a intoxicación son los siguientes: 9 casos (5,5%) de águila real (*Aquila chrysaetos*), 7 casos (4%) de cuervo (*Corvus corax*), 6 casos (3,6%) de chova piquirroja (*Pyrrhocorax pyrrhocorax*), 5 casos (3%) de mirlo común (*Turdus merula*), 4 casos (2,5%) de aguilucho lagunero (*Circus aeruginosus*), 3 casos (1,8%) de cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*), 3 casos (1,8%) de busardo ratonero (*Buteo buteo*), 2 casos (1,2%) de cernícalo primilla (*Falco naumanni*), 2 casos (1,2%) de garduña (*Martes foina*), 2 casos (1,2%) de gato montés (*Felis silvestris*), 1 caso (0,75%) de cernícalo vulgar (*Falco tinnunculus*) y 1 caso (0,75%) de quebrantahuesos (*Gypsetus barbatus*).

La alta incidencia en el buitre leonado, el alimoche común y el milano real se debe a su comportamiento, ya que se trata de especies carroñeras. Esta forma de alimentación hace que tengan una mayor probabilidad de encontrar cebos envenenados por el campo. A pesar de ello, sólo el 8% de los buitres ingresados lo hace por intoxicación, mientras que en los alimoches la prevalencia es del 45% y en el milano real es del 25%. La explicación se encuentra en que los cebos se suelen colocar ocultos a la vista para eliminar pequeños mamíferos, de forma que son las aves que detectan por el olfato las que más probablemente ingieran el tóxico. Estas aves son el alimoche y el milano, mientras que el buitre detecta comida mediante la vista. Es el gran número de buitres leonados que habitan la Comunidad Autónoma de Aragón la razón por la que es la especie con mayor número de casos de envenenamiento.

8.4. Intoxicaciones por año de ingreso

El número de casos positivos a inhibidores de la AChE se encuentra representado gráficamente en la figura 17.

La distribución de número de casos por año indica que la cantidad de animales intoxicados sufre ligeras variaciones en función del año, pero no se puede concluir que haya una tendencia a aumentar o a disminuir. El pico de casos registrados en el año 2012 se corresponde con los 21 abejarrucos provenientes del mismo lugar. Debido a la pequeña

cantidad de casos que se confirman como positivos cada año, no se puede llegar a una conclusión sobre si realmente hay un descenso del número de casos reales de intoxicación, también debido al sesgo mencionado anteriormente.

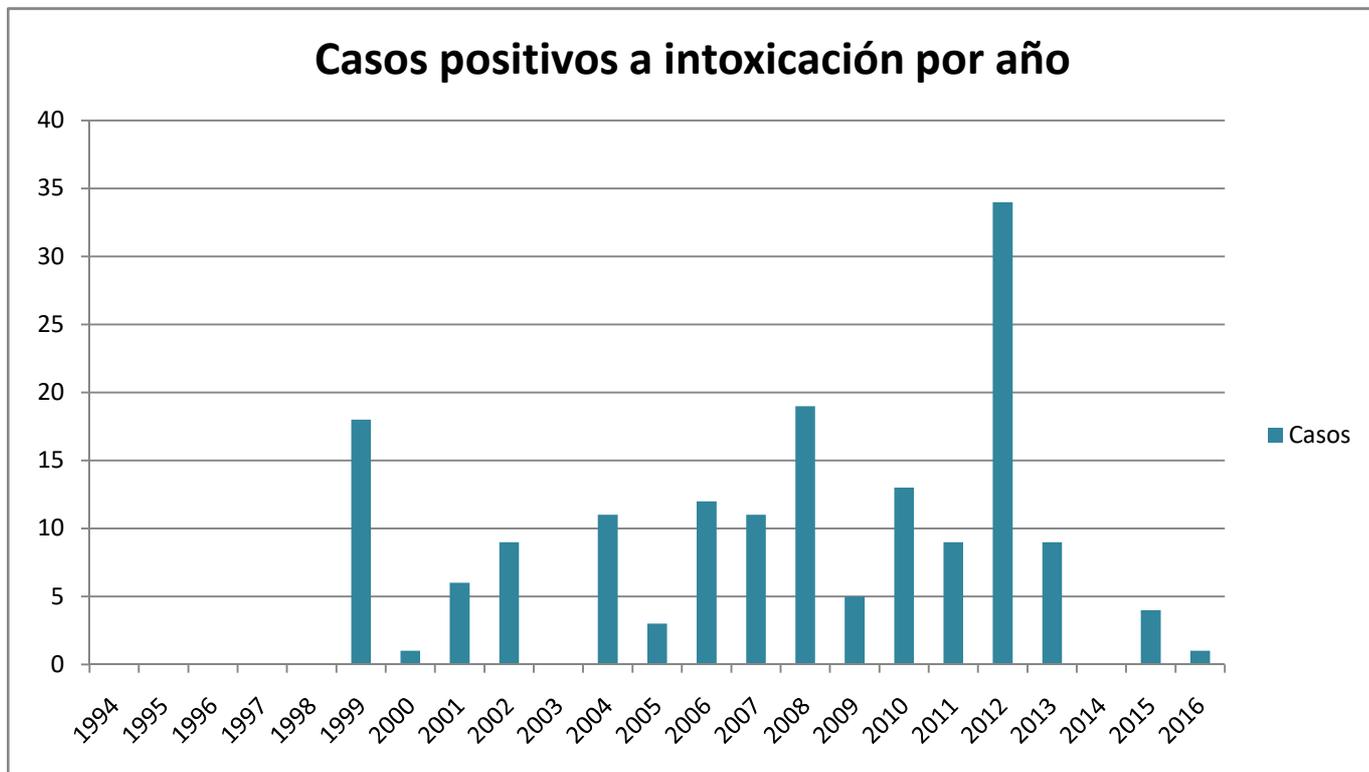


Fig. 17. Número de casos positivos de animales intoxicados por inhibidores de la AChE ingresados entre 1994 y 2016, distribuido por año de ingreso. (Datos cedidos por el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de la Alfranca).

8.5. Estado de los animales al ingresar

De los 165 casos registrados, sólo 7 animales ingresaron vivos al Centro de Recuperación (4,2%), y 3 de estos 7 murieron durante su estancia fundamentalmente por parada cardiorrespiratoria. Los 4 restantes se recuperaron exitosamente tras un tratamiento consistente en fluidoterapia, atropina, antibioterapia y reposo.

El 95,6% de los animales positivos a inhibidores de la AChE llegaron muertos al centro, recogidos por agentes de protección de la naturaleza o por particulares. Al realizarse la necropsia de estos individuos, se encontraban en una postura característica de hiperestimulación parasimpática periférica, con las patas hiperextendidas, garras y alas fuertemente contraídas y cabeza y cuello extendidos, todo esto debido al síndrome nicotínico previamente explicado. En algunos casos podía observarse que el esófago y la cavidad oral se

encuentran muy dilatados, indicativo de que el animal podía haber estado vomitando antes de su muerte, como parte del síndrome muscarínico. Es común la aparición de órganos internos congestivos, tales como miocardio, riñón, hígado, páncreas, encéfalo y glándula tiroideas, y la presencia de hemorragias internas. Llama la atención que estos animales, por lo general, tienen un muy buen estado de engrasamiento, debido a que la causa de la muerte suele ser una intoxicación aguda, y la ausencia de fauna cadavérica, especialmente en el tracto digestivo, por la alta concentración de plaguicidas presentes. Según la dosis ingerida, pueden encontrarse los cebos con los granulados del insecticida en el buche, en la molleja o en el proventrículo, permitiendo identificar fácilmente la causa de la muerte.

Conclusiones

1. La mayoría de las intoxicaciones que se producen en fauna silvestre por inhibidores de la AChE son de tipo agudo, lo que indica que los animales ingieren altas dosis en poco tiempo.
2. La mayoría de los envenenamientos son deliberados, y serían totalmente evitables si hubiera un control estricto sobre la tenencia y uso de estos productos.
3. La muerte directa de los animales es sólo una pequeña parte del impacto que tienen los plaguicidas sobre el medio ambiente, ya que también afectan a ciclos reproductivos de muchos anfibios y peces, y, asimismo, a insectos benéficos.
4. Más de la mitad de los casos positivos se deben a productos que se han ido prohibiendo en la Unión Europea.
5. La mayoría de animales intoxicados llegan muertos al Centro de Recuperación. Los esfuerzos se deben concentrar en evitar que los animales lleguen a entrar en contacto con el veneno.
6. La etología de cada especie y la forma de colocar los venenos permite prever qué tipo de animales serán los más afectados.
7. Debido a las diferencias enzimáticas, las aves tienen una DL50 más baja que otros animales, lo que hace aumentar el número de casos registrados.
8. Nunca se debe descartar que un animal atropellado o ahogado se deba a una intoxicación subyacente.

Conclusions

1. Most of the intoxications produced in wildlife species by AChE have acute symptoms, which indicates that animals take high doses in a short time.

2. Because most of the intoxications are poisonings, they would be avoidables if there was a strict control over the possession and use of these products.
3. The death of intoxicated animals is just a small part of the impact that this pesticides have on the environment, as it also affects reproductive cycles of many amphibians and fish, likewise beneficial insects.
4. Over half of the positive cases of intoxication have been caused by products that are or have been forbidden in the European Union.
5. Most of the animals arrive already dead at the Center. Measures to make the number of deaths decrease must be orientated towards avoiding contact between wildlife and the poison.
6. The behaviour of each species and how the poison is placed makes it possible to anticipate which kind of animals will be more affected.
7. Due to enzymatic differences, birds have a DL50 lower than the rest of animals, which increases the number of cases in this species.
8. Animals hit by a car or drowned should never discard the possibility of an underlying poisoning.

Valoración Personal

Realizar este trabajo me ha permitido varias cosas.

En primer lugar, profundizar más en el impacto que tienen los plaguicidas sobre el medio natural, más allá de las intoxicaciones, que es lo que ya conocía, no era consciente de que pudieran afectar también a los ciclos biológicos de especies menos conocidas.

Al no haber realizado nunca un trabajo de esta magnitud, he aprendido a manejar bibliografías algo más extensas, y la importancia de referenciar todo.

Por último, tampoco había trabajado nunca antes con tantos datos pertenecientes a animales reales. Tener que organizarlos y clasificarlos ha sido un desafío considerable, ya que su manejo va más allá de las tareas que había hecho hasta ahora en los estudios de grado.

Me siento satisfecho con haber podido realizar un trabajo con un Centro de Recuperación, especialmente con el de la Alfranca ya que lo conozco previamente a la realización del trabajo. Admiro mucho la labor que se lleva a cabo en este tipo de centros, por lo que he valorado mucho el haber empleado datos reales, de donde poder extraer conclusiones, y no haberme basado exclusivamente en bibliografía ya escrita.

Bibliografía

1. Alcántara, M. (2008). *Plan de acción para la erradicación del uso ilegal de venenos en el medio natural en Aragón*. Actas del Seminario Mortalidad por intoxicación en aves necrófagas. Problemática y soluciones. Aínsa, Huesca.
2. Barco Juan Carlos, Omar Catalina, Puiguriguer Jordi, Coll Inmaculada, Barceló Bernardi, Castanyer Tomeu (2008). *Revisión de las intoxicaciones graves por insecticidas organofosforados atendidas en un periodo de 11 años (1996-2006)*. Emergencias 2008; 20: 207-211.
3. Berny Philippe, Vilagines Lydia, Cugnasse Jean-Marc, Mastain Olivier, Chollet Jean-Yves, Joncour Guy, Razin Martine (2015). *Vigilance Poison: Illegal poisoning and lead intoxication are the main factors affecting avian scavenger survival in the Pyrenees (France)*. Ecotoxicology and Environmental Safety 118: 71-82.
4. Bodega (de la) Zugasti, D. (2012). *Estudio sobre las sustancias que provocan el envenenamiento de fauna silvestre*. SEO/BirdLife, Madrid.
5. Cano Carlos (2007). *El Veneno en España*. Ambienta mayo 2007: 84.
6. Carod Benedico E. (2002). *Insecticidas organofosforados: "De la Guerra química al riesgo laboral y doméstico"*. Medifam Vol. 12 nº 5.
7. Duffus John H (1983) Plaguicidas y Herbicidas. En: *Toxicología ambiental*, 1ª edición. Duffus John H, Ed. Omega, pp. 76-77.
8. Elliott J.E, Langelier K.M, Mineau P, Wilson L.K (1996). *Poisoning of Bald Eagles and Red-tailed Hawks by carbofuran and fensulfuthion in the Fraser delta of British Columbia, Canada*. Journal of Wildlife Diseases 32: 486-491.
9. Elliott John E., Wilson Laurie K., Langelier Ken M., Mineau Pierre, Sinclair Pamela H. (1996). *Secondary poisoning of birds of prey by the organophosphorus insecticide, phorate*. Ecotoxicology 6: 219-231.
10. Errecalde Carlos A, Prieto Guillermo F, García Ovando Hugo (1989). *Actualizaciones en ectoparasitidas*. Monografías de Medicina Veterinaria Vol. 11, nº 2.
11. Garrido-Lestache Rafael (1988) Plaguicidas Organo-Fosforados. En: *Toxicología pesticidas*, 1ª edición, Garrido-Lestache Cabrera Rafael, Garrido-Lestache López-Belmonte M.E., Madrid, pp. 227-269.

12. Haschek Wanda M,(1995) Biochemical Basis of Toxicology, Nervous System. En: *Handbook of Toxicologic Pathology*, 1ª edición, Haschek Wanda M, Rousseaueux Colin G, Ed. Academic Press, Inc, 64-65, 653-654.
13. Jerez S, Motas M, Almela R.M, Clavel C, Bayón A (2007). *Envenenamientos e intoxicaciones de Fauna Silvestre y Doméstica en la región de Murcia durante el bienio 2005-2006*. An. Vet. (Murcia) 23: 65-74.
14. Jokanović Milan, Stojiljković Miloš P (2006). *Current understanding of the application of pyridinium oximes as cholinesterase reactivators in treatment of organophosphate poisoning*. European Journal of Pharmacology 553: 10-17.
15. Klaasen Curtis D. (2013), Toxic Agents. En: *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 8ª edición, Klaasen Curtis D. et al, Ed. McGraw Hill, Kansas, pp. 939-946.
16. Kwon Y-K., Wee S-H., Kim J-H. (2004). *Pesticide Poisoning Events in Wild Birds in Korea from 1998 to 2002*. Journal of Wildlife Diseases 40: 737-740.
17. del Mar Ruiz Muñoz A. (2011) *Interacciones entre neurotóxicos y susceptibilidad a la neurodegeneración*. Tesis doctoral, Universidad de Almería.
18. Moreno Grau María Dolores (2003) Pesticidas. En: *Toxicología Ambiental: evaluación de riesgo para la salud humana*, 1º edición, Moreno Grau María Dolores, Ed. Mc Graw Hill, Madrid, pp. 289-294.
19. Pochini Katherine M, Hoverman Jason T (2016). *Reciprocal effects of pesticides and pathogens on amphibian hosts: The importance of exposure order and timing*. Environmental Pollution 221: 359-366.
20. Porrini Claudio, Mutinelli Franco, Borolotti Laura, Granato Anna, Laurenson Lynn, Roberts Katherine, Gallina Albino, Silvester Nicholas, Medrzycki Piotr, Renzi Teresa, Sgolastra Fabio, Losesani Marco (2016). *The Status of Honey Bee Health in Italy: Results from the Nationwide Bee Monitoring Network*. PLoS ONE 11(5): e0155411. doi:10.1371/journal.pone.0155411.
21. Repetto Manuel (1995) Actualización de la toxicología de plaguicidas. En: *Toxicología avanzada*, 1º edición, Camean Ana, López-Artíguez Miguel, Martínez Domingo, Menéndez Manuel, Repetto Guillermo, Repetto Manuel et al, Ed. Díaz de Santos, Madrid, pp. 571-584.
22. Robles Sanmartín Javier A., Hernández Vicente Tomás J., Luque Díez Gema (2007). *Tratamiento por organofosforados en aves rapaces*. RCCV Vol. 1.

23. Sánchez-Barbudo IS, Camarero PR, Mateo R (2012). *Intoxicaciones intencionadas y accidentales de fauna silvestre y doméstica en España: diferencias entre Comunidades Autónomas*. Rev. Toxicol. 29: 20-28.
24. Starý F (1995). Calabar bean. En: *Poisonous Plants*. Magna Books pp.150-151.
25. Sogorb Miguel A., Vilanova Eugenio (2002). *Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis*. Toxicology letters 128: 215-228.
26. Sogorb Miguel A., Ganga Raquel, Vilanova Eugenio, Soler Francisco (2007). *Plasma phenylacetate and 1-naphtyl acetate hydrolyzing activities of wild birds as posible non-invasive biomarkers of exposure to organophosphorus and carbamate insecticides*. Toxicology letters 168: 278-285.
27. Soler Rodríguez F., Oropesa Jiménez AL., Pérez López M. (2006). *Análisis de los envenenamientos en fauna silvestre. Situación en Extremadura*. Revisión Toxicológica 23.