

Toxicidad de Insecticidas Fosforados, su Tratamiento e Identificación

LIC. ENNIO RODRÍGUEZ ZAMORA*

LIC. JOSEFINA INGIANNA ACUÑA (M.S.)**

I PARTE

CONSIDERACIONES GENERALES

La acetilcolina presente en el organismo humano es hidrolizada por un gran número de enzimas esterásicas entre las cuales existen algunas específicas: las acetilcolinesterasas. Estas se conocen también como colinesterasas verdaderas por ser responsables de la rápida y continua destrucción de la acetilcolina producida durante la excitación de los nervios colinérgicos. Se localizan en los glóbulos rojos y en el tejido nervioso (1). Las pseudocolinesterasas, son menos activas sobre la acetilcolina y de mayor utilidad en la destrucción de otros ésteres de la colina; se encuentran en el plasma, hígado, páncreas y otros tejidos (8). Estas colinesterasas se encuentran disminuidas en ciertos tipos de cirrosis hepática (Laenec y postnecrótica), en hepatitis (agudas infecciosas y colangiolíticas), infarto del miocardio, etc. (10).

Existen numerosas sustancias que inhiben la actividad de las colinesterasas y que producen en el organismo acciones idénticas a las de la administración de acetilcolina: acciones de tipo muscarínico y de tipo nicotínico.

Son efectos de tipo muscarínico: el aumento en la secreción de las glándulas de secreción externa como la salivación, el lagrimeo; la acción sobre los músculos lisos como el estímulo de la motilidad intestinal, la bronquioconstricción y la miosis; la acción sobre el músculo cardíaco como la bradicardia, retardo en la conducción cardíaca y hasta el aumento de la irritabilidad del corazón por disminución del período refractario del músculo (11).

Los efectos de tipo nicotínico son aquellos que se manifiestan sobre los ganglios autonómicos: primero estímulo, luego depresión y finalmente el estímulo sobre la placa neuromuscular, razón por la que se administran drogas colinérgicas indirectas en miastenia gravis. Sin embargo, una acumulación muy grande de acetilcolina en la placa neuromuscular, produce una despolarización

* Laboratorio Análisis de Drogas, Facultad de Farmacia.

** Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina.

persistente lo que conduce a una acción similar a aquella producida por el curare: debilidad muscular inicial y parálisis de los músculos esqueléticos, de ahí la flacidez muscular y la asfixia que se puede presentar por parálisis de los movimientos respiratorios al estar relajados los músculos que intervienen en la mecánica del proceso (11).

Los inhibidores de las colinesterasas se consideran sustancias de acción colinérgica indirecta porque pueden producir los mismos efectos de la acetilcolina al prevenir que ésta sea normalmente destruída por las colinesterasas en el organismo.

Hay principalmente dos grupos de inhibidores de las colinesterasas: los inhibidores reversibles como la neostigmina (Prostigmina) y los inhibidores "irreversibles" como los insecticidas tipo aril o alquilfosfatos. Los inhibidores reversibles no destruyen las colinesterasas sino que las inactivan temporalmente por formación de un complejo fácilmente disociable (1). Se observa durante ese tiempo una disminución de colinesterasas en la sangre; transcurridas unas horas y dependiendo de la dosis, las colinesterasas alcanzan nuevamente su nivel normal cuando ocurre la disociación del complejo que se formó.

Por el contrario, los inhibidores "irreversibles" forman un complejo con las colinesterasas que puede ser reversible en las primeras horas de su formación si se administran aldoximas como el PAM (piridina 2 aldoxima) o el DAM (diacetil monoxima), también conocidos como reactivadores de las colinesterasas (4). Después de un tiempo, el complejo resulta totalmente irreversible, aun en presencia de aldoximas (4). El nivel de colinesterasas en la sangre no se normaliza si no es con la síntesis de nuevas colinesterasas. El tiempo de resíntesis de estas enzimas varía según los tejidos: en las sinapsas y placa neuromuscular puede durar tres meses y las que se encuentran presentes en el plasma duran unas 2 semanas en regenerarse (8).

Las sustancias anticolinesterásicas inhiben ambos tipos de colinesterasas: las verdaderas, de los glóbulos rojos y las pseudocolinesterasas del plasma. Las fibras colinérgicas liberan acetilcolina en bajas concentraciones y sobre ella actúa la acetilcolinesterasa (verdadera). Cuando la concentración de acetilcolina es muy grande como en los envenenamientos por insecticidas fosforados entran también en juego las pseudocolinesterasas del plasma. Estas pseudocolinesterasas son las primeras en inhibirse en intoxicaciones con esos agentes debido a que su afinidad es mayor por las pseudocolinesterasas que por las verdaderas (11).

En el primer período del envenenamiento puede ocurrir una inactivación casi total de las pseudocolinesterasas del plasma sin que se provoquen acciones farmacológicas evidentes, ya que como se dijo, son las colinesterasas verdaderas las de mayor importancia en la hidrólisis de la acetilcolina. Una vez que las pseudocolinesterasas han sido inhibidas por el agente anticolinesterásico, comienzan a inhibirse las colinesterasas verdaderas, provocando la potencialización de los efectos muscarínicos y nicotínicos de la acetilcolina (11).

Ambos tipos de inhibidores, reversibles e "irreversibles" pueden producir intoxicaciones y desencadenar la llamada "crisis colinérgica" (14). La secuencia de los síntomas puede variar con la ruta de introducción del tóxico al organismo (6), siendo los efectos gastrointestinales los primeros en aparecer si la vía de absorción ha sido la oral. Sudoración y a veces fasciculaciones musculares localizadas si la contaminación ha sido por contacto de la piel. Si la vía de acceso ha sido la respiratoria, aparecen inmediatamente dificultades en ese sistema. Los efectos muscarínicos son los primeros en aparecer y como consecuencia se produce do-

lor abdominal, peristalsis aumentada, vómito y sudor profuso. La miosis es intensa y la visión es borrosa por el espasmo en la acomodación del cristalino. Se presenta además diarrea, micción involuntaria, bradicardia, bronquioconstricción, excesiva secreción bronquial y ocasionalmente edema pulmonar (6).

Los efectos nicotínicos aparecen poco después de los efectos muscarínicos y se caracterizan por debilidad muscular, aumentada fatigabilidad, calambres involuntarios y fasciculaciones. En los casos más severos la debilidad muscular afecta a los músculos respiratorios con el subsecuente trastorno en la respiración. Las fasciculaciones que generalmente aparecen en los párpados y en los músculos de la cara se generalizan al resto del organismo (6).

Entre los efectos sobre el sistema nervioso central se presentan: tensión, ansiedad, insomnio. En casos más graves hay dolor de cabeza, trémor, mareo y confusión mental; ataxia, coma, arreflexia, respiración de Cheyne Stokes, convulsiones generalizadas y finalmente muerte por paro respiratorio (6).

Exámenes post-mortem debidos a Parathion revelan generalmente dilatación capilar, hiperemia, y edema de los pulmones, algunas veces edema cerebral y ocasionalmente en los otros órganos (6).

TRATAMIENTO DEL ENVENENAMIENTO

El tratamiento es principalmente a base de atropina en altas dosis. La atropina antagoniza únicamente los efectos muscarínicos como las hipersecreciones, el estímulo sobre los músculos lisos y la bradicardia. No tiene ninguna acción contra los efectos nicotínicos producidos por las altas concentraciones de la acetilcolina en la placa miomotriz: la debilidad y flacidez musculares y la parálisis respiratoria (3).

Recientemente se ha descubierto que ciertas oximas y derivados del ácido hidroxámico como el PAM o el PAMS, que es la sal soluble en forma de sulfonato y el DAM, son capaces de bloquear los efectos nicotínicos que conducen a la muerte del individuo. Estos agentes conocidos también con el nombre de reactivadores o regeneradores de las colinesterasas, separan la unión "irreversible" de las enzimas con el insecticida fosforado siempre y cuando se administran en el período lábil de la formación del complejo (6). Este período varía según los diferentes agentes pero parece oscilar entre 2 y 8 horas. Una vez transcurrido ese tiempo, los reactivadores son prácticamente inefectivos.

Las acetilcolinesterasas de los glóbulos rojos son reactivadas casi instantáneamente mientras que el proceso es mucho más lento con las pseudocolinesterasas del plasma. Experiencias de médicos japoneses en casos de envenenamientos laborales con Parathion y tratados con PAM reportan un tiempo de 10 minutos para la reactivación de las colinesterasas verdaderas de los glóbulos rojos (16). Sin oximas el tiempo de regeneración de estas colinesterasas en los eritrocitos es de unos 3 meses (8). Si la efectividad de estas oximas como antidotos depende solamente de la reactivación de las colinesterasas o si existe alguna otra acción que condicione esa efectividad, es un problema que no ha sido resuelto todavía.

En la práctica médica se ha observado una gran variabilidad en relación al efecto antidótico de estas oximas. Las variaciones dependen principalmente de la naturaleza de cada insecticida fosforado y del tiempo en que se administre el antidoto (4). El Parathion presenta además el problema de que se transforma en el organismo en paraoxon, metabolito responsable de la acción tóxica (1).

Debido a que esta biotransformación es lenta, es necesario establecer un tratamiento prolongado con oximas para obtener buenos resultados. Muchos de los fracasos observados en combatir los efectos producidos por Parathion se pueden explicar con base en esos razonamientos.

Experimentalmente se ha comprobado que combinaciones de atropina y PAM o PAMS pueden dar mejores resultados que cualesquiera de ellos por separado en el tratamiento de envenenamientos por DFP, TEPP, Parathion, Thimet, Sarin, etc. (5). Efectos variables se han observado con OMPA, Malathion y otros agentes. Son relativamente inefectivos contra Tabun y Dimefox. Con algunos otros insecticidas fosforados como el Sevin y el Diazinon, las oximas han producido efectos tóxicos sinérgicos. En estos casos, el único recurso en el tratamiento de envenenamientos es la administración de altas dosis de atropina y la respiración artificial.

Las oximas y los derivados del ácido hidroxámico han sido también usados en casos de intoxicaciones por sobredosificación de agentes anticolinesterásicos administrados en el tratamiento de la miastenia gravis. Dosis efectivas de PAM controlan la crisis colinérgica que produce la sobredosificación de anticolinesterásicos pero dosis excesivas de la oxima transforman la crisis colinérgica en crisis miasténica (14).

En resumen, las medidas que deben tomarse en envenenamientos por insecticidas fosforados, son las siguientes: (14) (6) (4) (7).

- 1.—Remoción del tóxico por lavado intenso de la piel o de la conjuntiva si la exposición ha sido por contacto. Si el envenenamiento fue por ingestión reciente, debe practicarse lavado gástrico. Sin embargo, si los síntomas son muy severos, estas medidas podrán ser tomadas posteriormente.
- 2.—Remoción de las secreciones bronquiales y libre mantenimiento de las vías respiratorias. Se practicará traqueotomía y se administrará oxígeno si fuere necesario.
- 3.—Respiración artificial con presión positiva o manual, si existe carencia de equipo, debe practicarse cuando la ventilación pulmonar sea inadecuada y deberá mantenerse mientras exista esa condición.
- 4.—Para casos leves, en adultos, se administrarán 2 mg de sulfato de atropina por la vía intramuscular. Los efectos se observan después de 20 minutos de practicada la inyección y son máximos a los 40 minutos. Si los síntomas de tipo muscarínico (sudoración, miosis, bradicardia) todavía están presentes y si no aparecen signos de atropinización (sequedad de la boca y de la piel), la inyección de atropina debe ser repetida a intervalos de 30 minutos hasta que eso ocurra. Un grado adecuado de atropinización debe ser mantenido por lo menos por 24 horas.
Síntomas severos se tratan con 2-4 mgm de sulfato de atropina por la vía intravenosa. Los efectos se observan después de 4 minutos y son máximos a los 8 minutos después de la inyección. Si los efectos muscarínicos están todavía presentes, la inyección de atropina debe ser repetida a intervalos de 10 minutos. Cierta grado de atropinización debe mantenerse por lo menos por 48 horas. En casos severos se han administrado dosis hasta de 350 mgm de sulfato de atropina en 24 horas (9), debido a la marcada tolerancia atropínica que existe en este tipo de envenenamientos (en condiciones normales, la dosis tóxica (15) de atropina es de 100 mgm para un adulto y de 10 mgm para un niño).

- 5.—Por las vías intravenosa o intramuscular puede administrarse PAM, PAMS o DAM si el insecticida fosforado es susceptible de ser reactivado (ver discusión) en dosis de 1 ó 2 gramos para un adulto y dependiendo de la severidad de los síntomas, con una dosis máxima de 30 mgm/kilo de peso. La velocidad de la inyección de PAM o PAMS será de 500 mgm por minuto y la de DAM: 200 mgm por minuto.
Si los síntomas persisten, dosis de mantenimiento de 250 mgm deben administrarse ya sea periódicamente por la vía intramuscular o por infusión intravenosa lenta.
- 6.—Para aliviar las convulsiones si estas interfieren con la respiración, se puede administrar 1 gramo de trimetadiona (Tridione) por la vía intravenosa cada 15 minutos hasta un máximo de 5 gramos o tiopental sódico (sol. 2.5%) por vía intravenosa, teniendo presente que la trimetadiona tiene menor efecto depresor del centro respiratorio que los barbitúricos. Por la misma razón está contraindicada la administración de morfina.

II PARTE

ANALISIS QUIMICO Y FARMACOLOGICO DE HARINA CONTAMINADA CON INSECTICIDAS FOSFORADOS

La muestra de harina fue previamente seleccionada* y sometida a diferentes procedimientos químicos con el objeto de aislar el principio tóxico. Se procedió luego a su identificación por medios químicos y farmacológicos.

IDENTIFICACION QUIMICA

Este análisis involucra la comprobación de la toxicidad, por métodos biológicos, y el aislamiento y la determinación del tipo de veneno mediante columna cromatográfica y análisis elemental.

METODOS

- 1.—La toxicidad del producto mencionado se comprobó por vía oral e intraperitoneal en lotes de cinco ratones blancos de laboratorio.
- 2.—La identificación del tipo de veneno requirió los siguientes pasos:
 - a. Determinación de la solubilidad del tóxico.
 - b. Extracción del principio venenoso contenido en la harina.
 - c. Análisis elemental del tóxico.
- a. Determinación de la solubilidad del principio tóxico.

Este ensayo se llevó a cabo tomando muestras de la harina tóxica y extrayéndola con diferentes solventes. La sustancia extractada, sin el solvente, suspendida en agua, se inyectó por vía intraperitoneal a ratones blancos. En esta forma, la solubilidad del principio venenoso en los diferentes solventes, se comprobó indirectamente, mediante la toxicidad del extracto inyectado. Se efectuaron los ensayos en blanco correspondientes.

* La muestra fue suministrada a la Escuela de Farmacia por el Ministerio de Salubridad Pública previa selección efectuada en sus laboratorios.

- b. Extracción del principio venenoso.
Conociendo las solubilidades del principio se planeó su extracción tratando primero la harina con éter de petróleo para extraer la materia soluble en este solvente y que no es tóxica, y extraer en segundo lugar, con acetona o cloroformo, el principio venenoso libre de grasa.
- c. En la materia tóxica, separada como se indica anteriormente, se efectuó un análisis elemental para fósforo. Para tal fin se procedió a efectuar una fusión del principio extraído con mezcla oxidante de nitrato de potasio y carbonato de sodio. La identificación de iones se hizo mediante reacciones generales para fosfato.

DETERMINACION INDIRECTA DE LA SOL. DEL PRINCIPIO TOXICO

Cantidad y tipo de solvente	Muestra en gramos harina intoxicada	Nº ratones de ap. 30 g de peso	Nº ratones muertos	Tiempo de muerte en minutos	Solubilidad
Alcohol 50 ml	10 g	5	5	30 a 60'	+
Agua 5 ml	10 g	5	0	—
Eter de petróleo 50 ml	10 g	5	0	—
Eter etílico 50 ml	10 g	5	5	15 a 30'	++
Acetona 50 ml	10 g	5	5	15 a 30'	++
Cloroformo 50 ml	10 g	5	5	15 a 30'	++
	Harina pura				
Alcohol 50 ml	10 g
Agua 5 ml	10 g	5	0
Eter de petróleo 50 ml	10 g	5	0
Eter etílico 50 ml	10 g	5	0
Acetona 50 ml	10 g	5	0
Cloroformo 50 ml	5	0

RESULTADOS

- 1.—En el ensayo de toxicidad murieron los ratones presentando cianosis después de un período convulsivo que duró entre 15 y 45 minutos.
- 2.—De la determinación de solubilidad se deduce que el tóxico es insoluble en agua y en éter de petróleo, ligeramente soluble en alcohol y soluble en éter

etílico, cloroformo y acetona. Esta solubilidad es presentada (15) por compuestos como los del grupo P-O-R (donde R = grupo alquil o aril).

3.—Las pruebas para fósforo son positivas.

CONCLUSION

Mediante el ensayo de la solubilidad se sospecha de un éster alquil o aril fosforado. Se confirma esta suposición por el ensayo positivo para fósforo.

IDENTIFICACION FARMACOLOGICA

Una vez aislado el principio activo y debido a la pequeña cantidad del mismo, sólo se pudo efectuar un ensayo en un perro anestesiado al cual se le registraron diferentes parámetros antes y después de la administración del tóxico.

METODOS

El ensayo se llevó a cabo en un perro de 5 Kg de peso, anestesiado con nembutal sódico. Se registró la presión arterial canulando la carótida y conectándola a un manómetro de mercurio.

La frecuencia y amplitud respiratorias se determinaron por medio de un neumógrafo conectado a un tambor de Marey.

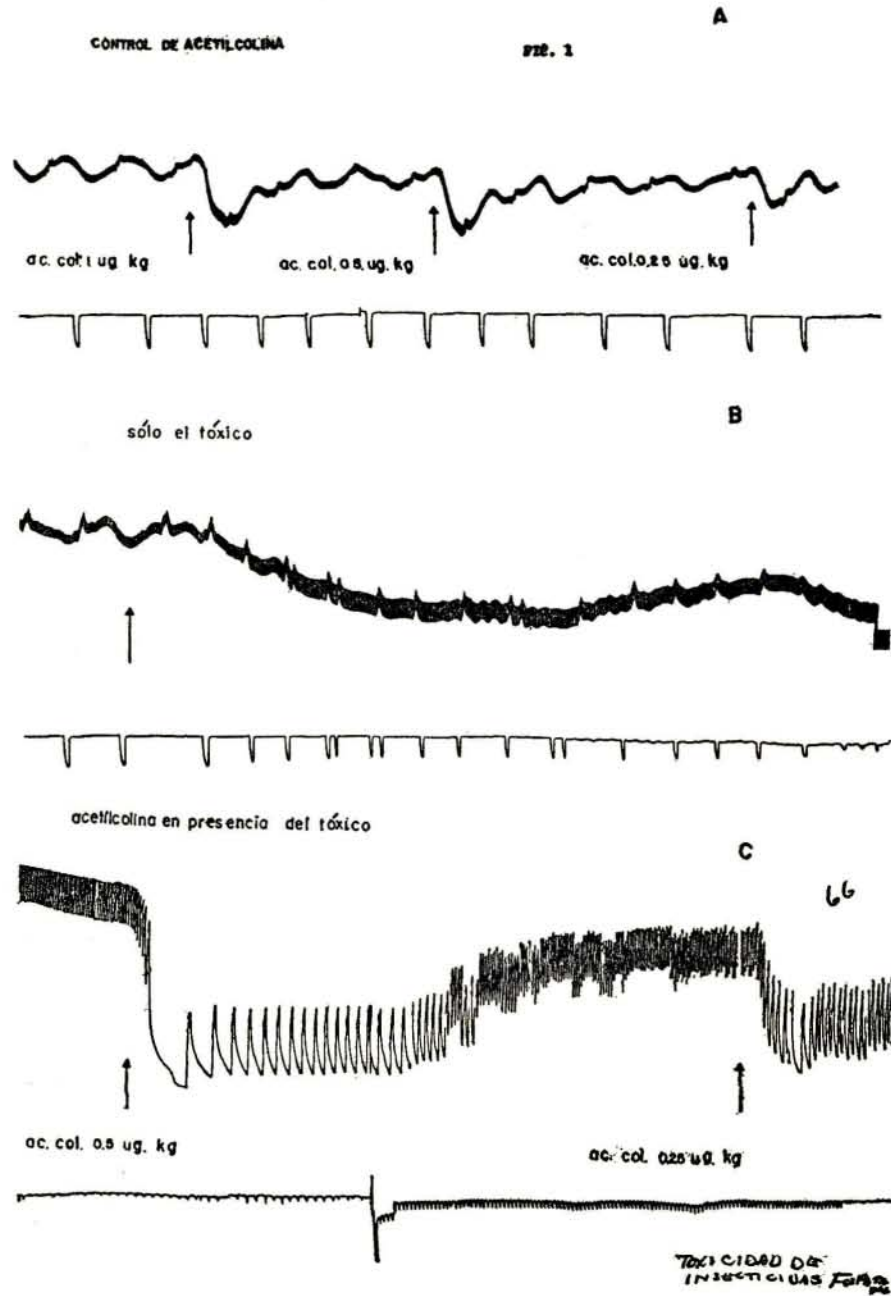
Ambos registros se hicieron en un tambor de quimógrafo con las respectivas plumillas inscriptoras.

La frecuencia cardíaca y el estado general del corazón se recogieron por medio del electrocardiograma.

Las sustancias se administraron al perro por vía intravenosa, previa disección y canulación de la vena femoral, con un catéter de polietileno. Se sacaron muestras de sangre antes y después de la administración del tóxico para determinar colinesterasas. Estas fueron valoradas con hidroxilamina y cloruro férrico según el método de Natelson (13).

RESULTADOS OBTENIDOS AL INYECTAR EL TOXICO

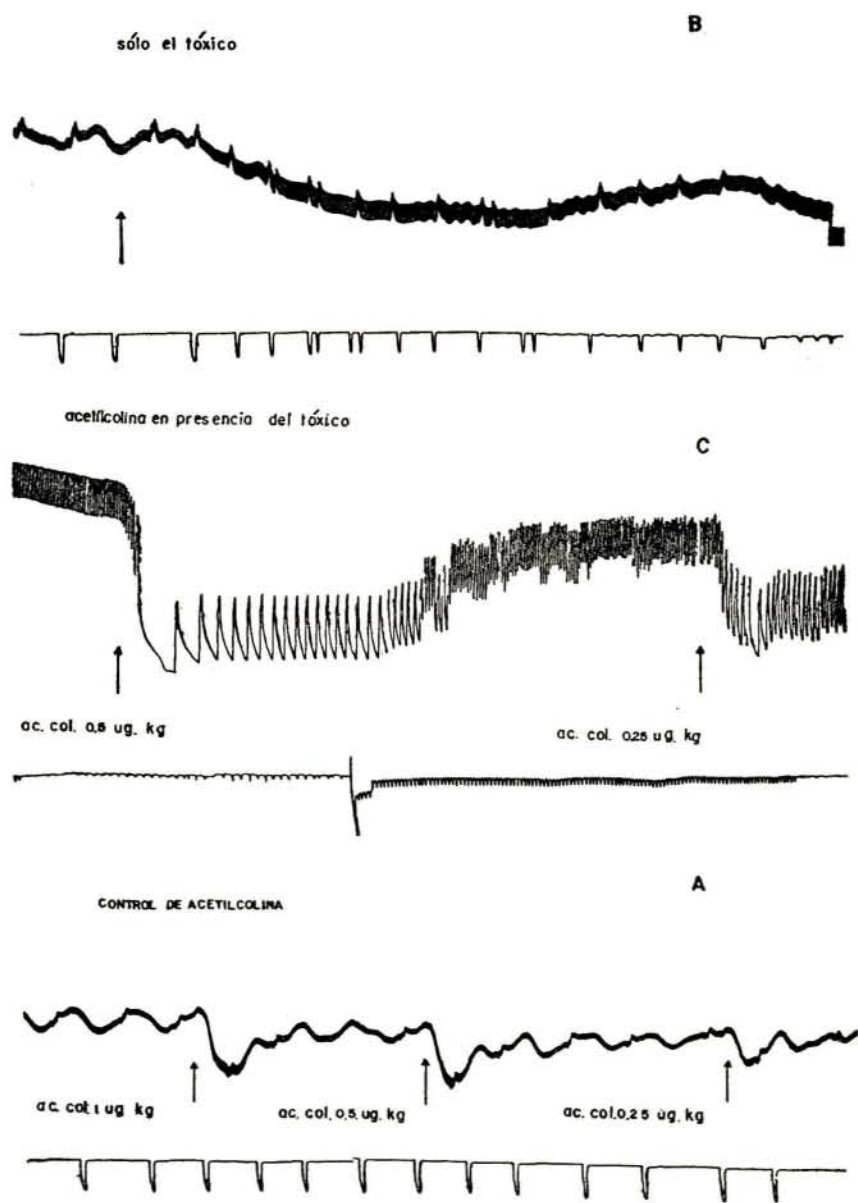
- 1.—Intensa depresión respiratoria lo que condujo al paro de la respiración. Esto hizo necesario el uso de una bomba para respiración artificial.
- 2.—Hipotensión profunda (de 100 a 30 mm de Hg) por lo que se administraron agentes hipertensores como epinefrina para prevenir el shock.
- 3.—Bradycardia intensa (de 150 a 20 pulsaciones por minuto).
- 4.—Depresión general de la actividad cardíaca. Estímulos ocasionales en la aurícula aunque de mayor frecuencia que los ventriculares. Estos últimos probablemente de origen en el nódulo aurículo-ventricular.
- 5.—Salivación abundante.
- 6.—Potencialización exagerada de las dosis de acetilcolina que se tomaron como estándar antes de administrar el tóxico (descenso en presión art. con 0.5 ug acet. colina = 30 mm Hg; descenso en presión art. con esa misma dosis pero en presencia del tóxico = 70 mm Hg).
- 7.—Inhibición de las colinesterasas en sangre completa: 64%.



POTENCIALIZACION DE LA ACETILCOLINA
EN PRESENCIA DEL TOXICO

FIGURA 1

En A, B y C el registro superior es el de la presión arterial y el inferior el de la frecuencia y amplitud respiratorias. Las flechas indican el tiempo de administración de las drogas.



- A. Descenso en presión arterial producido por diferentes dosis de acetilcolina que se tomaron como estándar antes de inyectar el tóxico. La respiración es espontánea.
- B. Inyección del tóxico produce un marcado descenso en la presión sanguínea. La amplitud y frecuencia respiratorias son progresivamente deprimidas hasta paralizarse por completo.
- C. Después de recuperación de la presión arterial se inyectaron dos de las dosis estándar de acetilcolina. El descenso está potencializado en alto grado. La respiración es mantenida artificialmente.

DISCUSION

La hiperactividad parasimpática observada después de la administración del tóxico coincide con la sintomatología producida por la inhibición de las colinesterasas.

La hipotensión, bradicardia y salivación intensas son manifestaciones de la potencialización de los efectos muscarínicos de la acetilcolina que se acumula al estar inhibida su destrucción (8).

El bloqueo auriculoventricular y la depresión en la actividad eléctrica del corazón, tanto en la aurícula como en el ventrículo, son manifestaciones de la acción muscarínica y se deben al aumento en el período refractario del tejido de conducción del corazón y a la acción depresora directa de la acetilcolina sobre el nódulo del seno y el aurículo ventricular (11).

La depresión inicial y el paro respiratorio observados son debidos a la acción nicotínica de la acetilcolina (1). Su efecto despolarizante persistente en la placa neuromuscular impide el paso de los impulsos del nervio al músculo esquelético, de ahí la inhibición respiratoria por incapacidad de los músculos respiratorios de responder a los estímulos que controlan la mecánica del proceso. Es un efecto semejante al producido por el curare, con la diferencia de que el curare previene la despolarización de la placa neuromuscular al establecerse un antagonismo competitivo con la acetilcolina a ese nivel. El resultado final es el mismo: por prevención de la despolarización (curare) o por una despolarización persistente (anticolinesterasas), los estímulos no pasan del nervio somático al músculo esquelético y se produce la asfixia por paro respiratorio.

No se pudo observar la miosis característica de las intoxicaciones con agentes colinérgicos debido a las alteraciones que en el diámetro de la pupila producen el agente anestésico y las drogas adrenérgicas usadas para poder mantener la presión sanguínea.

La potencialización a las dosis control de acetilcolina administradas antes y después del tóxico (ver Figura 1) es una de las pruebas clásicas que confirman el mecanismo de acción del tóxico: la inhibición de las colinesterasas. Esto se reafirmó posteriormente por el análisis de colinesterasas sanguíneas.

CONCLUSIONES

El tóxico estudiado es una droga colinérgica indirecta que actúa principalmente inhibiendo las colinesterasas. La exacerbación de los efectos parasimpaticomiméticos conduce a la muerte por paro respiratorio.

SUMARIO

Se hicieron análisis químicos y farmacológicos de la harina intoxicada previa extracción del veneno mediante columna cromatográfica.

Se determinó indirectamente la solubilidad del principio tóxico por extracción con diferentes solventes; posteriormente se ensayó en lotes de ratones blancos. Estas pruebas de solubilidad coincidieron con las de los compuestos tipo alquil o aril fosfatos. El análisis posterior para fósforo dio resultados positivos.

La sintomatología observada en el perro y en los lotes de ratones al administrar el tóxico, coincide con la producida por los agentes anticolinesterásicos.

Fueron positivas las pruebas farmacológicas clásicas que se hicieron en el perro anestesiado y que caracterizan a ese tipo de compuestos. La inhibición de las colinesterasas se comprobó luego colorimétricamente.

NOTA:—Se agradece la colaboración del Dr. Mario Miranda G., por la lectura del electrocardiograma. De la Dra. Eugenie R. de Monge por la determinación de las colinesterasas. Del Sr. Efrén Fernández M., por su valiosa ayuda en las técnicas químicas de laboratorio.

S U M M A R Y

Chemical and pharmacological assays were performed on extracts of the contaminated flour. The extracts were fractionated by chromatographic methods prior to use in assays.

Indirect determinations of the solubility characteristics of the toxic principles were obtained by extraction with different solvents followed by assay in white mice.

These solubility characteristics thus established paralleled of alkyl or aryl phosphate compounds.

Analysis of the extracted principle showed phosphorus to be present.

The symptoms of intoxication observed in the dog and mice corresponded to those produced by anticholinergic drugs.

The pharmacological tests in anesthetized dog gave characteristic and comparable results for these group of drugs.

The cholinesterase inhibition was determined by colorimetric assay.

B I B L I O G R A F I A

- 1.—CESTARI, A.
Farmacologia, II ed., Tinarelli L., Bologna, 1964, p. 189.
- 2.—BLOCK, R. J., DURRUM, E. L., AND ZWEIG, G., II ED.
A manual of paper chromatography and paper electrophoresis, Academic Press, Inc., New York, 1958, p. 386.
- 3.—DONE, A. K.
Clinical pharmacology of systemic antidots, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2, N° 6, 750, 1961.
- 4.—ELLIN, R. I. AND WILLS, J. H.
Oximes antagonistic to inhibitors of cholinesterase, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Part I, 53, N° 9, 995, 1964.
- 5.—ELLIN, R. I. AND WILLS, J. H.
Oximes antagonistic to inhibitors of cholinesterase, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Part II, 53, N° 10, 1143, 1964.
- 6.—GROB, D. AND HARVEY, A. M.
The effects and treatment of nerve gas poisoning, *The Am. J. of Med.*, 14, N° 1, 52, 1953.

- 7.—GROB, D. AND JOHNS, R. J.
Treatment of anticholinesterase intoxication with oximes. *The J. of Med. Assoc.*, April 12, 1955, 1958.
- 8.—GOTH, A.
Medical Pharmacology, II ed., The C. V. Mosby Company. Saint Louis, 1964, p. 58.
- 9.—HOWARD, F. C.
Terapéutica, Salvat Ed. S. A., 1964, p. 846.
- 10.—KOLMER, J.
Diagnóstico clínico por los análisis de laboratorio, 3 ed., Interamericana S. A., México, 1964, p. 107 y 124.
- 11.—LITTER, M.
Farmacología, II ed., El Ateneo, Argentina, 1963, p. 409.
12. McELVAIN, S. M.
La caracterización de compuestos orgánicos, Aguilar, S. A., Madrid, 1953, p. 36.
- 13.—NATELSON, S.
Microtechniques of clinical chemistry, Charles Thomas, 1963, p. 184.
- 14.—OSSERMAN, K. E.
Studies in myasthenia gravis: reduction in mortality rate after crisis, *JAMA.*, 183, Nº 2, 97, 1963.
- 15.—SOLLMANN, T.
A Manual of Pharmacology, VIII ed. W. B. Saunders Company. Philadelphia, 1957, p. 432 y 392.
- 16.—TATUSJI NAMBA AND KIYOSHI HIRÁKI.
PAM (pyridine-2-aldoxime methiodide) therapy for alkylphosphate poisoning. *The J. of Am. Med. Assoc.*, April 12, 1958.

CURSO SOBRE ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES EN LOS NIÑOS, QUE SERA IMPARTIDO EN MIAMI BRACH, FLORIDA, DEL 9 AL 12 DE MARZO DE 1966. CONTARA CON LA COLABORACION DE DISTINGUIDOS PROFESORES LOCALES Y VISITANTES. LA CUOTA DE INSCRIPCION ES DE \$80.00. COORDINADOR DR. DONALD H. ALTMAN, VARIETY CHILDREN'S HOSPITAL, 6125 SW 31 ST STREET, MIAMI, FLORIDA.

I CONGRESO DEL CANCER EN EL CARIBE, 12 A 15 DE DICIEMBRE, 1965, EN LA UNIVERSIDAD DE LAS INDIAS OCCIDENTALES, KINGSTON, JAMAICA. INSCRIPCION \$25. PARA MAS INFORMES DIRIGIRSE: DR. KENNETH McNEIL, F.R.C.S., F.A.C.S. SECRETARY GENERAL, CARIBBEAN CANCER CONGRESS, 5 TANGERINE, PLACE, KINGSTON 10. JAMAICA WEST INDIES.