

## **Investigación epidemiológica sobre los pequeños productores y los trabajadores agrícolas en la agricultura convencional y orgánica (banano) en Ecuador**

Parte 2:

Informe del estudio sobre las investigaciones en materia de bio-monitoreo humano

**18 de septiembre de 2016**

Sobrevista

- 1. Resumen ..... 5
- 2. Realización de los análisis Cytome de las células de la cavidad bucal..... 6
  - b ..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
  - a. Métodos estadísticos..... 9
  - b. Resultados de los extremos genotóxicos y citotóxicos ..... 9
  - c. Evaluación de los resultados ..... 10
  - d. Sinopsis de los resultados: Encuesta y prueba micro-nuclear ..... 10
- 3. Literatura ..... 11

## 1. Resumen

Los trabajadores agrícolas y los pequeños productores en las plantaciones de banano convencionales están expuestos a altos niveles de plaguicidas. En el estudio que realizamos en Ecuador, se examina su salud y se realiza una comparación con las personas que cultivan banano sin utilizar plaguicidas.

Se preguntó a los 71 participantes en el estudio sobre los síntomas de salud que habían observado en los últimos seis meses. Los resultados muestran diferencias significativas entre los dos grupos: Tanto las irritaciones locales (piel, conducto respiratorio superior, ojos) como las molestias en el área del tracto gastrointestinal (náuseas, vómito, diarrea) fueron significativamente más comunes en los usuarios de plaguicidas. Se puede concluir que la salud de los trabajadores agrícolas se ve seriamente comprometida con el uso de biocidas. Una descripción detallada se puede encontrar en nuestro informe sobre la encuesta del estudio 2016 (<http://www.aegu.net/Bananen-Pestizidstudie.pdf>).

Ahora también se encuentran disponibles los resultados de la llamada prueba de micro-núcleos. A este fin, utilizando una espátula de madera, inicialmente se toman hisopos de la mucosa en la cavidad bucal. Luego se procesan y examinan las células con respecto a los cambios (adicionales) - pequeños núcleos, brotes nucleares, etc. Tales anomalías del núcleo han de entenderse como los primeros signos de advertencia de un potencial carcinogénico de la exposición. Estas anomalías celulares se encontraron con una frecuencia significativamente mayor en los usuarios de plaguicidas que en el grupo de referencia que no utiliza plaguicidas.

Nuestros resultados ponen de relieve la necesidad urgente de adoptar medidas de protección para los trabajadores agrícolas afectados en las plantaciones de banano. No sólo los efectos agudos considerados reversibles se observan con una frecuencia significativamente mayor en el grupo expuesto. Los resultados de los estudios de las células mucosas bucales evidencian muy claramente que a largo plazo la salud está en riesgo debido a la exposición a agroquímicos. Los resultados de nuestra investigación sugieren que los usuarios de plaguicidas tienen un mayor riesgo de desarrollar cáncer.

## 2. Realización de los análisis Cytome de las células de la cavidad bucal

A efectos del monitoreo, se llevó a cabo un análisis Cytome de las células de la cavidad bucal (ensayo de micro-núcleos). Este método de examen no invasivo se utiliza para mostrar los cambios genotóxicos y citotóxicos. El examen es indoloro para los voluntarios y no representa ningún riesgo.

Para los análisis, basta con frotar de la mucosa en la cavidad bucal (mejilla izquierda y derecha por separado) con una espátula de madera (Tolbert et al., 1992). A continuación, el material extraído o las células obtenidas se extienden sobre un extremo del portaobjetos en el microscopio, en el que previamente se ha aplicado una gota de agua estéril con una pipeta estéril. Las placas de vidrio se marcan con un número de código.

Luego, en un laboratorio especializado de profesionales experimentados en Viena, se realiza una minuciosa evaluación de las células después de la preparación, conforme al protocolo de Thomas et al. (2009).

Las células en el portaobjetos se tiñen conforme a Feulgen (tinción específica de ADN), se enjuagan durante tres minutos con agua corriente y después se tiñen en la oscuridad durante 90 minutos a temperatura ambiente con el reactivo de Schiff. Luego, se contra-tiñen los portaobjetos de verde claro con 0,2%. (w/v).

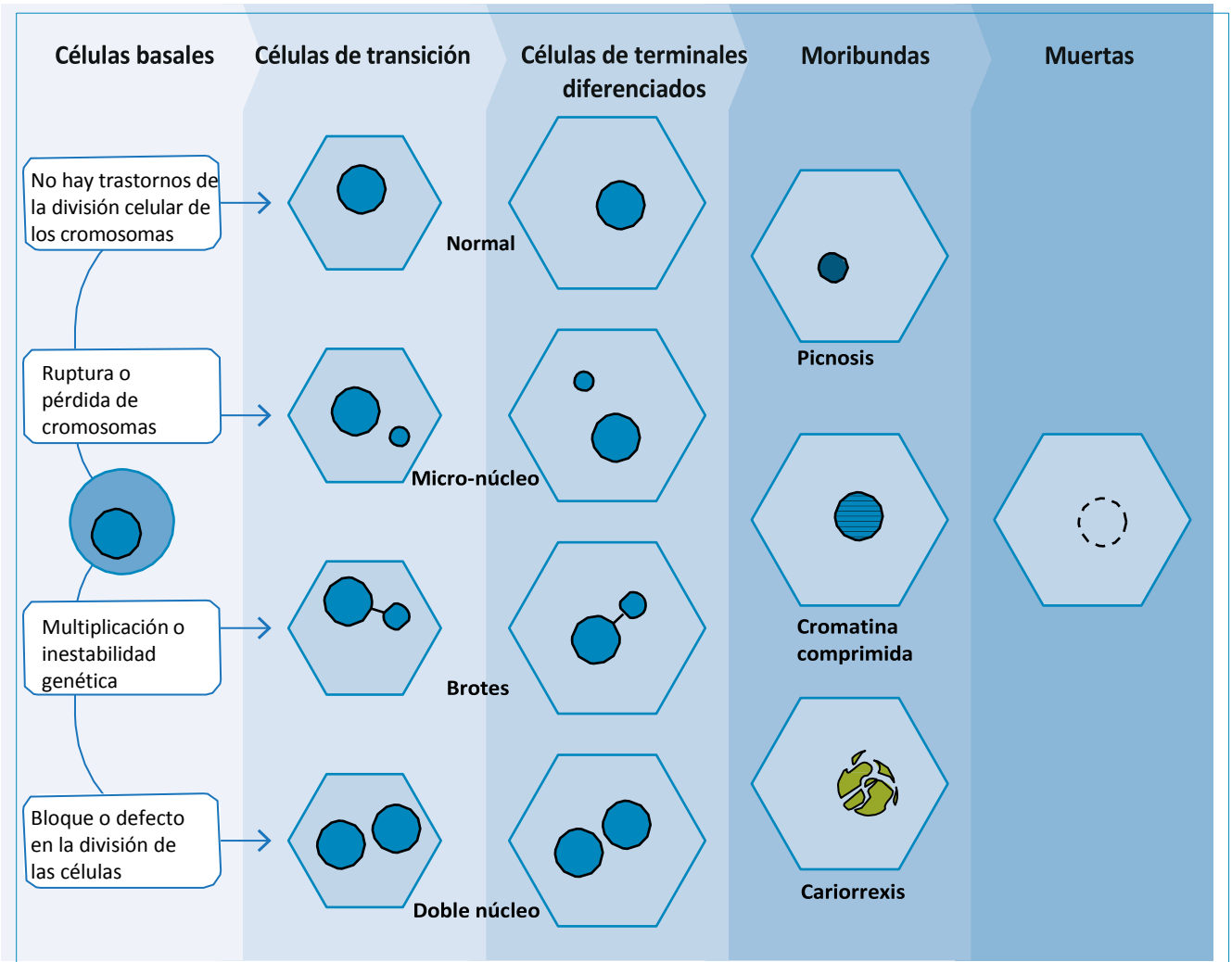
Después de esta tinción y contra-tinción específica de ADN, en una primera etapa se analizaron 1.000 células diferenciadas y células basales en todas las variaciones (pequeños núcleos, brotes nucleares, "huevos rotos", células de doble núcleo, cromatina condensada, células cariolíticas y picnóticas), en un microscopio de fluorescencia se aumentó 400 veces su tamaño y luego se examinaron otras 1.000 células diferenciadas de micro-núcleos, brotes nucleares y "huevos rotos".

Como micro-núcleos se denominan las estructuras intracelulares que contienen cromatina y están rodeadas por su propia membrana sin conexión con el núcleo de la célula. Durante la división celular se forman a partir del núcleo celular como el punto final de un daño genotóxico, mediante la exclusión de cromosomas enteros (efecto aneugénico) o fragmentos de cromatina (efecto clastogénico). Otras anomalías que indican efectos genotóxicos, son los brotes nucleares (el ejemplo se produce como resultado de una multiplicación genética) y los "huevos rotos". Las células de doble núcleo muestran efectos citotóxicos, como también una combinación de efectos genéticos y citotóxicos. Las diferentes etapas de la muerte celular, que puede tener causas tanto genotóxicas como citotóxicas, son picnosis, cromatina condensada (presencia de filamentos de cromatina en los que se encuentra más densamente envasada), cariorrexis (mayor compresión de la cromatina de ADN) y cariólisis (la disolución del núcleo celular, las llamadas "células fantasma").

En la siguiente tabla (Figura 1) se muestran las diversas anomalías nucleares y sus posibles causas.

**Figura 1**

Visión general del desarrollo de diversas células de la cavidad bucal con y sin anomalías nucleares



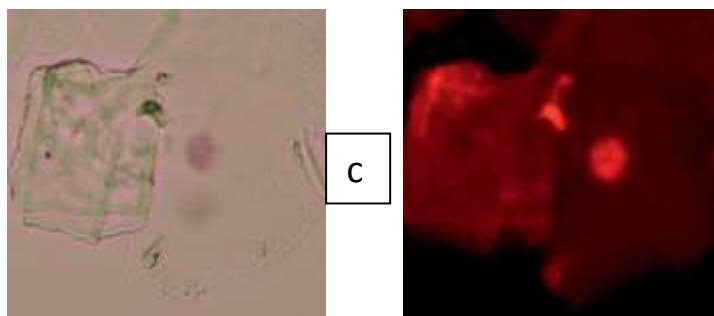
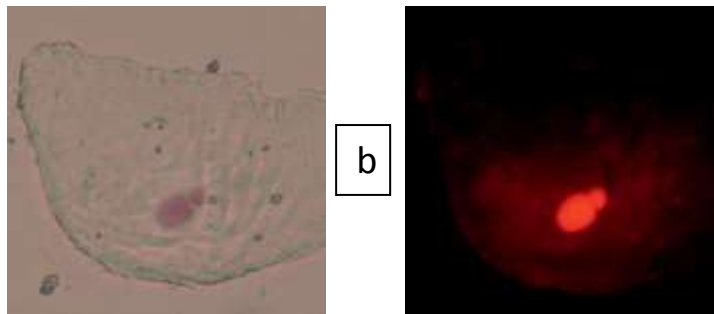
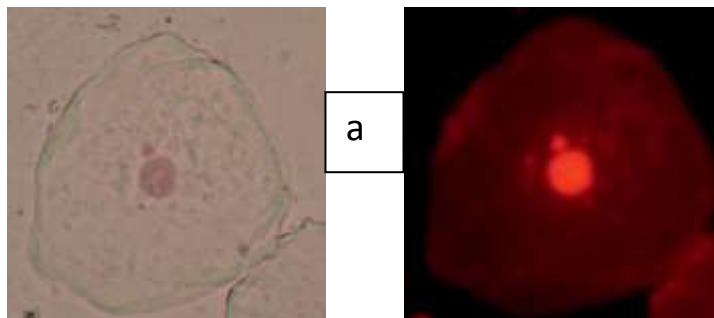
En la Figura 2 se muestra el aspecto de las células bajo el microscopio con filtro y sin filtro de fluorescencia.

**Figura 2**

Ejemplos de microfotografías de Células de la cavidad bucal.

- a) Células con micronúcleos,
- b) Brote nuclear
- c) Cariorrexis (célula der.) y Cariolisis (célula izq.).

ADN se tiñe según Feulgen, citoplasma con luz verde. Se amplían x 400 las células en transmisión (imagen izq.) y filtro de fluorescencia en la zona roja de trasfondo (imagen der.)



## a. Métodos estadísticos

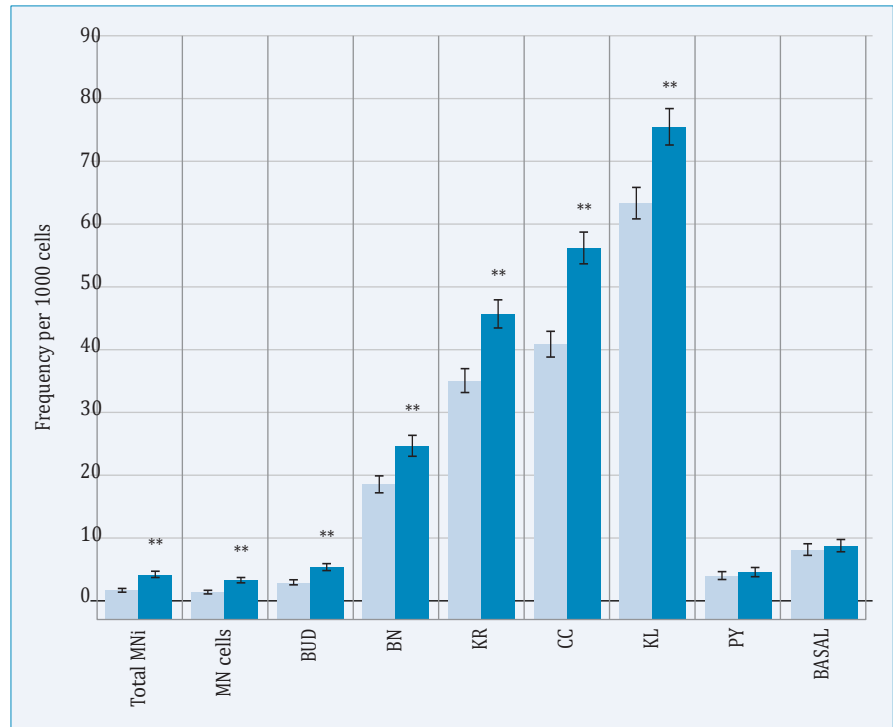
Las anomalías de las células individuales fueron analizadas mediante el modelo lineal generalizado, en el cual la distribución de frecuencias según Poisson son aceptadas mediante el enlace-conector. En este caso, se tuvo en cuenta la edad como factor de influencia.

## b. Resultados de los extremos genotóxicos y citotóxicos

Los pequeños núcleos, los brotes nucleares y los “huevos rotos” pertenecen en especial a los puntos extremos que muestran efectos genotóxicos. Los puntos extremos que más bien muestran efectos citotóxicos son núcleos dobles, cromatina condensada, cariorrexis, cariólisis y picnosis. Los resultados de estos puntos extremos se muestran en la siguiente figura 3.

**Figura 3**

Anomalías nucleares en las células de la mucosa bucal de los no usuarios (barras claras) y usuarios de plaguicidas (barras negras). Las columnas representan valores promedio (95% intervalo de confianza) de las tasas obtenidas de los no usuarios (n = 37) y de los usuarios de plaguicidas (n = 31); \*\* P < 0,01; MNI Total: número total de pequeños núcleos Células MN: número de examinados células con micro-núcleos BUD: brote nuclear ("huevo roto") BN: células dobles KR: cariorrexis CC: cromatina condensada KL: cariólisis PY: picnosis Basal: Células basales.



La figura pone en evidencia que los dos grupos (los no usuarios de plaguicidas: n = 37; los usuarios de plaguicidas: n = 31) claramente se difieren en siete anomalías centrales (alta significancia): El parámetro (anomalías nucleares) número total de micro-núcleos y número de células con micro-núcleos, brotes nucleares, núcleos dobles, cariorrexis, cromatina condensada y cariólisis, se encuentran con una frecuencia significativamente mayor en los usuarios de plaguicidas.

Por ejemplo, es posible encontrar alrededor de un 155% más de micro-núcleos, un 84% más de brotes nucleares, un 32% más de células con doble núcleo, un 37% más células con cromatina condensada en los usuarios de plaguicidas que en los no usuarios de plaguicidas.

Las frecuencias relativas a las células picnóticas y las células basales no se diferencian entre los dos grupos.

### c. Evaluación de los resultados

La prueba utilizada es una prueba establecida y normalizada para la detección de aberraciones cromosómicas. Los presentes resultados evidencian que el grupo de usuarios de plaguicidas tienen tasas significativamente mayores de anomalías nucleares que los no usuarios de plaguicidas.

Las anomalías genotóxicas deben entenderse como los primeros signos de advertencia de un potencial carcinogénico de la exposición. Por lo tanto, una mayor tasa de anomalías de las células puede ser utilizada para predecir un riesgo de enfermedad.

Entre tanto se encuentran a disposición resultados de diversos estudios epidemiológicos en relación con la exposición de trabajadores a plaguicidas. Aun cuando los resultados no sean siempre consistentes, estas investigaciones permiten sacar como conclusión que los trabajadores agrícolas que están en contacto con plaguicidas pueden correr un riesgo significativamente mayor de desarrollar, entre otras cosas, un linfoma no hodgkiniano (cáncer de los ganglios linfáticos) y leucemia (como De Roos et al., 2003, McDuffie et al., 2001). En última instancia, estos vínculos fueron también confirmados por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) en relación con ciertos plaguicidas como por ejemplo el glifosato o sus preparados, herbicida a menudo mencionado en nuestro estudio (IARC 2015, Guyton 2015).

### d. Sinopsis de los resultados: Encuesta y prueba micro-nuclear

Se entrevistó a los sujetos de prueba sobre los síntomas de salud que habían observado en los últimos seis meses. Los resultados muestran diferencias significativas entre los dos grupos: Tanto la aparición de irritaciones locales (piel, conducto respiratorio superior, ojos) como los síntomas generales (como fatiga, náuseas, mareos) fueron significativamente más comunes en los usuarios de plaguicidas. Se puede concluir que la salud de los trabajadores agrícolas se ve gravemente afectada por el uso de biocidas. Por ejemplo, con respecto a las molestias del tracto gastrointestinal (p.ej. náuseas, vómito, diarrea) hay un riesgo de seis a casi 8 veces mayor de padecer tales molestias en comparación con los no usuarios de plaguicidas (véase nuestro informe del estudio sobre la encuesta 2016).

Los resultados de las pruebas de micro-núcleos presentados arriba destacan la urgencia de adoptar medidas de protección para los trabajadores agrícolas afectados: no sólo los graves efectos - considerados como reversibles - son identificados con una frecuencia significativamente mayor en el grupo expuesto, sino que también los resultados de las investigaciones de las células bucales con toda claridad dejan en evidencia que también está en riesgo la salud a largo plazo por la exposición a agroquímicos. Los resultados confirman que estos usuarios de plaguicidas muestran correr un riesgo significativamente mayor de contraer cáncer.

**En general, a partir de las investigaciones se puede deducir que en los usuarios de plaguicidas no sólo sufren un deterioro de su bienestar - y una eficaz recuperación durante el tiempo de descanso se ve interrumpida por los síntomas - sino que también corren un mayor riesgo de contraer cáncer.**



### 3. Literatura

De Roos AJ, Zahm SH, Cantor KP et al. (2003): Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. *Occup Environ Med* 60:E11.

Guyton KZ, Loomis D, Grosse Y, El Ghissassi F, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Scocciati C, Mattock H, Straif K (2015): International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group, IARC, Lyon, France. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *Lancet Oncol* 16:490-491.

Hutter H-P, Kundi M, Ludwig H, Moshhammer H, Wallner P (2016): Bananen-Pestizidstudie: Epidemiologische Untersuchung von Kleinbauern und Landarbeitern im konventionellen und ökologischen Landbau (Bananen) in Ecuador. Studienbericht über die Fragebogenerhebung. Im Auftrag der Ärztinnen und Ärzte für eine gesunde Umwelt (ISDE Austria), Wien 2016. <http://www.aegu.net/Bananen-Pestizidstudie.pdf>

International Agency for Research on Cancer (IARC) (2015): Volume 112: Some organophosphate insecticides and herbicides: tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon and glyphosate. IARC Working Group. Lyon; 3-10 March 2015. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum (in press).

McDuffie HH, Pahwa P, McLaughlin JR et al. (2001): Non-Hodgkin's lymphoma and specific pesticide exposures in men: cross-Canada study of pesticides and health. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10:1155-1163.

Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmüller S, Fenech M (2009): Buccal micronucleus cytome assay. *Nat Protoc* 4:825-37.

Tolbert P, Shy CM, Allen JW (1992): Micronucleus and other nuclear anomalies in buccal smears: Methods development. *Mut Res* 271:69-77.

Traducido por la oficina coordinadora de la campaña ¡Frutas Justas! **“Make Fruit Fair!”**

Oxfam Alemania

Mirjam Haegele

Am Koellnischen Park 1

10179 Berlin

Correo-e: [mhaegele@oxfam.de](mailto:mhaegele@oxfam.de)

Traductora: Marta Cano

Febrero 2017