

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**TESIS DE GRADUACIÓN
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA CON ÉNFASIS EN GENÉTICA HUMANA**

**ANÁLISIS DE MICRONÚCLEOS DEL EPITELIO ORAL EN
TRABAJADORAS DE UNA ZONA BANANERA
EXPUESTAS A PLAGUICIDAS**

ROCÍO CASTRO ACHÍ

**CIUDAD UNIVERSITARIA "RODRIGO FACIO"
COSTA RICA, 1999**

Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura con Énfasis en Genética Humana.

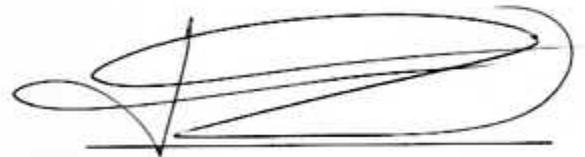
Patricia Cuenca Berger, Ph. D.

Directora de la tesis



Jaime E. Garcia González, Ph. D.

Miembro del Tribunal



Jorge Lobo Segura, Ph. D.

Miembro del Tribunal



Virginia Solís Alvarado, Ph. D.

Miembro del tribunal



Hernán Camacho Vindas, M. Sc.

Director de la Escuela de Biología



Rocío Castro Achí

Candidata



RECONOCIMIENTO

A la Dra. Teresa Fontana, autora de la tesis, por
durante todos estos años de trabajo.

A los señores Fontana, por su colaboración.

A la Dra. Ana María Fontana, por su colaboración.

DEDICATORIA

A los hijos Virginia Soledad y María Soledad, por
una esperanza de felicidad.

A Victoria Barrios, por su ayuda.

A los señores Hernández, por su colaboración.

A mis queridos hijos Shirley y William, a mi esposo John, a mi hermana Marlene y a mi madre María del Carmen. Gracias por su apoyo y amor.

A Henry Álvarez, docente de campo, por su
compartir de los conocimientos de la tesis de doctorado.

A los señores Chávez y Gabriela Briceño, por su
colaboración.

A los señores de Rojas y Castro, por su colaboración
Trabajo del Ministerio de Salud, por la información suministrada.

A la personal del IIVISA, del Centro de Salud de Guadalupe,
por su amable ayuda y colaboración.

A los señores de los señores Fontana, por su
colaboración con el trabajo de tesis de maestría.

**Gracias Señor,
Porque no hay nada que
no podamos hacer tú y yo
juntos.**

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Patricia Cuenca, tutora de la tesis, por su paciencia y apoyo incondicional durante todos estos años de trabajo.

Al Dr. Jaime García, por su colaboración, interés y enseñanzas.

Al Dr. Jorge Lobo, por su valiosa orientación.

A la Dra. Virginia Solís y a la M.Sc. Isabel Castro que como lectoras de tesis, dieron una especial dedicación

A Vanessa Ramírez, por su ayuda, dedicación al proyecto, motivación y amistad.

A Federico Hernández, técnico de laboratorio de la Escuela de Biología, por su valiosa ayuda y dedicación.

A Henry Morales, técnico de computación del INISA y al M.Sc. Manuel Campos, responsables del diseño de la base de datos.

A Carolina Chávez y Gabriela Briceño, quienes colaboraron con la recolección de los datos.

Al Departamento de Registro y Control de Sustancias Tóxicas y Medicina del Trabajo del Ministerio de Salud, por la información suministrada.

Al personal del INISA, del Centro de Salud de Guápiles y del Hospital de Guápiles, por su amable trato y colaboración.

A los dueños de las fincas bananeras, capataces y personal que nos recibieron y colaboraron con nosotros, haciendo posible el muestreo y demostrando interés por la salud

de sus trabajadoras.

A cada una de las mujeres que decidieron participar en el estudio, y que lo hicieron una realidad.

Este proyecto fue parcialmente financiado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) mediante el proyecto PLAGSALUD y el de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica # 492-95-277.

Índice de contenidos
Introducción
1. Objetivos
2. Metodología
3. Resultados
4. Discusión
5. Conclusiones

Material y métodos
1. Población
2. Muestra
3. Instrumentos
4. Procedimientos
5. Análisis estadístico

Resultados
1. Características sociodemográficas
2. Características de salud

Discusión
Conclusiones

ÍNDICE

	Página
Índice de Cuadros	vii
Índice de Figuras	vii
Índice de Anexos	viii
Lista de Abreviaturas	viii
Resumen	x
Introducción	1
El uso de plaguicidas y las plantaciones bananeras de Costa Rica	2
Exposición ocupacional a plaguicidas en el cultivo del banano	11
La planta empacadora en una finca bananera	16
Marcadores biológicos en salud ocupacional	20
- Biomarcadores de exposición	20
- Biomarcadores de efecto	23
- Biomarcadores de susceptibilidad	23
El tejido epitelial y la cavidad bucal	24
Micronúcleos del epitelio oral	27
Hipótesis	34
Objetivos	34
- Objetivo general	34
- Objetivos específicos	34
Materiales y métodos	35
Población en estudio y recolección de las muestras	35
Fijación de las muestras	36
Preparación de las láminas	37
Tinción	38
Análisis de las células al microscopio	38
Análisis estadístico	39
Resultados	42
Análisis de micronúcleos	43
Análisis de otras anomalías nucleares	43
Discusión	58
Conclusiones	66

Recomendaciones	68
Glosario	69
Bibliografía	72

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Plaguicidas utilizados comúnmente en la producción comercial de banano	5
2. Aplicación de plaguicidas en el cultivo del banano en Costa Rica	14
3. Diferentes actividades que realizan las mujeres que trabajan en la planta empacadora	18
4. Posible riesgo de exposición a plaguicidas en diferentes actividades que realizan las mujeres en la planta empacadora y en el campo	19
5. Estudios sobre análisis de frecuencia de micronúcleos en epitelio oral en humanos expuestos a sustancias tóxicas o a radiaciones	29
6. Estadística descriptiva de la edad y del tiempo trabajado en fincas bananeras para el grupo de casos y controles	46
7. Porcentaje de individuos en cada categoría de riesgo para el grupo de controles y de casos	47
8. Comparación de las medias de diferentes variables dependientes mediante una prueba T-Student	48
9. Resumen del análisis de regresión múltiple para cada variable dependiente sobre las variables independientes más influyentes en la posible formación de células anormales	49
10. Resultados del análisis de regresión lineal para NCAFÉ y TTFB sobre las variables AGENOT, ACITOT, AAPOPT y AMNT	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Concepto del biomonitoreo	20
2. Localización anatómica de la mucosa de revestimiento de la boca	26

3. Diagrama de la morfología de una célula con micronúcleos y de células con otras anomalías nucleares	31
4. Diagrama de algunas rutas postuladas para producir cuerpos que contienen ADN extra nuclear	33
5. Distribución de células que muestran citotoxicidad (datos transformados) vs. tiempo (años) de trabajo en una finca bananera	52
6. Distribución de células que muestran genotoxicidad (datos transformados) vs. tiempo (años) de trabajo en una finca bananera	53
7. Distribución de células que muestran apoptosis (datos transformados) vs. tiempo (años) de trabajo en una finca bananera	54
8. Relación entre la variable ACITOT sobre la variable caso-control	55
9. Relación entre la variable AAPOPT sobre la variable caso-control	56
10. Fotografías de algunas anomalías nucleares	57

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Informe del conteo de MNEO al microscopio	81
Anexo 2. Fórmula de consentimiento informado	82
Anexo 3. Cuestionario de salud personal	83
Anexo 4. Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov para los datos transformados de las variables dependientes	101

LISTA DE ABREVIATURAS

AAPOPT	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de la suma de células con PICN + CROC + CARI (todas ellas juntas pueden ser síntoma de apoptosis)
ABINU	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de células binucleadas
ABORTO	- Abortos espontáneos
ABROK	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de células con núcleos en "broken eggs"
ACARI	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de células con núcleos en cariorresis
ACARIOL	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de células con núcleos en cariólisis
ACITOT	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de la suma de células con PICN + CROC + CARI + CARIOL (todas ellas juntas pueden

	ser síntoma de citotoxicidad)
ACROC	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de células con núcleos con cromatina condensada
ADN	- Ácido desoxirribonucleico
AGENOT	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de la suma de células con MNT + BINU + BROK + PICN + CROC + CARI (todas ellas juntas pueden ser síntoma de genotoxicidad)
AMNA	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de micronúcleos de alta certeza encontrados
AMNT	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de micronúcleos encontrados
ANTICONCEP.	- Toma anticonceptivos orales
APICN	- Arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de células con núcleos picnóticos
CONCEP.	- Problemas para concebir o esterilidad
°C	- Grados Centígrados
Cu	- Cobre
DBCP	- Dibromocloropropano
DDT	- Diclorodifeniltricloroetano
Fe	- Hierro
H. anorm.	- Hijos con anomalías de nacimiento
Hg	- Mercurio
F. genét.	- Anomalías de origen genético en la familia
INISA	- Instituto de Investigaciones en Salud de la Universidad de Costa Rica
MEDIME	- Toma medicamentos recetados por un médico
min	- Minuto
ml	- Mililitros
MN	- Micronúcleos
Mn	- Manganeseo
MNEO	- Micronúcleos del epitelio oral
NCAFÉ	- Cantidad de tazas de café que se consume diariamente
OPS	- Organización Panamericana de la Salud
Pb	- Plomo
RADIOGD.	- Radiografías dentales
rps	- Revoluciones por segundo
s	- Segundos
TTFB	- Años que ha trabajado una persona en una finca bananera
UCR	- Universidad de Costa Rica
2,4-D	- Ácido 2,4-diclorofenoxiacético
2,4,5-T	- Ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético

RESUMEN

El presente estudio se realizó con trabajadoras de la zona de Guápiles (Limón, Costa Rica), para determinar el posible daño al material genético por exposición laboral a plaguicidas. Se utilizó como biomarcador de efecto la presencia de micronúcleos en células del epitelio oral. También se hizo un análisis de frecuencia de otras anomalías en el núcleo de las células epiteliales, que pueden ser indicio de genotoxicidad o de citotoxicidad.

El grupo de mujeres expuestas a plaguicidas (casos) era formado por trabajadoras de las plantas empacadoras de diferentes fincas bananeras independientes. El grupo de mujeres que constituyeron el grupo control eran personas que nunca habían trabajado en labores agrícolas, que no vivían dentro de una finca bananera, así como tampoco sus esposos o compañeros. Las muestras de los controles se recogieron de mujeres que trabajan en el hospital de Guápiles, así como de pacientes que esperaban ser atendidas en la consulta externa de ese mismo Hospital o bien en la consulta de niño sano en el Centro de Salud de esa misma ciudad. Es la primera vez en el país que se hace un estudio de caso-control para detectar genotoxicidad, utilizando micronúcleos del epitelio oral (MNEO) como biomarcador.

Se realizó una entrevista (cuestionario) a las participantes, para obtener información acerca de sus costumbres e historia familiar que pudiera ser relevante en el estudio.

La preparación y el análisis de las células del epitelio oral de cada individuo se

realizó en los laboratorios del Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) de la Universidad de Costa Rica.

Los resultados demostraron que no hay un aumento significativo en la frecuencia de MNEO entre el grupo de casos y de controles, aunque si hay indicios de citotoxicidad y genotoxicidad en los controles, mostrada por un aumento de las frecuencias de otras anomalías nucleares.

Lo anterior no descarta que los plaguicidas utilizados actualmente en las fincas bananeras dañen a largo plazo y a nivel genético a las mujeres expuestas a ellos. Es necesario continuar buscando instrumentos y diseñando estudios de campo que ayuden a esclarecer con mayor rapidez y eficiencia el posible riesgo a que se exponen estas trabajadoras.

INTRODUCCIÓN

Cuando la agricultura incorporó los plaguicidas químicos en el proceso de producción, se creyó que eran la respuesta rápida y definitiva a las diferentes plagas que azotaban los cultivos. Con el tiempo, muchas de esas sustancias se dejaron de usar, porque su peligrosidad para el ambiente y para el ser humano quedó bien establecida; otras permanecen como sospechosas de producir efectos cancerígenos, teratogénicos, mutagénicos, espermatogénicos, fetotóxicos, neurotóxicos o una combinación de varios de estos, tanto en seres humanos como en otras especies (Vega y Maroto, 1984).

Por otro lado, muchas plagas se han adaptado y presentan resistencia hacia uno o varios plaguicidas, lo que ha obligado al agricultor a recurrir a la combinación de estos para preparar "cocteles", sin conocer sus implicaciones en la salud humana o para el ambiente (García, 1997; Hayes, 1991).

Este desconocimiento acerca del daño que muchas de estas sustancias y sus mezclas pueden ocasionar, es un problema a nivel mundial. Según la Academia Nacional de Ciencias de los EE.UU., en la década de los años ochentas la información toxicológica era suficiente solo para 10% de los ingredientes activos comercializados de plaguicidas; para 52% era incompleta y para los 38% restantes no había información (García, 1997). Si se buscan datos toxicológicos en seres humanos la información se reduce aún más, ya que por razones de tipo ético el estudio de los efectos adversos se realiza generalmente con animales de laboratorio (Castillo *et al.*, 1995).

El uso de plaguicidas químicos, es entonces un riesgo para la salud de las comunidades en contacto con ellos, ya sea a corto, mediano o largo plazo. Por eso, es tan importante, en salud ocupacional y preventiva, detectar de alguna forma sus efectos en la salud humana (Ashby *et al.*, 1993).

EL USO DE PLAGUICIDAS Y LAS PLANTACIONES BANANERAS DE COSTA RICA

Los plaguicidas son un grupo diverso de sustancias o mezclas de sustancias químicas o biológicas que han sido desarrolladas para combatir, prevenir, repeler, controlar o suprimir aquellos organismos, que por las condiciones imperantes en un tiempo dado, su población se ha convertido en una plaga, afectando significativamente los intereses de la especie humana (García, 1997).

Estas sustancias han sido utilizadas desde tiempos remotos como mezclas químicas crudas o agentes derivados de plantas, tal como el caldo bordelés, un compuesto de sulfato de cobre e hidrato de lima en agua que aún se usa. A inicios del siglo XX, varios componentes metálicos inorgánicos, como el arsénico y el permanganato de potasio, fueron desarrollados como insecticidas, después de 1920 fueron desplazados por plaguicidas organometálicos más eficaces. En 1939 el químico suizo Paul Müller observó que el componente orgánico DDT (diclorodifeniltricloroetano) tenía propiedades insecticidas extraordinarias y a partir de éste se sintetizaron otros plaguicidas organoclorados.

Después de la segunda guerra mundial la industria química conoce los resultados de investigaciones alemanas que revelan la base química y las propiedades plaguicidas de diferentes componentes organofosforados y de inmediato se inicia el desarrollo de cientos de sustancias (Hayes, 1991; Pimentel, 1995).

A partir de la década de los 50, los plaguicidas son cada vez más populares e introducen un cambio en la modalidad de producción que favoreció la implantación del monocultivo y eliminó las prácticas agrícolas que hasta entonces habían permitido cierto balance en los agroecosistemas. Los agricultores obtuvieron "eficiencia", un rendimiento mayor a corto plazo y su dependencia hacia estas sustancias fue cada vez mayor (Jiménez, 1995).

Costa Rica, al igual que el mundo entero, ha tenido que utilizar agroquímicos para poder llevar sus productos al mercado y competir a nivel mundial según las presiones impuestas por los consumidores; pero con el agravante de ser un país pobre, donde la información y los medios de control sobre estas sustancias son deficientes y en donde los estudios de toxicidad en humanos y de contaminación ambiental son escasos cuando no inexistentes (García, 1997).

El cultivo del banano en Costa Rica es una importante actividad económica que se inició desde finales del siglo pasado, y cuya historia está íntimamente relacionada con la construcción del ferrocarril y el establecimiento de compañías transnacionales en América Central. Desde entonces la actividad ha enfrentado serios problemas, como fueron la aparición de la enfermedad de Panamá, la sigatoka y la enfermedad del moko (Ellis,

1983).

La planta y la fruta del banano es vulnerable a un gran número de plagas, cuyo potencial destructivo se intensifica debido a la existencia del monocultivo. El racimo es muy vulnerable a los daños que le pueden causar diversos insectos, en tanto que la planta en su conjunto suele ser atacada por enfermedades bacteriales o fungosas (Pardo, 1996). Durante la primera mitad de este siglo, cuando una plaga atacaba el banano, los productores respondían abandonando las zonas de cultivo contaminado, adquiriendo nuevas tierras para su cultivo (Ellis, 1983). Hoy en día, donde la tierra es un factor limitante, este problema se enfrenta recurriendo al mejoramiento genético, a la búsqueda de variedades resistentes y a la aplicación de plaguicidas.

Los plaguicidas utilizados en este cultivo están indicados en el cuadro 1, los cuales según su principal actividad tóxica se clasifican en fungicidas, nematocidas, insecticidas y herbicidas. El nombre comercial se refiere al nombre con el cual el fabricante lo identifica para su comercialización. El nombre genérico o común del plaguicida es establecido por "The American National Standards Institute" (ANSI) y es reconocido por la "International Standardization Organization". La familia química indica el grupo dominante al cual pertenece el ingrediente activo (Wright, 1997).

Los plaguicidas se clasifican también según su formulación, la cual incluye la sustancia activa (veneno), mezclada con sustancias auxiliares ("inertes y coadyuvantes"), las cuales facilitan la aplicación del ingrediente activo en la concentración adecuada. A veces las sustancias auxiliares aumentan la eficiencia del ingrediente activo, y otras veces son por

Cuadro 1. PLAGUICIDAS UTILIZADOS COMÚNMENTE EN LA PRODUCCIÓN COMERCIAL DEL BANANO

NOMBRE COMERCIAL	NOMBRE GENÉRICO	FAMILIA QUÍMICA
FUNGICIDAS		
Benlate	benomil *	Benzimidazol
Bravo	clorotalonil *	Benzonitriloclorado
Daconil	clorotalonil *	Benzonitriloclorado
Fungazil (tratamiento de la fruta en la empacadora)	imazalil **	Conazol
Dithane	mancozeb *	Ditiocarbamato
Vondozeb	mancozeb *	Ditiocarbamato
Manzate	mancozeb *	Ditiocarbamato
Manex	mancozeb *	Ditiocarbamato
Tilt	propiconazole *	Conazol
Mertec (tratamiento de la fruta en la empacadora)	tiabendazole *	Benzimidazol
Calixin	tridemorf **	Morfolina
FUMIGANTE		
Dowfume	bromuro de metilo ***	Alifático
NEMATICIDAS		
Rubgy	cadusafós ***	Organofosforado
Furadán	carbofurán ***	Carbamato
Mocap	etoprop ***	Organofosforado
Nemacur	fenamifós ***	Organofosforado
Vidate	oxamil ***	Carbamato
Counter	terbufós ***	Organofosforado
INSECTICIDAS		
Thuricide	<i>Bacillus thuringiensis</i> -	Naturales
Bactospeine	<i>Bacillus thuringiensis</i> -	Naturales
Dipel	<i>Bacillus thuringiensis</i> -	Naturales
Dursban (impregnan bolsas plásticas)	clorpirifós **	Organofosforado
HERBICIDAS		
Ametrex, Gesapax	ametrina *	Triazina
Gesaprin	atrazina *	Triazina
2,4-D	2,4-D **	Clorofenoxiacético
Dowpon	dalapón **	Ácido cloroalifático
Karmex	diurón *	Diurea clorada
Round-up	glifosato *	Ácido fosforoso
Goal	oxifluorfen *	Difenil éter
Gramoxone	paraquat ***	Bipiridilo

Fuente: Departamento de Sustancias Tóxicas y Medicina del Trabajo. Ministerio de Salud (1994); Castillo *et al.*, (1995).

* poco peligroso, en humanos

** moderadamente peligroso, en humanos

*** extremadamente peligroso, en humanos

- no clasificado, en humanos

sí mismas un tóxico (García, 1997).

Los fumigantes son un tipo de formulación que se clasifica según su aplicación, ya que produce una niebla o aerosol de gotas muy finas (10-30 μm). El bromuro de metilo (alifático de bromuro) es un gas que pertenece a los fumigantes multipropósito. Es altamente tóxico y en los seres humanos produce la alteración del sistema respiratorio, el sistema excretor, el sistema nervioso central, irritación en la piel y en casos extremos puede ocasionar la muerte (Castillo *et al.*, 1995; WHO, 1985).

Los mecanismos específicos de acción y algunas características toxicológicas de los plaguicidas mencionados en el cuadro I, según el grupo o familia química al cual pertenecen son:

Organofosforados: son derivados orgánicos del ácido fosfórico (García, 1997). La mayoría de estos son insecticidas y nematocidas de alta y mediana toxicidad y poco persistentes en el ambiente (Jiménez, 1995). Actúan dentro del organismo, por inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, debido a que se forma un complejo entre la enzima y el grupo fosfato del plaguicida (Cremlyn, 1978).

La función de la acetilcolinesterasa es hidrolizar al neurotransmisor acetilcolina que está unido a su receptor, un canal transmisor especializado en convertir señales químicas extracelulares en señales eléctricas (sinapsis químicas); el canal se abre pasajeramente (un milisegundo), en respuesta al ligamiento con la acetilcolina liberada en el nervio terminal, produciendo un cambio permeable en la membrana postsináptica de la célula elegida. Una vez utilizado el neurotransmisor durante la sinapsis, es necesario que sea eliminado por

hidrólisis para que deje libre al receptor y quede listo para otra sinapsis (Alberts *et al.*, 1989; Lotti, 1995).

En seres humanos los organofosforados actúan de igual forma a nivel neuromuscular y pueden dañar la mielina de los nervios periféricos, produciendo una neuropatía periférica, caracterizada por entumecimiento y dolor en las extremidades (Jiménez, 1995).

Carbamatos: son derivados del ácido carbámico, la mayoría son nematocidas e insecticidas. Este grupo es neurotóxico, por lo que trabaja envenenando la enzima acetil-colinesterasa por carbamoilación del grupo hidróxilo primario de un residuo de serina de la enzima. Se sospecha además que algunos de estos son cancerígenos y teratógenos, según estudios toxicológicos en ratas (Cremllyn, 1978).

Bipiridilos: son compuestos catiónicos de amonio cuaternario de la piridina, muy soluble en agua, son oxidativos y producen gran cantidad de radicales libres. La mayoría son herbicidas inhibidores de la fotosíntesis, no hay antídoto en caso de intoxicaciones. El más conocido es el paraquat (Cremllyn, 1978).

Las afecciones más comunes en humanos son: quemaduras en la piel y en la córnea, pérdida de las uñas, irritación severa en las vías respiratorias y digestivas, daños permanentes en los pulmones, riñones, hígado y cerebro. Hay indicios de que puede producir cáncer y otros efectos a largo plazo. Se ha encontrado que el paraquat permanece mucho tiempo adherido a las partículas del suelo (hasta tres años), pero puede liberarse y pasar hacia las plantas y el agua, sin que se conozca aún las consecuencias para el ambiente y la salud pública (Castillo *et al.*, 1995; Jiménez, 1995; Stevens y Sumner, 1991).

Clorofenoxiacéticos: son derivados del ácido fenoxiacético, actúan como mimetizadores persistentes de la AIA ("auxina", hormona de crecimiento en plantas). El 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) es un herbicida selectivo contra plantas de hoja ancha (dicotiledóneas), que produce un crecimiento anormal. Los compuestos clorofenoxi se absorben en mamíferos a través de la pared intestinal, los pulmones y la piel. Pueden causar daños permanentes en el sistema nervioso; además, durante la fabricación se liberan dioxinas que son compuestos organoclorados extremadamente tóxicos y persistentes, que están presentes en la formulación comercial del plaguicida (Corbett, 1974; García, 1997).

Benzimidazoles: son fungicidas sistémicos que actúan como inhibidores de la biosíntesis del ADN, probablemente por la semejanza estructural de sus moléculas con las bases púricas del ADN, la adenina y la guanina (Cremllyn, 1978), también pueden impedir la formación de microtúbulos del huso acromático inhibiendo la mitosis de las células (García, 1997).

Los efectos en mamíferos son alergias e irritación ocular. El benomil es teratógeno y no hay suficiente evidencia sobre si es o no neurotóxico y/o mutagénico (Castillo *et al.*, 1995).

Ácidos cloroalifáticos: son ácidos alifáticos con cloración en posición alfa, que tienen actividad como herbicidas. Son compuestos que precipitan proteínas, por lo que son tóxicos para todo el protoplasma. La inactivación de los procesos enzimáticos interfiere con el crecimiento y desarrollo vegetal (Corbett, 1974). El dalapón es un ácido cloroalifático que en seres humanos aumenta la actividad de la fosfatasa alcalina, altera la síntesis de proteínas y lípidos, y las funciones de detoxificación y excreción hepáticas, afecta el sistema nervioso

y gastrointestinal y se acumula en el tejido adiposo (Castillo *et al.*, 1995).

Difenil éter: se preparan a partir del p-cloronitrobenceno y del fenolato de sodio sustituido. Es posible que actúen en las hierbas por interferencia con la producción de ATP en la fotosíntesis y en el proceso de respiración en las mitocondrias. Pueden causar inhibición de la división celular (Cremllyn, 1978). El oxifluorfén produce irritación en la piel y los ojos (Castillo *et al.*, 1995).

Benzonitrilos clorados: se preparan a partir del p-hidroxibenzaldehído. En las plantas desacoplan la fosforilación oxidativa e inhiben la fotosíntesis. En humanos producen alergias en la piel e irritación en los ojos. (Castillo *et al.*, 1995; Cremllyn, 1978; Edwards *et al.*, 1991).

Morfolinas: son principalmente fungicidas erradicantes con acción sistémica, su forma de acción en el tejido que afectan no se conoce. En mamíferos inhibe el consumo bioquímico de oxígeno y hay irritación de membranas, dérmica y ocular severa (Castillo *et al.*, 1995).

Ditiocarbamatos: tienen en su composición química metales pesados como hierro, manganeso o zinc, los cuales persisten por mucho tiempo en el ambiente y ocasionan acumulación cuando se usan intensivamente. La mayoría de los ditiocarbamatos son fungicidas que producen pocas intoxicaciones agudas en personas o animales expuestos, pero causan problemas por sus efectos crónicos. Se ha encontrado que originan lesiones a nivel de las glándulas hormonales importantes del organismo humano; además son sospechosos de causar cáncer y originar efectos fetotóxicos (Castillo *et al.*, 1995; Cremllyn, 1978).

Conazoles: el propiconazol al igual que el imazalil son fungicidas sistémicos, inhibidores sospechosos de causar cáncer y originar efectos fetotóxicos (Castillo *et al.*, 1995; Cremllyn, 1978).

de la síntesis de lípidos esenciales en la composición de membranas y paredes celulares (García, 1997). En los seres humanos se caracterizan por causar trastornos gastrointestinales, irritación del tracto respiratorio y cefalea. No hay suficientes estudios toxicológicos en mamíferos a largo plazo que revelen sus efectos crónicos (Castillo *et al.*, 1995).

Ureas cloradas: son herbicidas persistentes que interfieren con la fotosíntesis, en el suelo se degradan microbiológicamente por dealquilación y deaminación gradual (Cremllyn, 1978). En los seres humanos causan inducción de varias enzimas microsomales, irritación dérmica, visión de anillos azules, hepatomegalia y destrucción de la metahemoglobina (Castillo *et al.*, 1995).

Triazinas: son herbicidas persistentes, cuya acción esta relacionada con su comportamiento en el suelo, las cuáles se obtienen por reacción del cloruro cianúrico con reactivos nucleofílicos. Las triazinas matan a la planta interfiriendo con la fotosíntesis y se degradan en el suelo por medio de procesos químicos y microbiológicos (Cremllyn, 1978). En los seres humanos pueden causar irritación en el área de exposición. La ametrina es hepatotóxica (Castillo *et al.*, 1995).

Agentes microbianos: son específicos para ciertos grupos de insectos. *Bacillus thuringiensis* es una bacteria que causa una enfermedad en larvas de mariposa que se

alimentan de follaje. Las esporas de la bacteria al ser ingeridas, son activadas por las enzimas del insecto y le provocan daño y paralización del sistema digestivo. Las esporas germinan, entran a la hemolinfa del insecto provocando parálisis y muerte (Cremllyn, 1978). Estudios realizados hasta ahora no han demostrado que sean perjudiciales a los mamíferos.

EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A PLAGUICIDAS EN EL CULTIVO DEL BANANO

En la segunda mitad de este siglo, poco tiempo después de que la utilización de plaguicidas en el sector agropecuario se generalizó, comenzaron a detectarse problemas de contaminación, de acumulación de estas sustancias en la cadena alimentaria (especialmente de productos organoclorados como el DDT) y de intoxicaciones con plaguicidas (Blanco y Ramírez, 1992).

Según un estudio en Costa Rica, que consistió en reunir, ordenar y depurar los datos de tres registros diferentes de intoxicaciones (Organismo de Investigación Judicial, Caja Costarricense del Seguro Social y el Instituto Nacional de Seguros), realizado por Wesseling *et al.* (1993), el 90% de las intoxicaciones ocupacionales en el año 1986, fueron campesinos que trabajaban en ese momento en el campo, principalmente durante la aplicación del plaguicida, pero también en su preparación, cargando los contenedores, limpiando el equipo de aplicación o durante el trabajo en o cerca de las áreas fumigadas. Los informes de intoxicaciones indicaban que los trabajadores de la actividad bananera eran

los más afectados y que Sarapiquí en la región de Huetar Norte (área de producción bananera), tenía la incidencia más alta de envenenamiento por plaguicidas en el periodo 1980-86.

El periodo comprendido entre los años 1986 y 1992, fue analizado por Quirós *et al.* (1994), utilizando los registros de las consultas toxicológicas del Centro Nacional de Control de Intoxicaciones. Los resultados de este estudio identificaron a los plaguicidas como la segunda causa de intoxicaciones en el país, así como a los trabajadores expuestos a estas sustancias en los cultivos de café, arroz y banano, como los más afectados.

El sistema de vigilancia epidemiológica de intoxicaciones con plaguicidas, establecido por el Departamento de Registro y Control de Sustancias Tóxicas y Medicina del Trabajo, la Caja Costarricense del Seguro Social y el Programa de Plaguicidas de la Universidad Nacional, en su informe oficial para 1995, indica que la provincia de Limón es la que presentó el mayor número de casos de intoxicados, y que las intoxicaciones laborales con plaguicidas se registran básicamente en la actividad bananera y ornamental. Sin embargo, es importante tener en cuenta que estos registros de intoxicaciones son incompletos, subestimados o parciales.

Los plaguicidas también pueden causar daños irreversibles a largo plazo en los trabajadores expuestos. Un ejemplo histórico es el ocasionado por el nematocida 1,2-dibromo-3-cloropropano (DBCP) utilizado en el cultivo de banano, causante de innumerables afecciones entre las cuales destaca la esterilidad masculina (García, 1997; Ramírez y Ramírez, 1980; Vega y Maroto, 1984).

La Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU. (EPA) y el proceso de revisión de plaguicidas sospechosos (RPAR) han cancelado y restringido gran cantidad de plaguicidas en los Estados Unidos por sus efectos nocivos en seres humanos (Vega y Maroto, 1984).

Algunos ejemplos son:

Plaguicidas cancerígenos: DDT, DBCP, dieldrin, clordecone.

Plaguicidas teratógenos: DDT, 2,4,5-T.

Plaguicidas mutagénicos: DDT, endrin, paratión.

Plaguicidas con efectos espermatogénicos: DBCP.

Plaguicidas con efectos fetotóxicos: DDT, dieldrin, aldrin y aquellos que contienen benceno, plomo, cobre y mercurio.

Plaguicidas neurotóxicos: leptofós, diclorvós, merfós.

La mayoría de los plaguicidas nombrados en el párrafo anterior están prohibidos en Costa Rica; sin embargo, de la lista de plaguicidas utilizados en el momento de la investigación en los cultivos de banano (cuadro 1), la EPA ha restringido a los siguientes: benomil, bromuro de metilo, terbufós, etoprop, fenamifós, carbofurán, cadusafós, 2,4-D, oxamil, paraquat y atrazina, por ocasionar efectos nocivos en animales de laboratorio o por su potencial para contaminar fuentes de agua (Castillo *et al.*, 1995; García, 1997; Jiménez, 1995; Vega y Maroto, 1984; Wesseling, 1992; Wright, 1997).

Existe una serie de problemas en el manejo de plaguicidas que también contribuyen a que el número de intoxicaciones sea elevado; por ejemplo: el uso de plaguicidas sin la presencia de una plaga (utilización calendarizada), en cultivos para los cuales no fueron

registrados y a veces sin respetar las dosis por hectárea recomendadas, según la concentración del ingrediente activo (García, 1997).

Un estudio realizado por Wesseling (1997) muestra como en Costa Rica el consumo promedio de plaguicidas por hectárea es tan alto o más alto que en zonas de agricultura intensiva de países desarrollados, llegando a utilizarse hasta 45 Kg de ingrediente activo por hectárea cultivada de banano al año.

El cuadro 2 muestra las concentraciones promedio por hectárea de diferentes sustancias, utilizadas en diferentes fincas. Sin embargo, estas son aproximaciones ya que la mayoría de los productores lo hacen al "ojo". Además, el equipo de protección que se debe usar durante la aplicación, en la mayoría de los casos, no se utiliza (generalmente porque no es adecuado o porque resulta muy incómodo). Por otra parte el grado de concientización que tiene el usuario sobre la peligrosidad de estas sustancias es muy bajo (McConnell y Hruska, 1993; Wesseling, 1992).

Por otra parte, la clasificación actual de los plaguicidas en ligeramente, moderadamente, altamente y extremadamente peligrosa, no aclara, no informa y más bien subestima el potencial teratogénico, mutagénico, cancerígeno o cualquier otro efecto a largo plazo que el contacto con la sustancia puede producir (García, 1997. Comunicación personal).

En general, el grado de toxicidad de los plaguicidas varía según la concentración con que se aplique, especie, edad, sexo, estado nutricional, condición fisiológica, ruta de entrada (oral, respiratoria o dermal) y formulación del tóxico (Jiménez, 1995).

Cuadro 2 APLICACIÓN DE PLAGUICIDAS EN EL CULTIVO DEL BANANO EN COSTA RICA.

PRODUCTO	NOMBRE COMERCIAL	DOSIS
FUNGICIDAS (se aplican de 8 a 12 ciclos (veces) al año).		
Sistémicos		
propiconazol	Tilt	100 g i. a. / ha
tridemorf	Calixín	450 g i. a. / ha
benomil	Benlate	140 g i. a. / ha
Protectores (se aplican los ciclos necesarios hasta completar un total de 35 ciclos/año).		
mancozeb	Dithane M-45	1000-1500 g i. a. / ha
clorotalonil	Bravo, Daconil	875-1625 g i. a. / ha
aceites agrícolas		5-7 litros P. F. / ha
Poscosecha (se aplican en la planta empacadora).		
tiabendazole	Mertec	168-211 ml P. F. en 452 litros de agua
imazalil	Fungazil, Imazalil	316 ml P. F. en 452 litros de agua
HERBICIDAS (en general se realizan aplicaciones cada 35 días como promedio).		
glifosato	Round up	0,75-3,2 litros P. F. /ha
metribuzina	Sencor	2,0-8,0 litros P. F. /ha
atrazina	Gesaprin	2,0-6,0 litros P. F. /ha
diurón	Karmex	1,0-6,0 litros P. F. /ha
paraquat	Radex, Gramoxone	1,0-3,0 litros P. F. /ha
oxifluorfen	Goal	2,0-4,0 litros P. F. /ha
dalapón	Dowpon, Basfapón	1,0-3,0 litros P. F. /ha
NEMATICIDAS (dos ciclos por año, con rotación del producto, 1850 plantas/ha)		
fenamifós	Nemacur	30 g P. F. /planta
carbofurán	Furadán	30 g P. F. /planta
oxamil	Vidate	8,0-15 g P. F. /planta
terbufós	Counter	30 g P. F. /planta
etoprofós	Mocap	30 g P. F. /planta
cadusafós	Rugby	30 g P. F. /planta
INSECTICIDAS		
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Dipel	-----
clorpirifós	Dursban	0,5-2,0 % i. a. impregnado en las bolsas plásticas

i. a. = ingrediente activo.

P.F. = producto formulado.

Fuente: Departamento de Sustancias Tóxicas y Medicina del Trabajo. Ministerio de Salud (1994).

La manera como se comporta un plaguicida difiere según su composición química, y el mecanismo por el cuál afecta el material genético, involucra desde su ruptura (ya sea ocasionada por un componente del plaguicida o por algún producto metabólico del mismo), hasta la posible alteración de la maquinaria mitótica; lo que podría resultar en cualquiera de los siguientes eventos típicos de un carcinógeno: a) mutaciones que activen oncogenes o que inactiven genes supresores de tumores, b) generación de radicales libres que causen daño a nivel genético, c) estimulación de la expansión clonal de la célula mutada, d) modificación de la respuesta inmune (Blas, 1995).

No es de extrañar entonces, que los estudios epidemiológicos en poblaciones humanas ocupacionalmente expuestas a plaguicidas (Ashby *et al.*, 1993; Pisani, 1994; Wesseling, 1997), evidencien el desarrollo de diferentes tipos de cáncer, como el de la cavidad oral, la laringe, los pulmones, el esófago, el estómago, el hígado, el páncreas, los riñones y linfomas; y que los esquemas de clasificación de sustancias químicas, con posible potencial cancerígeno u otro efecto crónico, elaborados por la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC), estén en constante revisión según los nuevos hallazgos (Doe y Paddle, 1993).

LA PLANTA EMPACADORA EN UNA FINCA BANANERA

Los procedimientos de control de calidad se inician en la planta empacadora, donde se rechaza la fruta que no llena las especificaciones exigidas, y donde la fruta aceptada se

en clases (Ellis, 1983).

A la planta empacadora llegan los racimos de banano, transportados desde el campo por medio de rodines de cable guía que forman grupos de 25 racimos llamados "trenes" que se colocan en bolsas de polietileno impregnadas con el insecticida clorpirifós. El proceso incluye el desgaje de los racimos, el lavado, la selección, el tratamiento de la fruta con el fungicida tiabendazole o imazalil (cuadro 1) con alumbre para cerrar los vasos liberocelulares de la corona de cada mano de banano, la colocación de la etiqueta, el empaque y el transporte (Pardo, 1996).

En esta actividad se emplean mayoritariamente a mujeres, debido a que sus dedos son más ligeros que los de los hombres por lo cual dañan menos al banano (Ellis, 1983). Las mujeres que trabajan en la planta empacadora, normalmente tienen que rotar el tipo de tarea que realizan (cuadro 3). Los plaguicidas a que están expuestas son principalmente clorpirifós y tiabendazol o imazalil; sin embargo, por las características propias de los plaguicidas, el modo de aplicación dentro de las fincas y la costumbre de rotar, estas mujeres están expuestas en menor o mayor grado a todos los plaguicidas utilizados en el cultivo (cuadro 1 y 4), también se exponen a otras sustancias como son el alumbre y los productos químicos que usan en la limpieza de las oficinas y las plantas empacadoras (Pardo, 1995).

Cuadro 3. DIFERENTES ACTIVIDADES QUE REALIZAN LAS MUJERES QUE TRABAJAN EN UNA PLANTA EMPACADORA DE BANANO.

EN LA PLANTA EMPACADORA	EN EL CAMPO
- Abrir las bolsas que les ponen a los racimos en el campo	- Desflorar
- Panear (sacar el banano de la pila y colocarlo a lo largo de las panas o bandejas)	- Deshojar (cortar hojas dañadas, o que interfieren con el desarrollo del racimo)
- Fumigar la corona de las manos de banano	- Regar cal (alrededor de la planta)
- Seleccionar el banano	- Limpiar cables
- Sellar (poner sellos o marcas en los dedos del banano)	- Quebrar puntales (los puntales son soportes en las plantas para evitar que se caigan)
- Pesar las manos de banano	- Rodajear (limpiar de maleza un radio de 50 cm alrededor de la planta)
- Empacar la fruta	- Regar abono (alrededor de la planta)
- Curar semillas con fertilizantes	
- Llenar bidones con fertilizantes	
- Aseo de la planta empacadora o de las oficinas	
- Lavar (sombrellas, uniformes, mascarillas, guantes, pilas, combellos, etc.)	

Fuente: Pardo (1996); Vaquerano (1995).

Cuadro 4. POSIBLE RIESGO DE EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN DIFERENTES ACTIVIDADES QUE REALIZAN LAS MUJERES EN LAS PLANTAS EMPACADORAS Y EN LOS CAMPOS DE CULTIVO DE BANANO.

ACTIVIDAD	RIESGO
Desflorar	Contacto con residuos en la fruta
Deshojar	Fumigación aérea, inhalación de nematicida
Quebrar puntales	Contacto con residuos en hojas, fumigación aérea, inhalación de vapores del nematicida
Abrir bolsas	Contacto con residuos, en las bolsas y en la fruta
Selección	Contacto con residuos en la fruta y en el agua de la pila
Panear	Contacto con fungicidas y residuos en el agua de la pila
Sellado	Contacto con fungicidas en la fruta
Pesado	Contacto con fungicidas en la fruta
Empaque	Contacto con fungicidas en la fruta
Aseo	Contacto con residuos en piso, agua de la pila, desecho de fruta y pana.
Fumigar	Contacto con fungicidas
Rodajear	Contacto con residuos en hojas, fumigación aérea, inhalación de vapores del nematicida
Regar abono	Contacto con residuos en hojas, fumigación aérea, inhalación de vapores del nematicida
Regar cal	Contacto con residuos en hojas, fumigación aérea, inhalación de vapores del nematicida
Limpiar cables	Contacto con residuos en cables, fumigación aérea, inhalación de vapores del nematicida

Fuente: Vaquerano (1995).

MARCADORES BIOLÓGICOS EN SALUD OCUPACIONAL

La exposición ocupacional a plaguicidas, como ya se señaló, está ligada con efectos adversos en la salud de los trabajadores, ya sea a largo, mediano o corto plazo (Grandjean *et al.*, 1995).

Como el sector agrícola ha creado una dependencia hacia estas sustancias, no es posible eliminarlas del ambiente, al menos mientras no se cambie la manera de hacer agricultura. La medicina preventiva, por tanto, ha buscado indicadores que detecten efectos adversos tempranos en poblaciones expuestas, para poder proteger en lo posible al trabajador. Hoy en día, para realizar biomonitoreo (fig. 1) se usan marcadores biológicos, los cuales, a pesar de sus limitaciones, pueden clasificar y cuantificar la exposición ocupacional y sus efectos relativos (Grandjean *et al.*, 1995).

Los marcadores biológicos son eventos medibles que ocurren en un sistema orgánico, tal como el cuerpo humano. En epidemiología ambiental, un biomarcador es indicador de que ha ocurrido un cambio temprano que podría más tarde guiar a una enfermedad clínica. Aunque algunos biomarcadores pueden pertenecer a más de una clase, ellos se separan usualmente en tres clases: biomarcadores de exposición, de efecto y de susceptibilidad (Grandjean, 1995; Greim *et al.*, 1995).

BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN

Es un indicador de dosis interna y puede ser un compuesto xenobiótico o un metabolito dentro del cuerpo; un producto interactivo entre el compuesto o metabolito y el "tejido meta" (es el blanco del tóxico), o cualquier otro evento relativo a la exposición (Grandjean, 1995; Ramírez. y Cuenca, 1996).

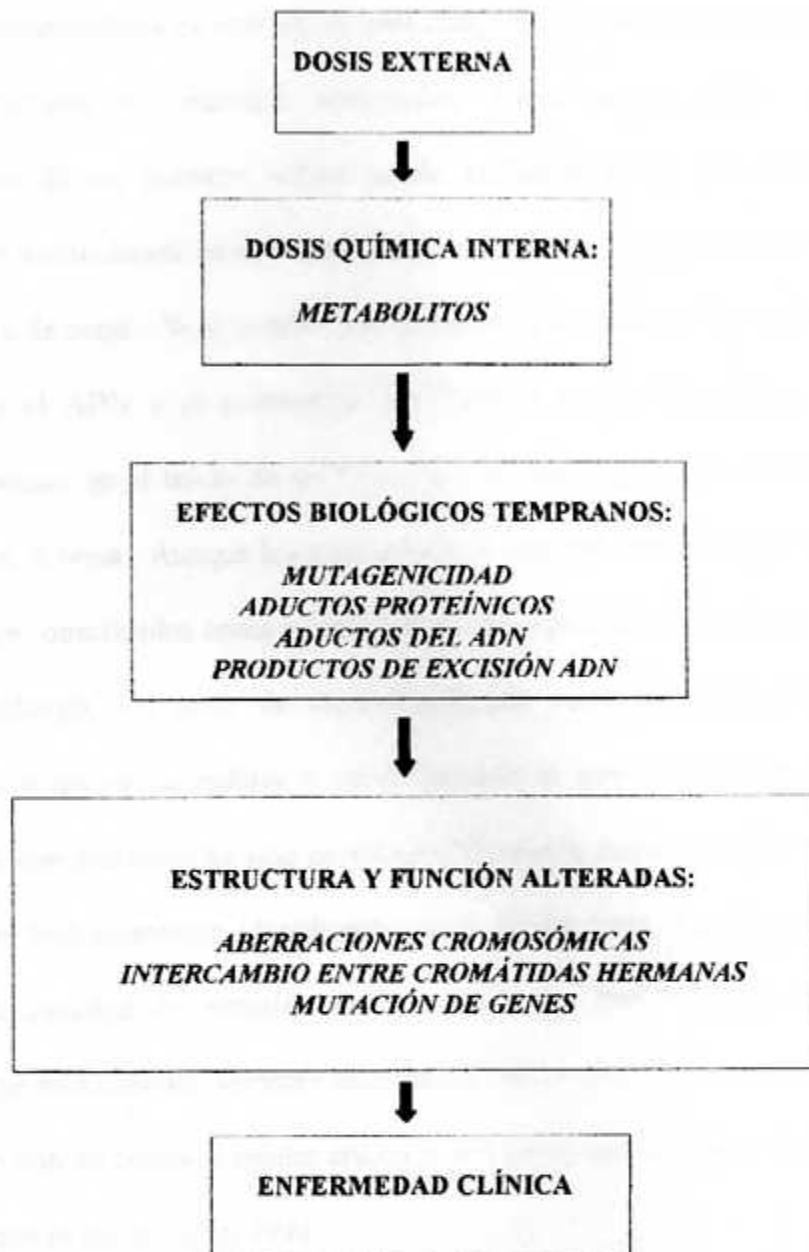


Figura 1. CONCEPTO DEL BIOMONITOREO (Greim *et al.*, 1995).

Los biomarcadores de exposición para compuestos estables son evaluados al medir sus concentraciones en muestras apropiadas, como sangre suero u orina. Las concentraciones de un químico volátil puede evaluarse en el aire exhalado. Si el componente es metabolizado en el cuerpo uno o más metabolitos pueden ser determinados en una muestra de orina. Si el químico es mutagénico, los aductos formados con el ADN (uniones entre el ADN y el compuesto xenobiótico) pueden detectarse en las células sanguíneas blancas, en el tejido de las biopsias o en los fragmentos específicos de ADN encontrados en la orina. Aunque los aductos son el resultado de un efecto biológico, ellos son usualmente considerados como biomarcadores de exposición (Grandjean, 1995).

Sin embargo, los sitios de recepción (tejido meta del tóxico) son a menudo desconocidos, o no son accesibles al muestreo, por lo que en su lugar se usa un sitio sustituto cuya concentración ha sido correlacionada con la dosis biológicamente efectiva o con el efecto biológicamente identificable en el tejido meta. La dosis biológicamente efectiva es la cantidad de material xenobiótico que es transferida o absorbida por el organismo, que está cuantitativamente relacionada con un efecto biológico o bien, que está interactuando con un receptor celular crítico o con un blanco celular o tisular en donde el efecto biológico se inicia (Blas, 1995).

Para hacer estimaciones cualitativas o cuantitativas de la exposición mediante marcadores biológicos, se debe tener en consideración las diferencias metabólicas entre los individuos de una misma especie, ya que las dosis internas de los metabolitos reactivos pueden alterarse drásticamente; por lo tanto, la concentración, la duración, el patrón de

exposición y la naturaleza fisicoquímica de una sustancia tóxica deben ser consideradas en la selección de un marcador apropiado de exposición (Blas, 1995; Grandjean, 1995).

BIOMARCADORES DE EFECTO

Son indicadores preclínicos de anormalidades bioquímicas, fisiológicas, genéticas o de otro tipo, que dependiendo de su magnitud, pueden ser reconocidas como un daño potencial o efectivo sobre la salud. Estos pueden ser específicos o inespecíficos. El específico indica un efecto biológico de una exposición particular. El inespecífico indica un efecto integrado que podría ser debido a una exposición mixta (Grandjean, 1995).

En salud ambiental, los marcadores biológicos de efecto a un agente tóxico, se consideran en relación con la salud del individuo. Como indicadores de efectos biológicos tempranos, incluyen alteraciones en las funciones de los tejidos meta después de la exposición. Pueden ser dosímetros para guiar a la intervención, para reducir o prevenir la exposición. También se pueden observar efectos tempranos en órganos o tejidos diferentes de los sitios que son críticos para la acción de la sustancia tóxica (Blas, 1995). La función alterada de un tejido afectado puede determinarse con métodos bioquímicos o biológicos.

BIOMARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD

Heredado o inducido, el biomarcador de susceptibilidad es un indicador de que el individuo es particularmente sensible a los efectos de un compuesto xenobiótico o al efecto de un grupo de varios compuestos. Una característica intrínseca o una enfermedad preexistente que aumente la dosis interna o la dosis biológicamente efectiva, o que amplifique el efecto en el tejido meta, puede ser un marcador de susceptibilidad

incrementada (Blas, 1995).

El cuerpo humano parece poseer cierta capacidad para reponerse a los efectos adversos de la exposición química. Sin embargo, la resistencia individual hacia la toxicidad química puede decrecer por una enfermedad preexistente o por una exposición ambiental adicional, así, una exposición no necesariamente puede resultar en una toxicidad reconocida, pero sí en una depresión del sistema inmune o de la capacidad de reserva del organismo (Cullen y Redlich, 1995).

Por tanto, estos marcadores pueden incluir diferencias congénitas en el metabolismo, variaciones en las concentraciones de anticuerpos producidos y en su afinidad por el antígeno, baja capacidad de reserva orgánica u otros factores inducidos ambiental o genéticamente que modifiquen la absorción, el metabolismo, la desintoxicación y el efecto de los agentes ambientales (Blas, 1995).

EL TEJIDO EPITELIAL Y LA CAVIDAD BUCAL

El tejido epitelial está compuesto de células contiguas con poca sustancia intercelular. Forma la epidermis y reviste todas las cavidades orgánicas y los conductos de los sistemas respiratorio, digestivo y genito-urinario (Arey y Rea, 1968).

Las células epiteliales se dividen según su estructura y función en: epitelio de revestimiento (las células se disponen en diferentes capas, que cubren la superficie externa o las cavidades del organismo humano) y epitelio glandular (las células presentan una actividad secretora) (Ten Cate, 1986).

La cavidad bucal se halla revestida por una membrana mucosa que consta de dos capas, una epitelial llamada epitelio oral y otra de tejido conectivo conocida como lámina propia o corión. El epitelio oral o mucosa oral, puede clasificarse como:

- 1) Mucosa masticatoria: cubre las encías y el paladar duro, el epitelio está queratinizado (con gránulos de queratohialina y formación de tonofibrillas), para soportar el roce constante del bolo alimenticio durante el acto masticatorio.
- 2) Mucosa de revestimiento: cubre los labios, la mucosa alveolar, el piso de la boca y los carrillos. El epitelio en esta mucosa es no queratinizado por lo que es muy flexible. En los carrillos, la mucosa está adherida al músculo por una combinación de fibras colágenas y elásticas que la retraen y evita que se pliegue entre los dientes y sea masticada (fig. 2).
- 3) Mucosa especializada: cubre la superficie de la lengua y tiene papilas y corpúsculos gustativos. El epitelio está queratinizado y es funcionalmente una mucosa masticatoria (Ten Cate, 1986).

En general, la mucosa bucal protege los tejidos profundos y los órganos de la región del ambiente bucal, formando una barrera impermeable. Las actividades normales de morder la comida y masticarla, exponen a los tejidos blandos de la boca a fuerzas mecánicas como la compresión, la distensión, el desgarro y el desgaste superficial por las partículas duras de los alimentos. Sin embargo, aunque el epitelio bucal no tiene funciones de absorción, hay diferencias de permeabilidad en diferentes regiones de la boca, dependiendo del espesor de la barrera epitelial que ha de ser atravesada y de si está o no

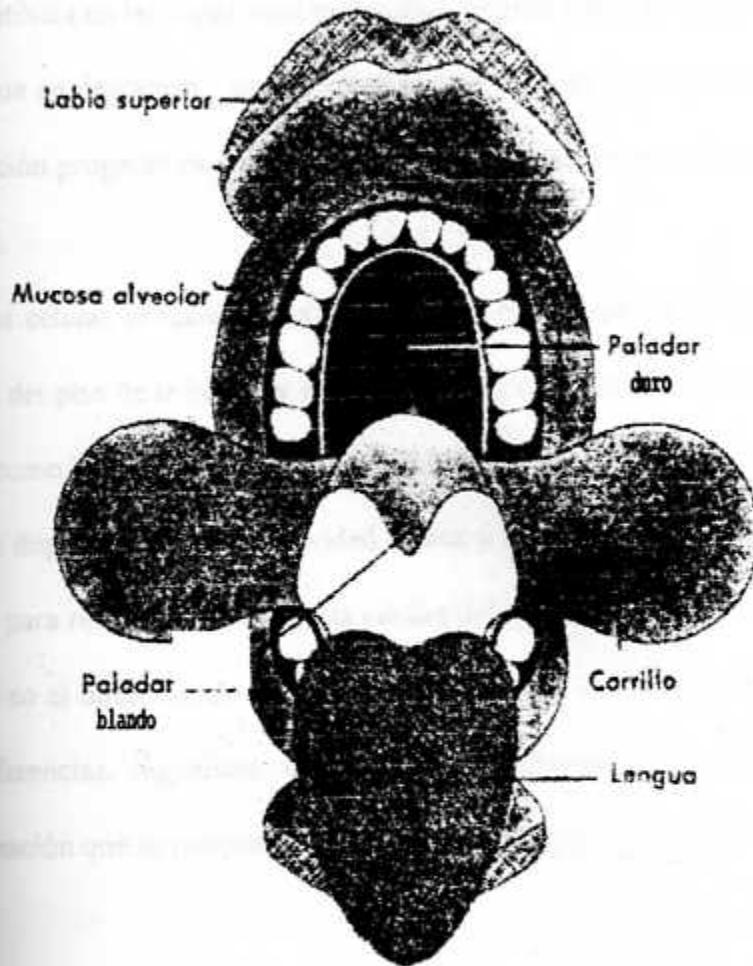


Figura 2 LOCALIZACIÓN ANATÓMICA DE LA MUCOSA DE REVESTIMIENTO DE LA BOCA (Ten Cate, 1986).

queratinizada (Arey y Rea, 1968).

La renovación celular del epitelio es continua, donde las células producidas por división mitótica en las capas más profundas, migran hacia la superficie para reemplazar a aquellas que se descaman; lo que significa que hay dos poblaciones celulares funcionales, una población progenitora y una población en maduración para formar una capa protectora superficial.

Las células progenitoras están situadas en la capa basal de los epitelios delgados (como los del piso de la boca), y en las dos o tres capas celulares inferiores en epitelios más gruesos (como los de los carrillos o los del paladar).

La duplicación es una actividad cíclica y el tiempo de recambio del epitelio (tiempo necesario para reemplazar a todas las células del epitelio) es de 52 a 75 días en la piel, de 4 a 14 días en el intestino, de 41 a 57 días en la encía y alrededor de 25 días en el carrillo. Estas diferencias regionales se deben principalmente a los diferentes patrones de queratinización que se presenten (Ten Cate, 1986).

MICRONÚCLEOS DEL EPITELIO ORAL

Los micronúcleos (MN) son núcleos pequeños que se ubican al lado del núcleo celular y que indican algún tipo de aberración cromosómica. Estos están compuestos de cromosomas enteros o de fragmentos de cromosomas, con o sin centrómero, envueltos en una membrana nuclear. Los MN son consecuencia del rompimiento cromosómico y de la no-disyunción, debida al mal funcionamiento del huso mitótico o por la ausencia de

centrómero, que pueden resultar de la exposición a agentes ambientales (Lohman *et al.*, 1984; Tolbert *et al.*, 1991).

Estos cuerpos nucleares se usan como marcadores de efecto, para detectar interferencia mitótica o aberraciones cromosómicas producidas por sustancias genotóxicas que se han introducido en el sistema corporal. La mayor limitación de la prueba es que no caracteriza la naturaleza del daño nuclear inducido ni la considerable variación intra e interindividual (Pisani, 1994).

El análisis de micronúcleos en células del epitelio oral (MNEO), mide efectos directamente de un tejido meta de la persona expuesta y es un método específico para evaluar efectos clastogénicos (Lohman *et al.*, 1984). El análisis de MNEO tiene las siguientes ventajas: las células no necesitan ser cultivadas, los MN pueden reflejar eventos genotóxicos que han ocurrido en las células de división basal en las últimas tres semanas, la técnica es rápida, simple y las muestras son fáciles de obtener (Tolbert *et al.*, 1991).

Se han realizado estudios sobre el efecto de diferentes toxinas en la salud de las personas, utilizando el análisis de MNEO (Cuadro 5). De ellos, se han informado frecuencias más elevadas de MN en individuos expuestos al consumo de alcohol y tabaco, encontrándose una relación directamente proporcional entre el número de MN y el tiempo de exposición (Livingston *et al.*, 1990; Stich *et al.*, 1982; Tolbert *et al.*, 1991). Los resultados de otros estudios son variables, dependiendo del tipo de tejido y organismo examinado, así como de las condiciones de la investigación en general. queratinizada (Arey y Rea, 1968).

Cuadro 5. ESTUDIOS SOBRE ANÁLISIS DE FRECUENCIA DE MICRONÚCLEOS EN EPITELIO ORAL EN HUMANOS EXPUESTOS A SUSTANCIAS TÓXICAS O A RADIACIONES.

AGENTE	RESULTADO DEL ESTUDIO DE MICRONÚCLEOS	REFERENCIA
Tabaco	positivo	Livingston <i>et al.</i> , 1990; Sarto <i>et al.</i> , 1987; Stich <i>et al.</i> , 1982; Tolbert <i>et al.</i> , 1991
Alcohol	positivo	Tolbert <i>et al.</i> , 1991
Óxido de etileno	negativo	Ribeiro <i>et al.</i> , 1994; Sarto <i>et al.</i> , 1990
Pinturas	positivo	Díaz <i>et al.</i> , 1990
Radioterapia	positivo	Tolbert <i>et al.</i> , 1992
Quimioterapia	positivo	Sarto <i>et al.</i> , 1990
Ácido crómico	negativo	Sarto <i>et al.</i> , 1990
Riboflavina, retinol y zinc	negativo	Muñoz <i>et al.</i> , 1987

La renovación celular del epitelio es continua, donde las células producidas por división mitótica en las capas más profundas, migran hacia la superficie para reemplazar a

Existen otras anomalías nucleares en las células, que también son indicadores de genotoxicidad, y que constituyen muchas veces una limitación de la evaluación de los MNEO (que son células moribundas que pasan a través de procesos degenerativos), ya que pueden dificultar el reconocimiento de micronúcleos verdaderos (fig. 3). Estas anomalías corresponden a diferentes procesos biológicos (Tolbert *et al.*, 1991). Las más frecuentes en las células exfoliadas son:

- Células binucleadas: con presencia de dos núcleos dentro de la célula. Probablemente no involucra una interacción directa con el ADN, pero si está involucrado con procesos de interferencia que ocurren tarde en la división celular (no se conoce bien su origen, ni su efecto en la célula).
- Células con núcleo en "broken eggs" (huevos quebrados): donde el núcleo aparece con una protuberancia de tamaño variable. Su origen y significado aún se desconoce.
- Células con núcleo picnótico: donde este se observa encogido, en altos niveles es una respuesta de lesión o daño celular.
- Células con núcleo donde la cromatina está condensada: en altos niveles es una respuesta de lesión celular, se distingue de la cariorresis porque la membrana nuclear está intacta.
- Células con núcleo en cariorresis o desintegración nuclear: donde la membrana nuclear desaparece y la cromatina se observa condensada en grupos.
- Células con núcleos en cariólisis o disolución nuclear: donde la membrana nuclear se

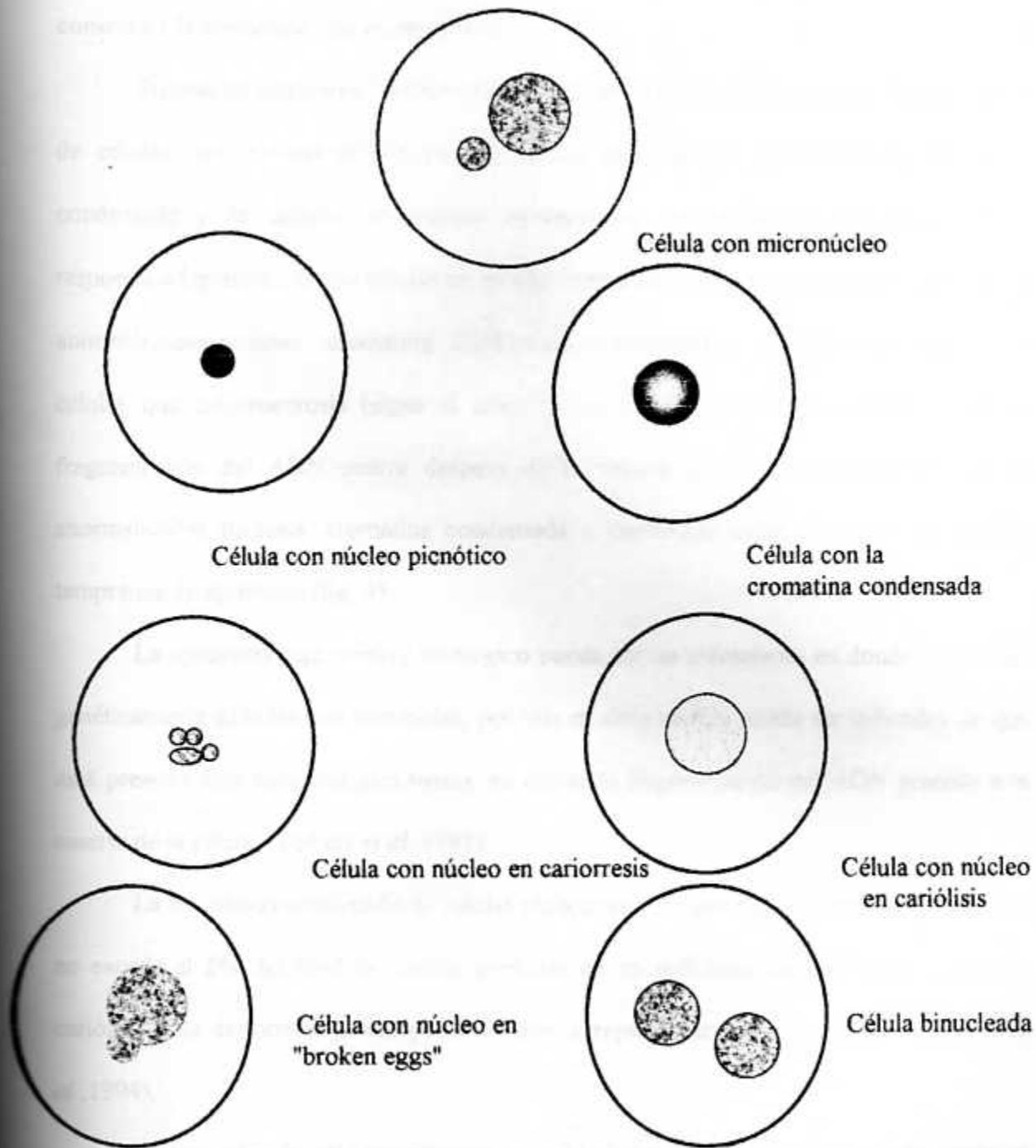


Figura 3. DIAGRAMA DE LA MORFOLOGÍA DE UNA CÉLULA CON MICRONÚCLEO Y DE CÉLULAS CON OTRAS ANOMALÍAS NUCLEARES (Tolbert *et al.*, 1991).

conserva y la cromatina está en disolución.

En análisis anteriores (Tolbert *et al.*, 1992) se ha determinado que un alto porcentaje de células con núcleos picnóticos, de células con núcleos que tienen la cromatina condensada y de células con núcleos en cariólisis, acompañan la queratinización en respuesta adaptativa a lesión celular en epitelio normalmente no queratinizante. También las anormalidades picnosis, cromatina condensada, cariorresis y cariólisis son evidentes en células que sufren necrosis (sigue al contacto con una sustancia citotóxica), donde la fragmentación del ADN ocurre después de la muerte de la célula, mientras que las anormalidades picnosis, cromatina condensada y cariorresis están presentes en estados tempranos de apoptosis (fig. 4).

La apoptosis bajo control fisiológico puede ser un mecanismo en donde las células genéticamente dañadas son eliminadas, por eso en altos niveles puede ser indicador de que está presente una sustancia genotóxica, en donde la fragmentación del ADN precede a la muerte de la célula (Tolbert *et al.*, 1992).

La frecuencia combinada de células picnóticas, "broken eggs" y células binucleadas no excede el 2% del total de células contadas en un individuo control, mientras que la cariólisis y la cariorresis juntas pueden llegar a representar hasta un 21% (Titenko *et al.*, 1994).

El promedio de MN encontrados en poblaciones control es muy variado según el lugar, el ámbito va de 0,03% a 0,47%, por tanto la ocurrencia de frecuencias mayores son indicio de genotoxicidad (Titenko-Holland *et al.*, 1994).

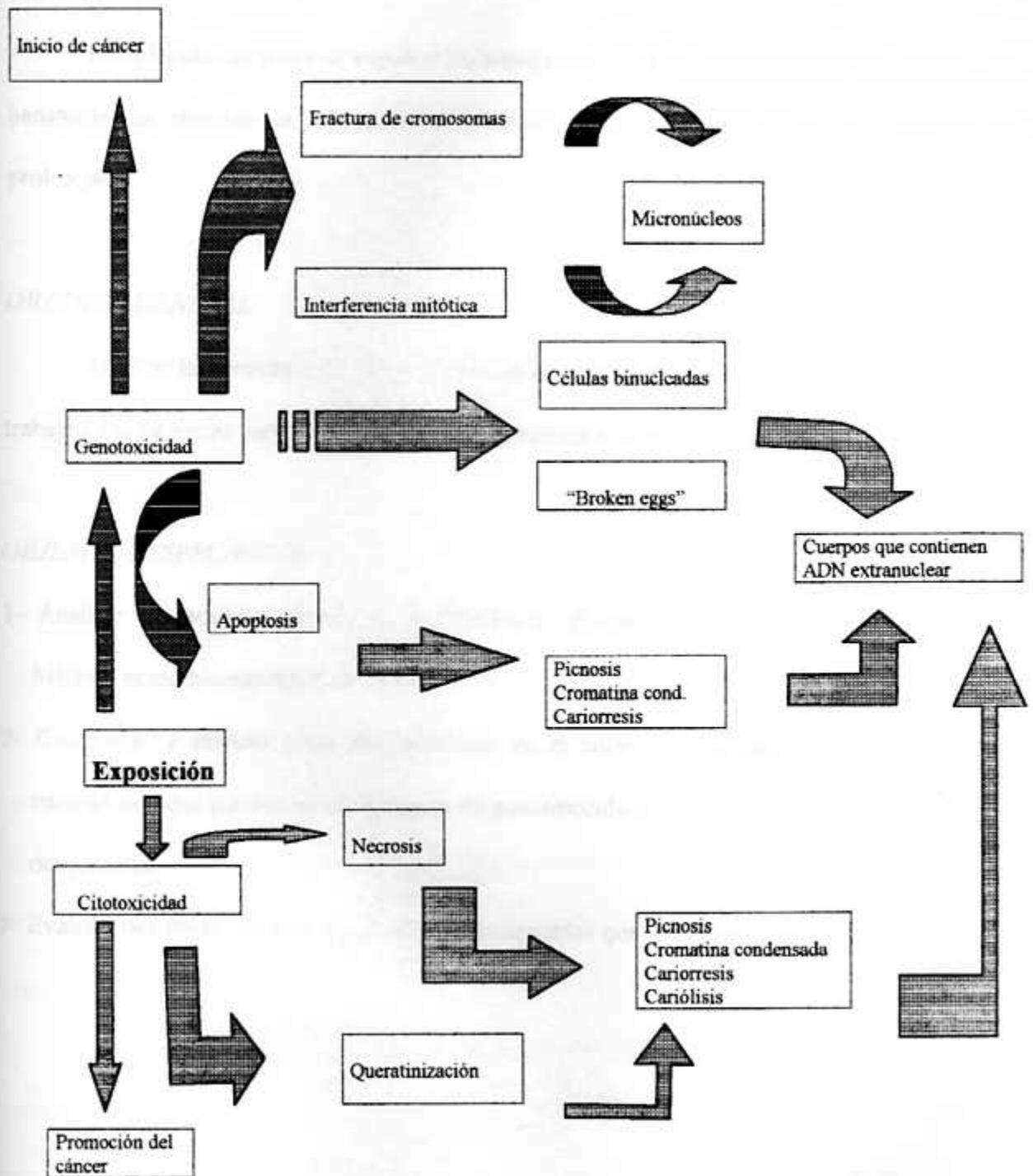


Figura 4. **DIAGRAMA DE ALGUNAS RUTAS POSTULADAS SOBRE EL ORIGEN DE LOS CUERPOS DE ADN EXTRANUCLEAR Y OTRAS ANORMALIDADES NUCLEARES.** (Tolbert *et al.*, 1991).

HIPÓTESIS

Los plaguicidas a que se exponen las trabajadoras en la planta empacadora de las fincas bananeras incrementan la frecuencia de MNEO, cuando la exposición es constante y prolongada.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la frecuencia de micronúcleos en las células de la mucosa oral de un grupo de trabajadoras de fincas bananeras en Guápiles, expuestas a diferentes plaguicidas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Analizar los posibles efectos de exposición a plaguicidas, por medio del método de MNEO, como biomarcador de efecto.
- 2- Cuantificar y analizar otras anormalidades en el núcleo de las células epiteliales de la mucosa oral que puedan ser indicadores de genotoxicidad, como resultado de la exposición ocupacional.
- 3- Evaluar, por medio de un cuestionario, otras variables que pudieran afectar los resultados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población en estudio y recolección de las muestras:

El proyecto se basó en un estudio de caso control, en donde los casos fueron un grupo de mujeres que trabajaban en las plantas empacadoras de fincas bananeras en Guápiles, con edades entre 16 y 50 años y que tenían al menos tres meses de laborar en forma continua.

El grupo de controles fueron mujeres que vivían en Guápiles, que nunca habían estado expuestas directamente a plaguicidas en su trabajo, con edades y hábitos similares a los del grupo de mujeres expuestas a plaguicidas y que no vivían en fincas bananeras ni sus esposos o compañeros trabajaban en esta actividad.

El tamaño inicial del grupo fue de 93 individuos (47 casos y 46 controles). Del grupo de casos fue necesario eliminar dos mujeres que se habían sometido a radiografías dentales aproximadamente un mes antes de tomar la muestra de epitelio oral, se eliminaron cuatro mujeres más porque el conteo de las células no llegó a mil y se eliminó la muestra de una mujer que había tenido una infección en la boca recientemente. Del grupo de controles fue necesario eliminar una mujer que había trabajado como administrativa en una finca bananera y otra mujer porque el conteo de las células no llegaba a mil.

El tamaño final del grupo fue de 84 mujeres (40 casos y 44 controles). Las muestras biológicas de los controles y de los casos se obtuvieron en giras programadas a Guápiles una vez cada quince días (diciembre de 1995 a junio de 1996 y de diciembre de 1996 a junio de 1997), recolectando de cuatro a ocho muestras de epitelio oral por viaje.

Las mujeres a estudiar firmaron una carta de consentimiento (anexo 2), la cual especificaba, entre otras cosas, que su participación era voluntaria. Además, contestaron una encuesta en donde se recogió información sobre la edad, grupo étnico, consumo de alcohol, cigarrillos, drogas, medicamentos, hábitos alimentarios, enfermedades, exposición a diferentes sustancias químicas en la casa y en el trabajo, historia familiar, etc. (anexo 3).

Para obtener las muestras, se les pidió a las mujeres lavar su boca con un enjuague bucal, después con el palillo de madera estéril de un aplicador se raspó suavemente el interior de ambas mejillas (unas 10 veces de cada lado). La mucosa obtenida se depositó en un tubo con tapa (solo un tubo por persona) que contenía una solución salina al 0,9% y se depositó en una hielera a unos 10 °C mientras se regresaba al laboratorio del INISA (Instituto de Investigaciones en Salud) en donde se guardaron en un refrigerador a 4 °C hasta el día siguiente, cuando se lavaron con solución salina al 0,9%, se centrifugaron y se fijaron con metanol absoluto.

Fijación de las muestras

Una vez en el laboratorio las muestras se centrifugaron a 50 rps durante 6 min, se retiró el sobrenadante de la solución salina y el botón celular se lavó cinco veces más con solución salina al 0,9% usando el mismo procedimiento.

Luego se le agregó a cada botón celular 5 ml de metanol absoluto, se centrifugó a 50 rps por 6 min y se dejaron los tubos a 4 °C al menos por 20 min. Por último, se volvió a centrifugar la muestra, se eliminó el sobrenadante y se le agregó nuevamente a cada tubo 5

ml de metanol absoluto, se centrifugó y se dejó en el refrigerador a 4 °C hasta que se prepararon las láminas. Este protocolo para fijación de muestras es el del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, con algunas modificaciones hechas en el INISA (México, 1994).

Preparación de las láminas:

Antes de gotear las láminas, cada muestra se procesó de la siguiente forma: se sacaron las muestras del refrigerador, se centrifugaron, se eliminó el sobrenadante y se les agregó 5 ml de metanol absoluto al botón celular (se repitió seis veces, utilizando para cada muestra una pipeta para agitar y separar las células). Cada lavado con metanol absoluto aseguró que la preparación quedara limpia y facilitó el conteo de las células.

Los portaobjetos que se usaron estaban muy limpios y fríos (4 °C con al menos 20 min de anticipación).

Para gotear la lámina se utilizó una pipeta Pasteur con bulbo de hule, dejando caer en cada una tres o cuatro gotas de la muestra diluida en 1 ml de metanol, a una distancia de medio metro de altura de la lámina. Se gotearon cuatro láminas por muestra y se rotularon apropiadamente, luego se dejaron al menos 24 horas en el horno a 60 °C y así quedaron listas para teñirse (México, 1994).

Las preparaciones, tanto de los casos como de los controles, se codificaron de tal manera que el análisis se realizó a doble ciego, esto significa que el analizador desconocía si estaba observando un caso o un control.

Tinción:

Se tiñeron con solución de Wright's y luego se volvieron a teñir con solución de Giemsa (Schmid, 1975), de la siguiente manera:

-La solución Wright's se filtró primero, al igual que la solución Giemsa.

-Cada lámina se tiñó con 1 ml de solución Wright's puro y se dejó por 3 min, luego se lavó con agua destilada y de inmediato se tiñó con solución Wright's 1:1 (1 ml de tinte por 1 ml de agua destilada para cada lámina) y se dejó por 2 min. Luego se lavó con agua destilada y se puso a teñir en solución Giemsa (al 8% y con un buffer) por 7 min. Finalmente se lavó con agua destilada en un beaker de 250 ml con 1 ml de alcohol para eliminar el exceso de tinte.

-Las láminas se dejaron secar y al día siguiente se les puso el cubreobjetos con Permount (sustancia que fija el cubreobjetos al portaobjetos).

Análisis de las células al microscopio:

Se utilizó un microscopio de contraste de fases o uno con el condensador desplazado hasta la posición más inferior. Se contaron mil células por caso, pero si habían menos de cinco MN se contaron mil células más, y si aún así habían menos de cinco MN se contaron mil más. Los criterios utilizados para definir un MN fueron:

- 1- La forma del MN debía ser redonda y tener membrana nuclear.
- 2- El MN debía ser igual o menor a la tercera parte del núcleo principal, pero lo suficientemente grande para observar su textura.

3- La tinción del MN tenía que ser de la misma intensidad que la del núcleo.

4- La textura del MN y la del núcleo debían ser similares.

5- El núcleo y el MN debían encontrarse en el mismo plano focal.

6- Debía haber ausencia de traslape o de puente entre núcleo y MN.

7- El MN debía reflejar la luz con la misma intensidad que el núcleo.

Si los MN contaban con todas estas características el criterio de clasificación utilizado era de alta certeza, pero si le faltaba alguna se calificó de mediana certeza.

Todas las células incluidas en el informe debían cumplir los siguientes requisitos: las células no debían estar dañadas, el citoplasma debía distinguirse y estar extendido y si había traslape entre las células debía ser mínimo.

Para informar las otras anormalidades nucleares, estas debían encontrarse en el mismo plano focal del núcleo. Además la textura, así como la tinción, debían ser similares (Tolbert, *et al.*, 1991).

Análisis estadístico:

El análisis estadístico de los datos se realizó usando el paquete de programas estadísticos Statistics para Windows, versión 4.5, 1993.

Se revisaron todas las variables explicativas y se compararon los dos grupos (casos y controles), por medio de una estadística de prueba Z para probar la hipótesis nula de que no había diferencias significativas entre las proporciones de las dos poblaciones.

La información obtenida del análisis de las células de los casos y los controles fue

transformada a proporciones (número de células observadas con una anomalía específica entre el número total de células contadas para cada muestra). Cuando los datos de una muestra se convierten en proporciones o en porcentajes adquieren una distribución de tipo binomial, por lo que fue necesario usar la transformación de arcosenos (Zar, 1996), para normalizar la distribución y hacer un manejo adecuado de los datos. Esta información transformada fue sometida a la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (anexo 4).

Para comparar la frecuencia de micronúcleos del grupo control con el grupo expuesto se usó la prueba T-Student para grupos independientes. Esta prueba se aplicó bajo la hipótesis nula de que no hay diferencias significativas entre la media del grupo control y la media del grupo de casos, cuando el nivel de significación es mayor de 0,05 ($p > 0,05$).

Las otras posibles variables (además de la exposición a plaguicidas), elucidadas por el cuestionario y que podrían estar contribuyendo a la aparición de las anomalías nucleares, se sometieron a un análisis de regresión múltiple (Daniel, 1987), el cual ayudó a determinar si existía una relación lineal entre alguna variable Y (dependiente, en este caso es cualquier anomalía nuclear) y las variables X (independientes o cualquier categoría de riesgo), llamadas también explicativas o de predicción.

Las variables cualitativas se midieron por el tipo de respuesta y se codificaron de la siguiente forma: sí = 1, no = 2, ocasionalmente = 3, grupo de casos o expuestos a plaguicidas = 1 y grupo de controles o no expuestos = 2.

En el análisis de regresión múltiple, además del coeficiente de determinación r^2 (el cual mide la proximidad del ajuste de la ecuación de regresión de la muestra a los valores

observados de Y); se aplicó también la prueba de hipótesis para Beta (coeficiente Beta estandarizado), que es una alternativa para probar la hipótesis nula de no relación lineal entre dos variables (la dependiente y la independiente) (Daniel, 1987; Statistics para Windows, versión 4.5, 1993).

Se aplicó regresión lineal a los datos del grupo de casos para detectar si el tiempo de trabajo en una finca bananera (TTFB) y NCAFÉ (número de tazas de café que se consume diariamente) estaba relacionado con un aumento en la frecuencia de anomalías nucleares.

El nivel de significación aplicado en todas las pruebas estadísticas fue de 0,05.

RESULTADOS

Los cuadros 6 y 7 resumen la estadística descriptiva para todos los sujetos del estudio, en cuanto a la edad promedio de cada grupo, y la frecuencia de individuos en cada categoría de riesgo. La información muestra que ambos grupos (casos y controles), tienen una distribución de edad similar, sin embargo muestran diferencias importantes en las otras variables.

Entre las variables o categorías de riesgo que muestran diferencias importantes entre los grupos de casos (evalúan exposición a plaguicidas) y de controles (no expuestos) sobresalen la exposición a plaguicidas en el trabajo, el consumo de anticonceptivos orales y dermatitis, todas con porcentajes mucho mayores en el grupo de los casos, mientras que un alto consumo de café (de cinco o más tazas al día) y la presencia de una radiografía dental en el último año antes de tomar la muestra de epitelio oral, muestran porcentajes mayores en el grupo de controles; en todos estos casos el valor de p es menor o igual a 0,05. Otra diferencia importante es el amplio ámbito en años de trabajo que presentan las mujeres de la muestra para el grupo de casos.

El grupo de controles y de casos utilizaron plaguicidas en sus casas al menos una vez al mes para combatir cucarachas, mosquitos y malezas principalmente, por eso aparece un 100% en esta categoría de riesgo, pero no significa necesariamente que ellas lo aplicaban o que estuvieran presentes durante su utilización.

El significado de cada variable utilizada en el análisis estadístico está en la lista de

Abreviaturas.

El anexo 4 tiene los resultados de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnof, encontrándose que la variable ACROC no presenta una distribución normal.

Análisis de micronúcleos

Los casos y los controles fueron ordenados por edad ascendente y se determinó que no existe relación entre el número del AMN y la edad (el resultado de la regresión lineal múltiple para el AMNT y para el AMNA resultó ser igual: $r^2= 0,016$ con un β para edad de 0,02).

Debido a que los resultados obtenidos con el AMNT y el AMNA eran en general muy parecidos, se decidió trabajar solo con los datos ofrecidos por el AMNT.

La T-Student que se aplicó para comparar el número del AMNT en ambos grupos (casos y controles) no fue estadísticamente significativa (cuadro 8), por lo tanto se acepta la hipótesis nula de que no existen diferencias significativas entre las medias de ambas muestras. El análisis de regresión múltiple para encontrar relaciones lineales entre las variables del cuadro 7 y el número del AMNT fue estadísticamente no significativo (cuadro 9).

Análisis de otras anormalidades nucleares y algunas combinaciones

El cuadro 8 muestra los resultados de la T-Student que compara las medias de los dos grupos (casos y controles) para las otras diferentes vías que conllevan a un daño celular. En las variables ACARI, AGENOT, ACITOT y AAPOPT se observó una

diferencia significativa ($p < 0,05$) entre controles y casos, presentando los controles un mayor número de anomalías.

Considerando que dentro de los casos existe heterogeneidad en el tiempo de exposición a plaguicidas (cuadro 6), se estudió la relación entre AGENOT, AAPOPT, ANMT y ACITOT y el tiempo de trabajo en una finca bananera (TTFB). El cuadro 10 muestra esta relación, encontrada por una regresión lineal. A pesar de que solo ACITOT resulta ser estadísticamente significativo ($p = 0,05$), AGENOT y AAPOPT muestran una relación lineal inversa con la variable independiente TTFB con $p < 0,10$. Las figuras 5, 6, y 7 grafican lo anterior.

El cuadro 9 muestra los resultados de la regresión múltiple para cada una de las variables dependientes: AMNT, ABINU, ABROK, APICN, ACROC, ACARI, ACARIOL, AGENOT, ACITOT y AAPOPT, sobre las variables independientes del cuadro 7. Hay una relación directa entre las variables dependientes ACARI, ACARIOL, AGENOT, ACITOT y AAPOPT ($p < 0,05$), y la variable independiente DERMATITIS, indicando que las mujeres que sufren de problemas en la piel (la mayoría pertenecen al grupo de casos) presentan una frecuencia mayor en este tipo de anomalías.

Se estableció una relación lineal entre las variables dependientes ACARI, ACITOT y AAPOPT con la variable independiente CASO-CONTROL (expuestos a plaguicidas y no expuestos). Esta relación lineal se puede observar en las figuras 8 y 9. Además la significancia entre la diferencia de los promedios de los dos grupos fue comprobada en la prueba T-Student, mostrada en el cuadro 8.

A pesar de que la variable cafeína en la prueba de regresión múltiple (cuadro 9) no mostró relación lineal con las diferentes variables dependientes, si mostró estar relacionada directamente la cantidad de café que se toma diariamente y el aumento en el número de anomalías nucleares que detectan citotoxicidad (cuadro 10). El grupo que está más afectado es el de los controles.

La figura 10 son fotografías de algunas anomalías nucleares tomadas durante el análisis de las muestras.

Cuadro 6. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA EDAD Y DEL TIEMPO TRABAJADO EN FINCASBANANERAS PARA EL GRUPO DE CASOS Y DE CONTROLES.

Variable	Grupo de casos (n=40)				Grupo de controles (n=44)			
	Media	D.E.*	Ámbito	E.E.*	Media	D.E.	Ámbito	E.E.
Edad	33,20	9,17	16-50	1,45	33,38	8,31	16-51	1,25
Años de trabajo en bananera	6,37	7,15	0,25-24	1,13	---	---	----	----

* D.E. = desviación estándar
E.E. = error estándar

Cuadro 7. PORCENTAJE DE INDIVIDUOS EN CADA CATEGORÍA DE RIESGO PARA EL GRUPO DE CONTROLES Y DE CASOS.

CATEGORÍA	CASOS(%) n = 40	CONTROLES (%) n = 44	Estadística de prueba z (p)
Exposición a plaguicidas (en el trabajo más de tres veces por semana)	100	0	
Exposición a plaguicidas (en casa al menos una vez al mes)	100	100	
Fumadores de tabaco	25	18.2	0.55 (p=0.29)
Consumidores de cerveza			
- ocasionales (menos de una por semana o nunca)	77.5	82	0.50 (p=0.31)
- 1-6 botellas por semana	20	15.9	0.51 (p=0.31)
- 7 o más botellas por semana	2.5	2.3	0.02 (p=0.49)
Toma anticonceptivos	27.5	13.6	1.60 (p=0.05)
Radiografía dental	5	20.4	2.28 (p=0.01)
Toma algún medicamento recetado	57.5	45.4	1.10 (p=0.14)
Consume cafeína			
Ocasionalmente o nunca	15	18	0.37 (p=0.36)
diario (1-2 tazas)	60	54.6	0.50 (p=0.31)
diario (3-4 tazas)	20	15.9	0.49 (p=0.31)
5 o más tazas diarias	--	11.4	2.19 (p=0.01)
Dermatitis	30	9.1	2.47 (p<0.01)
Alergias	40	31.8	0.85 (p=0.15)
Abortos espontáneos	15	18	0.33 (p=0.37)
Anormalidades genéticas en la familia	25	29.5	0.46 (p=0.32)
Problemas para concebir o esterilidad	17.5	11.4	0.75 (p=0.23)
Hijos con anomalías de nacimiento	15	6.8	1.19 (p=0.11)

Cuadro 8. **COMPARACIÓN DE LAS MEDIAS PARA DIFERENTES VARIABLES DEPENDIENTES MEDIANTE UNA PRUEBA T-STUDENT. ***

Variable	\bar{X} casos	\bar{X} controles	T-valor	G.L.	Probabilidad
AMNT	0,031	0,038	-1,165	82	> 0,20
AMNA	0,022	0,028	-0,959	82	> 0,20
ABINU	0,044	0,041	0,933	82	> 0,20
APIN	0,031	0,041	-1,431	82	> 0,10
ABROK	0,026	0,023	0,754	82	> 0,20
ACROC	0,003	0,004	-0,229	82	> 0,20
ACARI	0,048	0,068	-3,083	82	< 0,01
ACARIOL	0,085	0,104	-1,887	82	> 0,05
AGENOT	0,094	0,111	-2,296	82	< 0,01
ACITOT	0,110	0,137	-2,480	82	< 0,05
AAPOPT	0,063	0,085	-2,910	82	< 0,01

* La información presenta la transformación de los arcosenos.

G.L. = grados de libertad

El significado de cada variable está en la lista de abreviaturas, al inicio de la tesis.

Cuadro 9. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE REGRESIÓN MÚLTIPLE DE CADA VARIABLE DEPENDIENTE CON LAS VARIABLES INDEPENDIENTES MÁS INFLUYENTES EN LA POSIBLE FORMACIÓN DE CÉLULAS ANORMALES.

Variable dep	AMNT r ² = 0,06	ABINU r ² = 0,08	ABROK r ² = 0,14	APICN r ² = 0,11	ACROC r ² = 0,09
Variable indep	β	β	β	β	β
Caso-Control	0,07 (p=0,59)	-0,09 (p=0,49)	-0,12 (p=0,31)	0,10 (p=0,42)	0,06 (p=0,63)
EDAD	0,04 (p=0,72)	-0,08 (p=0,48)	0,09 (p=0,49)	-0,04 (p=0,74)	-0,05 (p=0,76)
FUMA	-0,05 (p=0,67)	0,01 (p=0,95)	-0,22 (p=0,07)	0,01 (p=0,92)	0,12 (p=0,36)
MEDIME	0,03 (p=0,81)	-0,05 (p=0,69)	-0,08 (p=0,50)	0,10 (p=0,40)	-0,06 (p=0,79)
ANTICONCEP.	0,13 (p=0,29)	0,09 (p=0,48)	0,20 (p=0,09)	0,08 (p=0,51)	0,18 (p=0,60)
DERMATITIS	0,13 (p=0,24)	0,14 (p=0,21)	0,05 (p=0,70)	0,16 (p=0,14)	0,11 (p=0,30)
RADIOGD	-0,14 (p=0,27)	-0,05 (p=0,67)	-0,08 (p=0,51)	-0,06 (p=0,62)	0,19 (p=0,11)
CAFEÍNA	-0,004(p=0,97)	0,04 (p=0,77)	0,003(p=0,98)	-0,12 (p=0,30)	0,01 (p=0,77)
CERVEZA	-0,002(p=0,99)	-0,08 (p=0,56)	-0,10 (p=0,44)	0,07 (p=0,61)	0,15 (p=0,22)
F. GENÉT.	0,01 (p=0,94)	0,13 (p=0,34)	0,05 (p=0,67)	0,20 (p=0,09)	0,15 (p=0,17)
CONCEB.	0,04 (p=0,74)	-0,09 (p=0,44)	0,03 (p=0,84)	0,06 (p=0,57)	0,04 (p=0,87)
H. ANORM.	0,02 (p=0,88)	-0,17 (p=0,21)	0,07 (p=0,62)	0,04 (p=0,74)	0,04 (p=0,89)

CONTINUACIÓN:

Variable dep.	ACARI $r^2= 0,20$	ACARIOL $r^2= 0,15$	AGENOT $r^2= 0,16$	ACITOT $r^2= 0,21$	AAPOPT $r^2= 0,19$
Variable indep.	β	β	β	β	β
Caso-Control	0,35 ($p=0,04$)	0,20 ($p=0,10$)	0,21 ($p=0,08$)	0,24 ($p=0,04$)	0,29 ($p=0,02$)
EDAD	-0,08 ($p=0,48$)	-0,13 ($p=0,28$)	-0,07 ($p=0,54$)	-0,11 ($p=0,35$)	-0,08 ($p=0,50$)
FUMA	-0,21 ($p=0,08$)	0,14 ($p=0,24$)	-0,13 ($p=0,29$)	-0,17 ($p=0,14$)	-0,11 ($p=0,32$)
MEDIME	-0,02 ($p=0,87$)	0,10 ($p=0,40$)	-0,03 ($p=0,78$)	-0,06 ($p=0,58$)	0,02 ($p=0,84$)
ANTICONCEPT.	-0,08 ($p=0,51$)	0,08 ($p=0,48$)	0,13 ($p=0,28$)	0,08 ($p=0,48$)	0,03 ($p=0,77$)
DERMATITIS	0,26 ($p=0,02$)	0,22 ($p=0,05$)	0,23 ($p=0,03$)	0,26 ($p=0,02$)	0,22 ($p=0,04$)
RADIOGD.	0,03 ($p=0,79$)	0,05 ($p=0,70$)	-0,04 ($p=0,76$)	0,02 ($p=0,88$)	0,02 ($p=0,89$)
CAFEÍNA	0,01 ($p=0,91$)	-0,07 ($p=0,53$)	-0,07 ($p=0,56$)	-0,09 ($p=0,44$)	-0,08 ($p=0,49$)
CERVEZA	-0,12 ($p=0,32$)	-0,04 ($p=0,73$)	-0,09 ($p=0,50$)	-0,10 ($p=0,43$)	-0,05 ($p=0,66$)
F. GENÉT.	0,14 ($p=0,23$)	0,17 ($p=0,15$)	0,19 ($p=0,11$)	0,21 ($p=0,06$)	0,19 ($p=0,09$)
CONCEB.	0,07 ($p=0,53$)	0,03 ($p=0,80$)	0,09 ($p=0,43$)	0,09 ($p=0,41$)	0,10 ($p=0,37$)
H. ANORM.	0,06 ($p=0,64$)	-0,06 ($p=0,66$)	0,07 ($p=0,59$)	0,04 ($p=0,77$)	0,08 ($p=0,50$)

Beta es el valor de b estandarizado. Entre paréntesis se muestra la probabilidad del valor de T para la hipótesis de $b=0$. r^2 es el coeficiente de determinación del modelo de regresión.

Cuadro 10. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL PARA NCAFÉ Y TTFB SOBRE LAS VARIABLES AGENOT, ACITOT, AAPOPT Y AMNT.

Variable indep.	NCAFÉ (N=81)	TTFB (N=40, solo casos)
Variable dep.	B	B
AGENOT	0,18(p=0,11)	-0,28 (p=0,08)
ACITOT	0,27 (p=0,01)	-0,31 (p=0,05)
AAPOPT	0,17 (p=0,13)	-0,29 (p=0,06)
AMNT	-0,06 (p=0,62)	-0,05 (p=0,78)

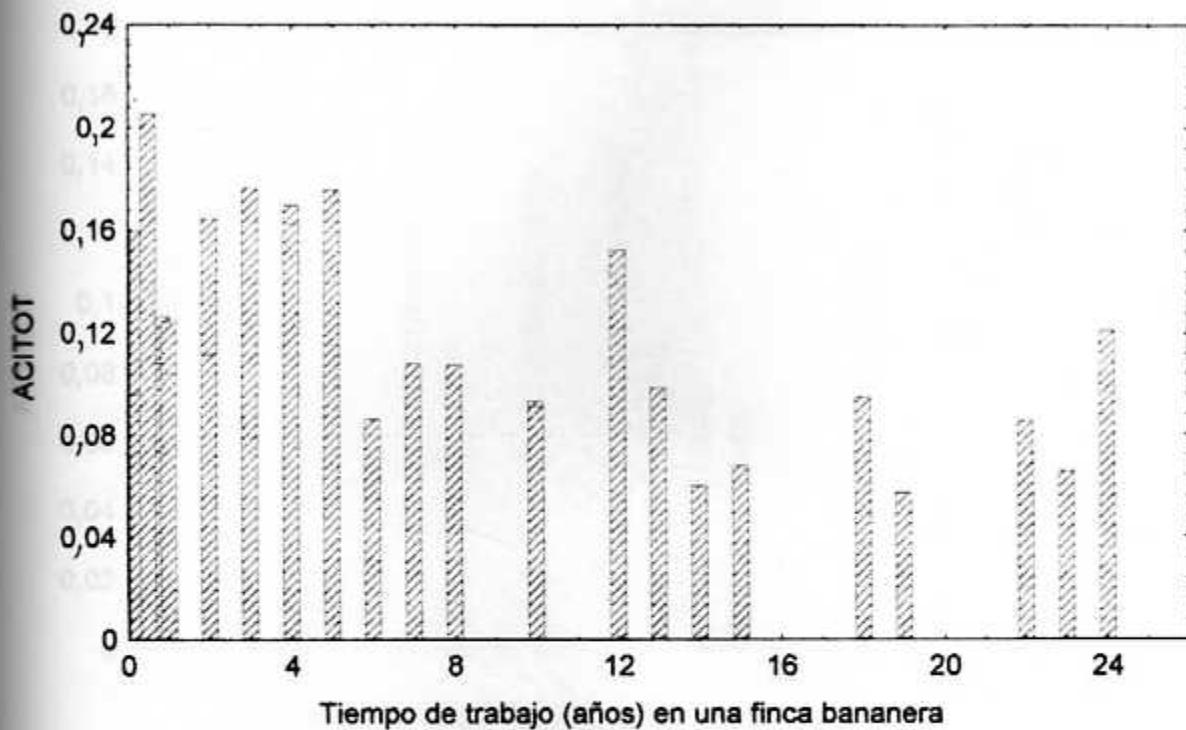


Figura 5. **DISTRIBUCIÓN DEL NÚMERO DE CÉLULAS QUE MUESTRAN CITOTOXICIDAD (DATOS TRANSFORMADOS) SEGÚN EL TIEMPO (AÑOS) DE TRABAJO EN UNA FINCA BANANERA.**

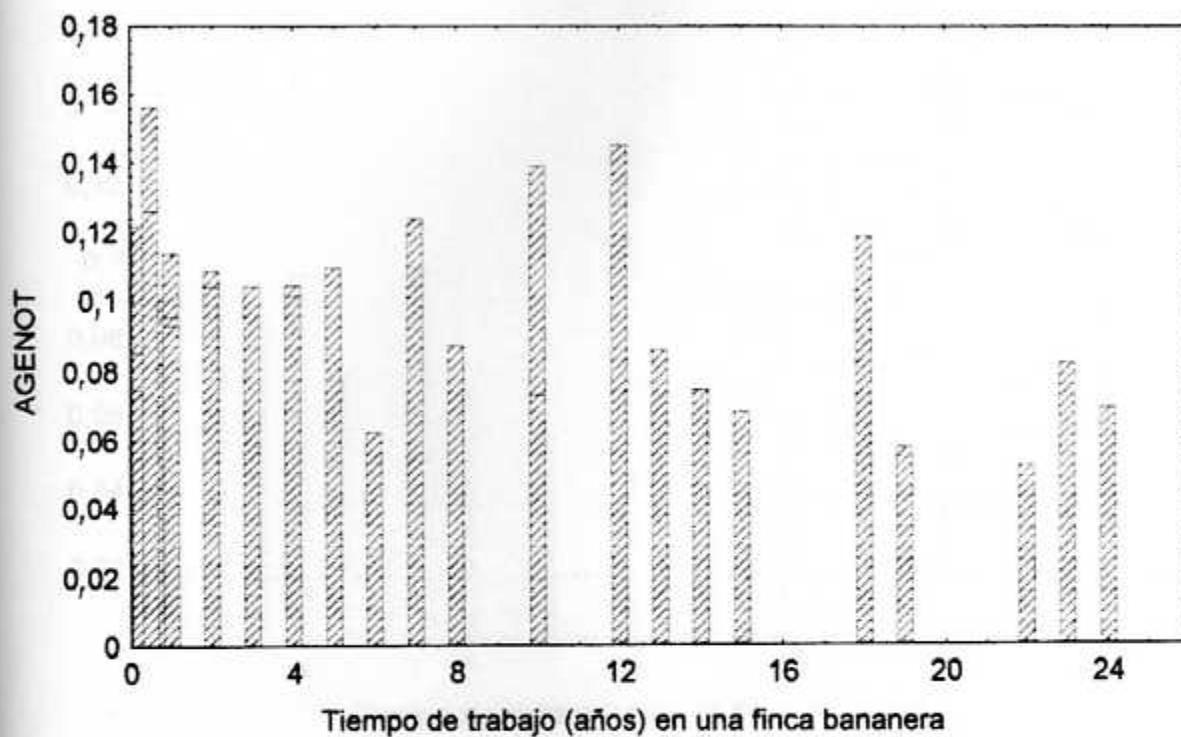


Figura 6. DISTRIBUCIÓN DEL NÚMERO DE CÉLULAS QUE MUESTRAN GENOTOXICIDAD (DATOS TRANSFORMADOS) SEGÚN EL TIEMPO (AÑOS) DE TRABAJO EN UNA FINCA BANANERA.

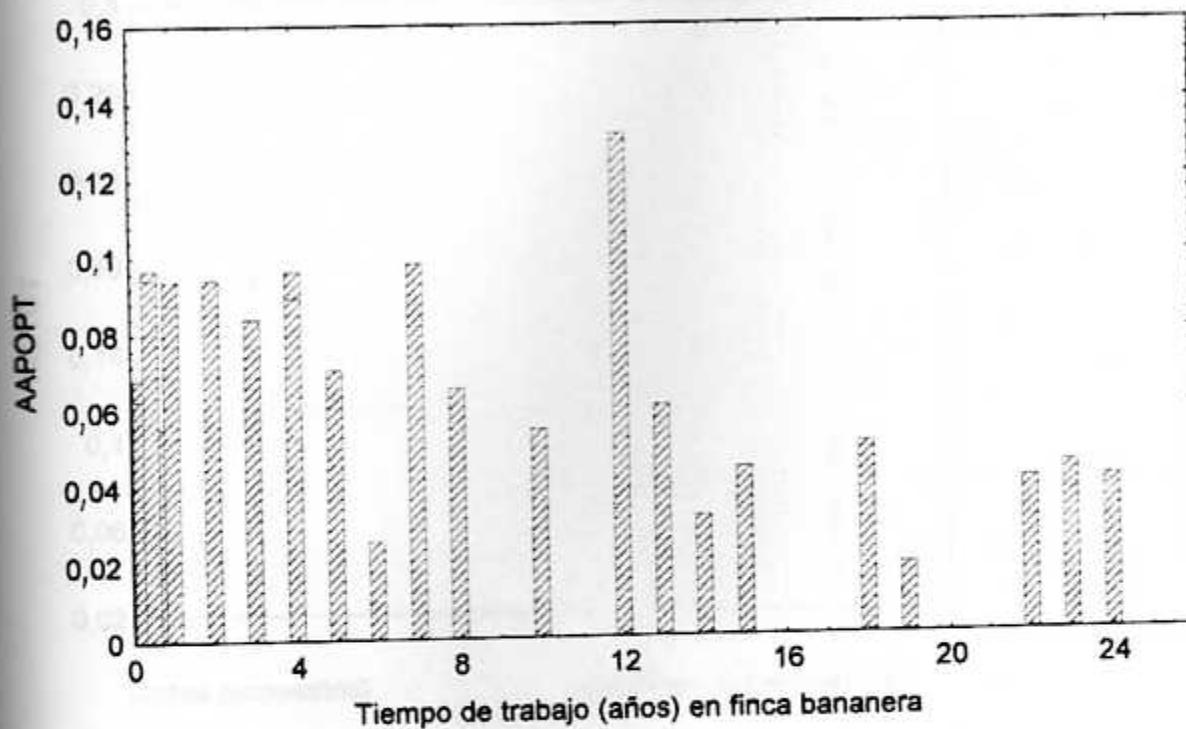


Figura 7. DISTRIBUCIÓN DEL NÚMERO DE CÉLULAS QUE MUESTRAN APOPTOSIS (DATOS TRANSFORMADOS) SEGÚN EL TIEMPO (AÑOS) DE TRABAJO EN UNA FINCA BANANERA.

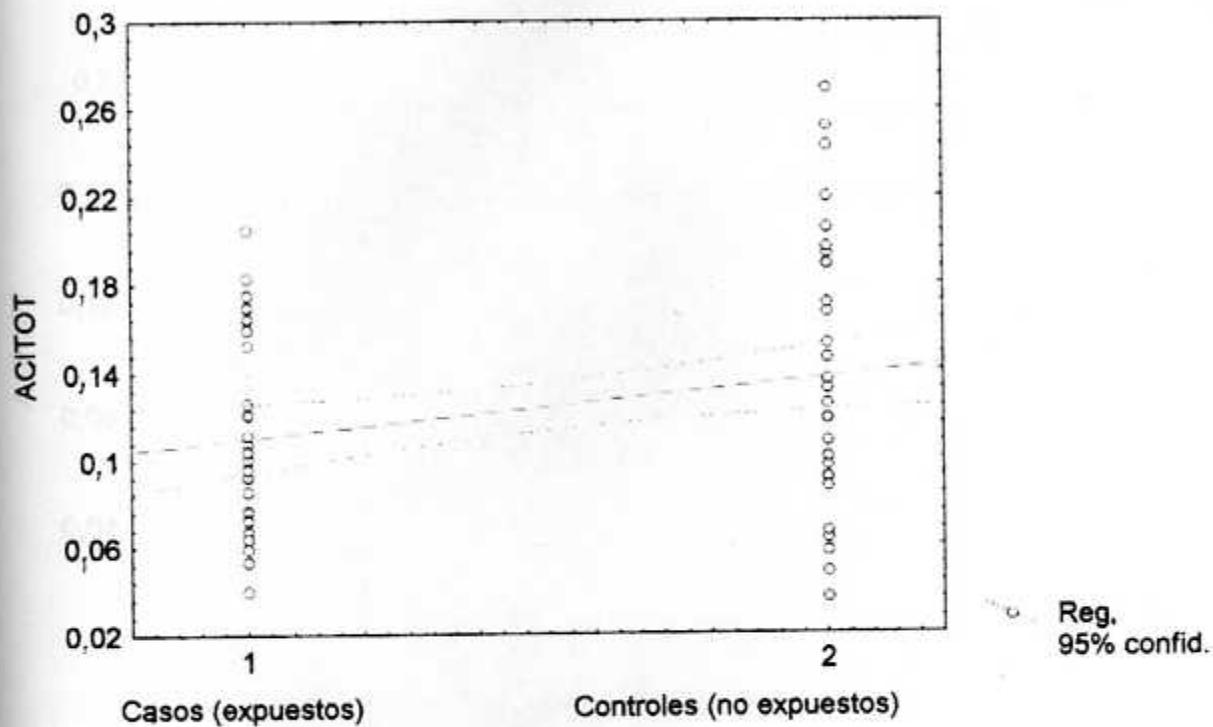


Figura 8. RELACIÓN ENTRE LA VARIABLE ACITOT Y LA VARIABLE CASO-CONTROL (EXPUESTOS Y NO EXPUESTOS A PLAGUICIDAS).

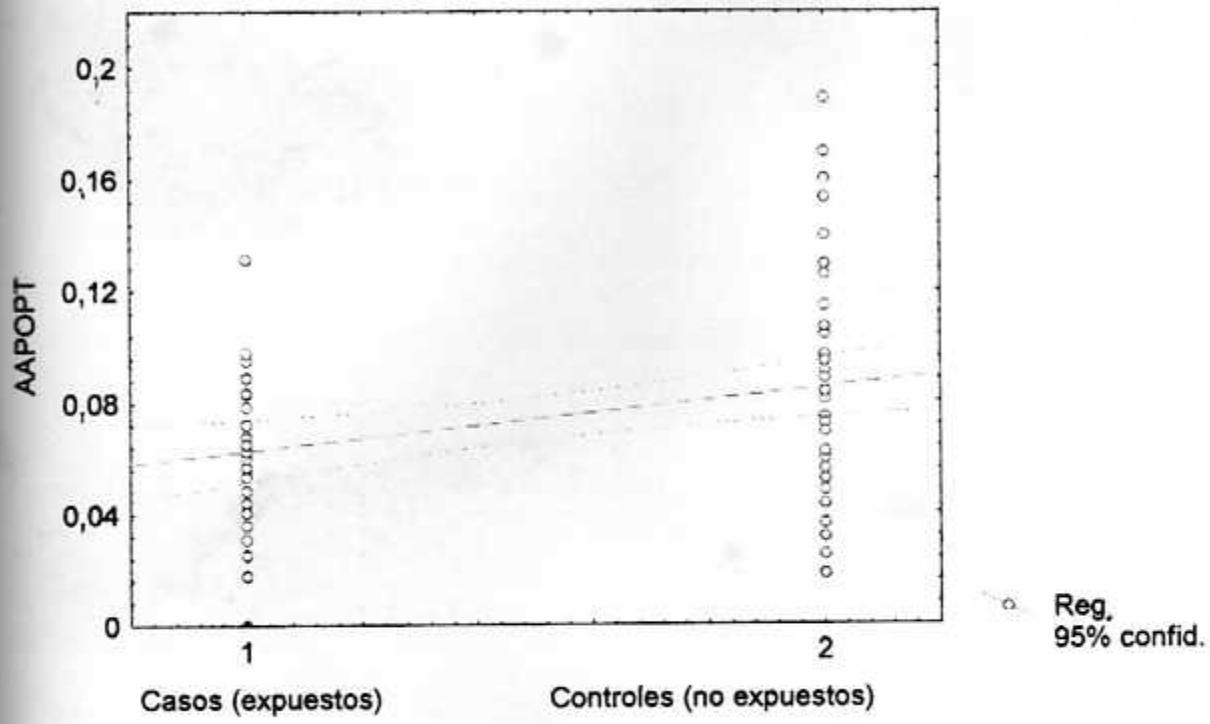


Figura 9. **RELACIÓN ENTRE LA VARIABLE AAPOPT SOBRE LA VARIABLE CASO-CONTROL.**

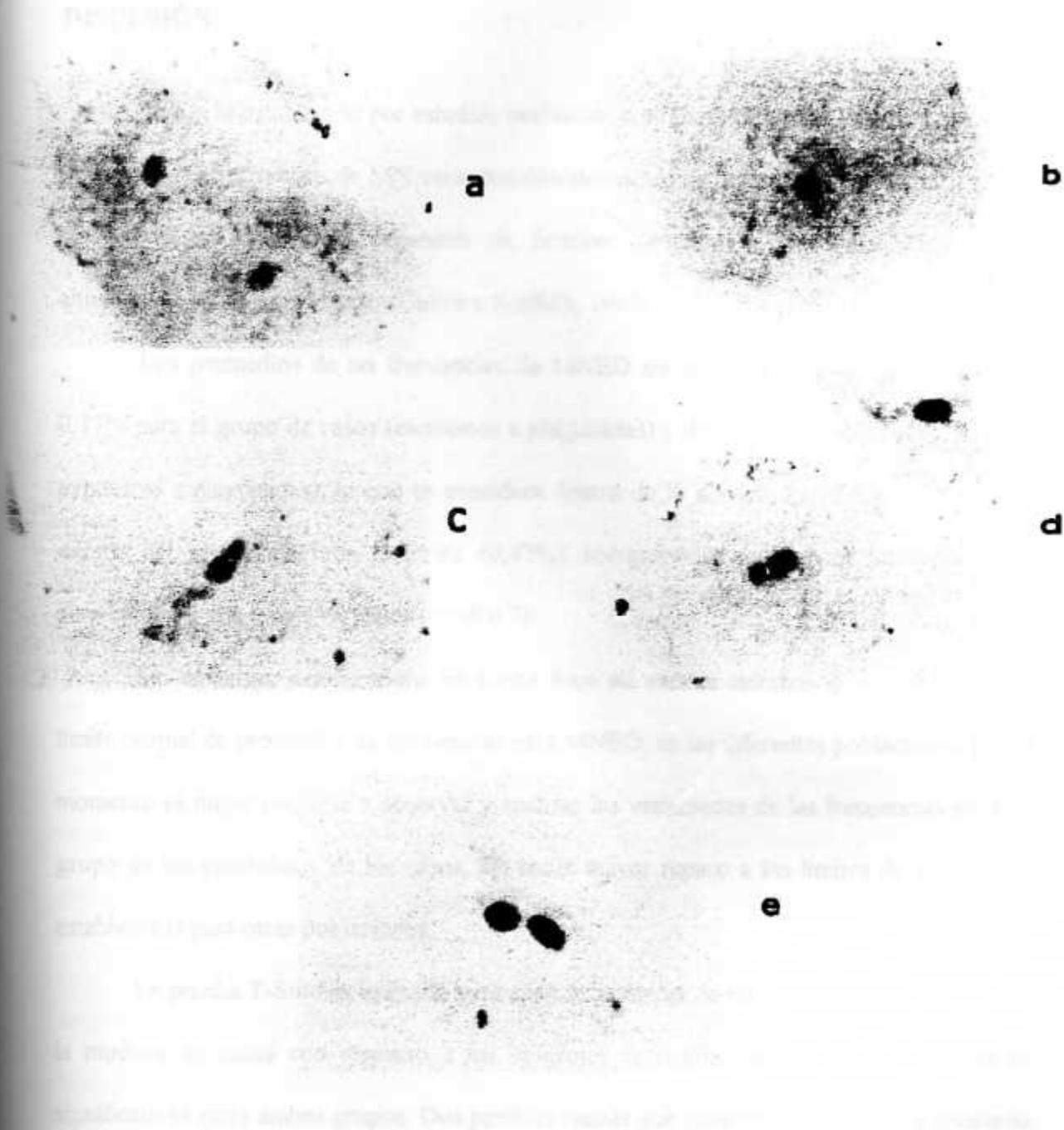


Figura 10. **FOTOGRAFÍAS DE ALGUNAS ANORMALIDADES NUCLEARES.**
 a) cromatina condensada, b) núcleo picnótico, c) "broken eggs" d) micronúcleo,
 e) célula binucleada.

DISCUSIÓN

Según lo establecido por estudios realizados por Titenko *et al.*, (1984), el promedio normal de las frecuencias de MN varía considerablemente de una población a otra (0,03% a 0,47%). Estas diferencias dependen de factores genéticos y ambientales como la alimentación, la edad y el sexo (Cullen y Redlidh, 1995).

Los promedios de las frecuencias de MNEO encontradas en este estudio, son de 0,17% para el grupo de casos (expuestos a plaguicidas) y de 0,22 % para los controles (no expuestos a plaguicidas), lo que se considera dentro de lo normal. Las frecuencias de MN dentro del grupo mayores al límite (0,47%) corresponden a factores individuales de sensibilidad a una o más variables (cuadro 7).

Sin embargo, debido a que en Costa Rica no existen estudios que establezcan un límite normal de promedios de frecuencias para MNEO, en las diferentes poblaciones, por el momento es mejor limitarse a observar y analizar las variaciones de las frecuencias entre el grupo de los controles y de los casos, sin hacer mayor reparo a los límites de normalidad establecidos para otras poblaciones.

La prueba T-Student aplicada para analizar la media de las frecuencias de MNEO de la muestra de casos con respecto a los controles determinó que no existen diferencias significativas entre ambos grupos. Dos posibles causas que pudieron influir en este resultado son:

- 1- Que el grupo control estaba expuesto a plaguicidas en diferentes formas.

2- Que el tejido epitelial y/o el biomarcador escogido para el análisis no es el idóneo.

Los ingredientes activos de los plaguicidas son generalmente compuestos orgánicos de poco peso molecular y poco solubles en agua que interaccionan de muchas maneras diferentes con el ambiente. La dinámica que siguen los plaguicidas cuando se liberan produce la contaminación del aire, el agua, el suelo y de los seres vivos a través de uno o más de los siguientes procesos: adsorción, lixiviación, vaporización y partición (García, 1997).

Un estudio citogenético realizado por Joksic *et al.*, (1997), en trabajadores de un campo de viñedo expuestos a plaguicidas, encontró que al comparar los dos grupos de controles de la investigación, uno tenía aumentada la frecuencia de micronúcleos en células binucleadas de linfocitos. Este grupo control eran personas que vivían en un pueblo cercano al viñedo, mientras que el otro grupo control eran voluntarios que vivían a doscientos kilómetros del área de cultivo. La conclusión a la que llegan los investigadores es que el aumento en la frecuencia de MN en ese grupo de controles, se debe a la contaminación, principalmente por aire, que producen los plaguicidas que se aplican en el área.

Guápiles es una región eminentemente agrícola, donde la población se ha expuesto durante décadas a plaguicidas y en donde una buena parte de los habitantes han trabajado en labores del campo. Esta condición pone en duda que el grupo de controles estuviera o esté a salvo de la exposición a plaguicidas, más aún, un estudio realizado en el Valle de la Estrella pone de manifiesto la posibilidad de contaminación por plaguicidas en aguas subterráneas y superficiales, principalmente por clorotalonil y clorpirifós (Abarca y Ruepert,

1992).

Por otro lado, el análisis de niveles de colinesterasa sérica y eritrocítica realizada en un estudio paralelo a este (Cuenca *et al.*, 1997) y con los mismos individuos de la muestra MNEO, encontró bajos niveles de las colinesterasas en algunas mujeres del grupo de casos y en algunos controles, fortaleciendo más la idea de que el grupo de controles está expuesto a plaguicidas.

La encuesta o cuestionario también brindó información con respecto a exposición a plaguicidas en sus casas, mostrando que todas las mujeres del grupo de controles lo utilizaban al menos una vez al mes (cuadro 7).

Lo recomendable sería encontrar otra población que tenga características similares al de las mujeres del grupo de casos, pero fuera de una región agrícola, sin embargo esta condición necesariamente sería urbana, lo que implica exposición a otro tipo de contaminantes, además de las diferencias culturales que determinan cambios en los hábitos de fumado, ingesta de alcohol, etc.

El tejido de los carrillos de la boca, es un epitelio escamoso estratificado no queratinizado, muy grueso que protege a los tejidos profundos de la fuerza mecánica de la masticación y forma una barrera poco permeable (Arey y Rea, 1968). Las células de las capas superficiales (que corresponden a la muestra analizada) se exponen fácilmente a cualquier sustancia tóxica, sin embargo la saliva presente en toda la mucosa de la boca protege de sustancias poco solubles en agua, como es el caso de muchos plaguicidas (Berne y Levi, 1992; Edwards *et al.*, 1991).

Las mujeres que trabajan en las plantas empacadoras se exponen principalmente a los plaguicidas tiabendazole o imazalil, que son los fungicidas que ellas aplican al banano antes de empacarlo, y al insecticida clorpirifós que esta impregnado en las bolsas plásticas que cubren los racimos de banano cuando estos llegan a la planta empacadora. Los niveles de solubilidad en agua de estos tres plaguicidas son: el imazalil es prácticamente insoluble en agua a 25 °C, el tiabendazole tiene una solubilidad de 10 g / L a 25 °C y pH 2, pero disminuye drásticamente a un pH mayor de 5, la solubilidad en agua del clorpirifós es de solo 2 mg/l y se degrada rápidamente en un medio alcalino (Worthing, 1979). En estos casos, la mucosa oral está protegida por la saliva.

Los micronúcleos se forman como resultado de fractura cromosómica o por daño a las proteínas que constituyen el huso mitótico (Calvert *et al.*, 1998), cualquier otro tipo de daño al material genético queda fuera del alcance de este biomarcador.

Aunque este estudio no pudo determinar daño a nivel genético (usando como biomarcador MNEO) como consecuencia de la exposición a los plaguicidas del cuadro 1, si fue posible constatarlo por medio de otros biomarcadores y con un tejido meta diferente utilizados en esta misma población (Cuenca *et al.*, 1997; Ramírez, 1998); además, existen otros estudios de tipo epidemiológico (Ashby *et al.*, 1993; Pisani, 1994; Wesseling *et al.*, 1996), que han señalado a muchas de estas sustancias como potencialmente carcinógenas, neurotóxicas, teratógenas, mutagénicas, fetotóxicas y de causar efectos negativos en el sistema reproductor de ciertos animales (Castillo, 1995; Hayes, 1991). Estos trabajos de

investigación muestran la necesidad de continuar una estrecha vigilancia sobre la salud de trabajadores expuestos a plaguicidas.

La frecuencia de anormalidades nucleares tiende a ser ligeramente y en algunos casos significativamente mayor en las mujeres que pertenecen al grupo de controles. Los resultados obtenidos no indican un factor(s) determinante entre los dos grupos (casos y controles), que pueda ocasionar esta diferencia. Al agrupar los datos en tres diferentes categorías: genotoxicidad, citotoxicidad, y apoptosis, se observa que las dos últimas son significativamente más elevadas en los individuos del grupo control.

El análisis de regresión lineal, señaló que el número de tazas de café, de té o ambas, que suelen tomar diariamente las mujeres de la muestra está relacionado con el aumento en las frecuencias de anormalidades nucleares que denotan citotoxicidad y apoptosis. Un 11,37% de las mujeres del grupo control toman 5 o más tazas de café diariamente (cuadro 7), mientras que ninguna mujer del grupo de casos toma esa cantidad durante el día. Esta diferencia entre ambos grupos (casos y controles) es lo que puede estar ocasionando que el grupo de controles presente un número de anormalidades nucleares significativamente mayor.

Existen numerosos estudios (la mayoría de ellos en mamíferos y en cultivos de células humanas), que han investigado el potencial nutricional y toxicológico del café, en donde se informa de un aumento en la frecuencia de anormalidades nucleares, así como en el intercambio de material genético en cromátidas hermanas de células linfocíticas, en los

consumidores de esta bebida (Coffee, 1997; Stadler *et al.*, 1994; Wijewickreme y Kitts, 1998).

La propiedades genotóxicas del café, así como las del té y del vino, son frecuentemente atribuidas a los componentes fenólicos que están presentes en niveles relativamente altos en las plantas; sin embargo, la presencia de estos componentes también puede otorgar protección antioxidante (Abraham, 1989).

La degradación térmica (oxidación) de los productos clorogénicos y del ácido cafeico en presencia de metales de transición tales como el Fe (II), Mn (II) y el Cu (II) y de oxígeno atmosférico, resulta en la desventajosa producción de peróxido de hidrógeno. La adición de sustancias exógenas al café, como extracto de hígado, catalasas y peroxidasas, pueden neutralizar este efecto (Stadler *et al.*, 1994).

La citotoxicidad y mutagenicidad del café, se relacionan específicamente con la acción oxidativa del radical hidroxil en la ruta metabólica del H₂O₂ con el ADN, ocasionando la oxidación de las bases nitrogenadas del ADN, tal como N-óxido adenina y el radical 8-oxo-2'-deoxiguanosina, tal modificación resulta en la pérdida de bases nitrogenadas (Wijewickreme y Kitts, 1998).

La habilidad de los componentes fenólicos de actuar como antioxidantes o como promotores de oxidación depende de la concentración de los otros componentes implicados. Los resultados obtenidos en la investigación realizada por Stadler *et al.*, (1994), reveló que los bajos niveles de café inhiben la peroxidación lipídica y actúa como antioxidante *in vitro*, mientras que los altos niveles de café pueden actuar de una u otra forma

dependiendo del modelo usado (tipo de café, temperatura del agua, concentración presente de otros componentes, etc.).

Se encontró una relación inversa entre el tiempo de trabajo en una finca bananera que tiene una mujer y la frecuencia de células picnóticas y de anomalías que denotan citotoxicidad. Esta relación refleja que en muchos casos las mujeres con menos tiempo de trabajar en esta actividad deben trabajar también en el campo donde se exponen a los demás plaguicidas (cuadro 1), mientras que las más antiguas realizan trabajos (especializados) principalmente o exclusivamente en la planta empacadora. Es importante que en estudios futuros se tome este detalle en cuenta y se escojan mujeres preferiblemente con un ámbito de trabajo entre uno y diez años.

Existen mecanismos de reparación y de eliminación de células anormales que todavía no conocemos bien, por ejemplo Calvert *et al.*, (1998), mencionan que existe evidencia que sugiere que la detección de la mutación *hprt*, depende del intervalo de tiempo transcurrido entre el momento de exposición y su detección, así como de la intensidad. El *hprt* es un gene en el cromosoma X que codifica una enzima involucrada en la regulación de la síntesis de las purinas, su alteración produce sustituciones o pérdidas de bases nitrogenadas. Estos investigadores encontraron que las exposiciones recientes eran más predictivas (encontraron mayor número de mutaciones en el gen *hprt*) que las exposiciones crónicas pasadas. La explicación que surge es que las células mutantes son selectivamente removidas cuando la exposición es crónica.

Un estudio de genotoxicidad en trabajadores expuestos a bromuro de metilo,

realizado por Calvert *et al.*, (1998), señaló que puede existir un comportamiento a nivel celular, que implica falta de respuesta a una exposición o respuesta disminuida. Este tipo de comportamiento se ha observado en células epiteliales de la bucofaringe expuestas a un agente tóxico y usando como biomarcador a los micronúcleos, donde la ausencia de respuesta puede deberse a que el agente genotóxico en cuestión, produce una disminución en la proliferación celular (se necesita división celular para producir micronúcleos) o un aumento en la citotoxicidad.

Mecanismos similares a estos podrían estar implicados para explicar la relación Inversa entre el tiempo de trabajo en una finca bananera que tiene una mujer y la frecuencia de células picnóticas y de anomalías que denotan citotoxicidad.

La genotoxicidad es un proceso que puede llevar a apoptosis (muerte celular programada) y un aumento en la frecuencia de células con núcleos en cariólisis y en cariorresis puede significar genotoxicidad; por lo tanto, las mujeres que presentaron diferentes tipos de dermatitis también tienen aumentadas las frecuencias de células anormales que conllevan a citotoxicidad, genotoxicidad o ambas. El cuadro 7, muestra que las mujeres del grupo de casos presentan más problemas de dermatitis que el grupo de controles, y la literatura acumula información de que las personas expuestas a plaguicidas suelen sufrir de problemas en la piel (Cremlyn, 1978; García, 1997; Hayes, 1991; Vaquerano, 1995).

CONCLUSIONES

- 1- No se encontraron diferencias importantes en las frecuencias del MNEO entre el grupo control y el de casos.
- 2- Se encontró que el promedio de frecuencias del MNEO para los casos era de 0,17% y en los controles de 0,22%, lo que se considera normal según lo establecido para otras poblaciones.
- 3- No se pudo detectar daño genético que puede ser monitoreado por el biomarcador de efecto MN, ya sea porque no hay daño a ese nivel o porque el epitelio oral no es el tejido meta apropiado para medir exposición a los plaguicidas aquí involucrados.
- 4- El grupo control (no expuestos) resultó estar expuesto a plaguicidas en mayor o menor medida y por diferentes medios.
- 5- El grupo control resultó tener una mayor frecuencia del ACITOT, debido principalmente a la variable NCAFÉ que provocó un aumento en las células que denotan citotoxicidad.
- 6- El grupo que presentó más problemas con dermatitis fue el de casos, estableciéndose además una relación directa con un aumento en el número de anomalías nucleares que pueden significar citotoxicidad, genotoxicidad o ambas.
- 7- La variable radiografía dental mostró ser significativamente más frecuente en el grupo de controles; sin embargo, al aplicar el análisis de regresión múltiple no mostró relación con ninguna anomalía nuclear.

RECOMENDACIONES

- 1- Se recomienda para estudios posteriores escoger dos grupos controles, uno fuera de cualquier zona agrícola y otro en la misma área, para controlar mejor la posibilidad de exposición a plaguicidas por contaminación.
- 2- La efectividad de los micronúcleos como biomarcador en el epitelio oral es dudosa, por las razones dadas en la discusión, por tanto se recomienda buscar otro indicador que sea más claro y preciso, o bien escoger un tejido meta diferente, teniendo en cuenta las características físicas y químicas de los plaguicidas en cuestión.
- 3- Debido a que el grupo de casos presenta diferencias importantes en el número de células con anormalidades nucleares (ACITOT), dependiendo del tiempo de trabajo en la finca bananera, es recomendable limitar aún más el ámbito de tiempo de trabajo para esta población en particular.
- 4- En estudios posteriores en caso de utilizar los MN como biomarcador de efecto, es mejor trabajar desde el inicio con una sola categoría de MN, manteniendo o haciendo más flexibles los criterios utilizados aquí.
- 5- El cuestionario debe ser más corto para agilizar el trabajo, por lo que recomiendo revisarlo y eliminar preguntas poco informativas para un estudio similar.
- 6- Se recomienda la investigación *in vitro* en células humanas que ayude a determinar cuáles plaguicidas pueden generar daño a nivel del ADN.

GLOSARIO:

- ADENOSINTRIFOSFATO: nucleótido encontrado en todas las células e importante como fuente de energía.
- ADN: molécula de ácido desoxirribonucleico, portadora de la información genética.
- ADSORCIÓN: penetración superficial de un gas o un líquido en un sólido.
- BIOCIDA: cualquier sustancia química que tiene como fin matar.
- BIOMONITOREO: vigilancia biológica.
- CARBAMOILACIÓN: la enzima acetil colinesterasa se envenena por carbamoilación, cuando el grupo hidroxilo primario de un residuo de serina de la enzima se une a la molécula del carbamato.
- CARCINÓGENO: una sustancia química o agente físico que tiende a causar cáncer o tumores.
- CITOTÓXICO: cualquier sustancia o proceso que cause envenenamiento de la célula.
- CLASTOGENIA: sustancia o proceso que causa ruptura en los cromosomas.
- COMBELLO: pila donde llega el banano cortado y en donde recibe diferentes tratamientos.
- DEAMINACIÓN: proceso mediado por enzimas que despojan a las biomoléculas de los grupos amino.
- ESPERMATOGÉNICO: sustancia o proceso que causa daño a los espermatozoides.
- EPITELIO: es la capa externa de un organismo o de un órgano. Las capa(s) de células

- entre el organismo y sus tejidos u órganos y el ambiente. Ejemplos: células de la piel, el revestimiento interior de los pulmones y del tracto digestivo, etc.
- FETOTÓXICO: sustancia que es tóxica para el organismo en su desarrollo embrionario.
 - FUNGICIDA: sustancia química usada para eliminar hongos. Es un tipo de plaguicida.
 - GENOTOXICIDAD: toxina que puede causar daño a la molécula de ADN.
 - HEPATOMEGALIA: es una condición donde el hígado se alarga.
 - HERBICIDA: sustancia química usada para eliminar hierbas. Es un tipo de plaguicida.
 - INSECTICIDA: sustancia química usada para eliminar insectos. Es un tipo de plaguicida.
 - INHIBIDORES PROTECTORES: protegen contra la plaga únicamente en el sitio donde se encuentren residuos del plaguicida. Se aplican antes de que se establezca el organismo.
 - INHIBIDORES SISTEMÁTICOS: previenen el desarrollo de la plaga tanto en los lugares de la planta cubiertos por el plaguicida, como en aquellos donde no se hizo, gracias a su capacidad de traslocación dentro de la planta.
 - LIXIVACIÓN: es el paso del agua a través de los poros del suelo por acción de la fuerza de gravedad, la cual arrastra a su paso además del suelo, toda clase de producto y sustancias solubles en agua.
 - METABOLITO: es una sustancia química intermedia en reacciones metabólicas.
 - MIELINA: vaina que cubre todo el axón de una célula nerviosa, excepto en su terminación y en las constricciones periódicas llamadas *nódulos de Ranvier*.

- MUTAGÉNICO: se refiere a alguna cosa que causa mutaciones; sustancias mutagénicas pueden ser también carcinogénicas.
- NEMATICIDA: sustancia química usada para eliminar nemátodos. Es un tipo de plaguicida.
- NEUROTÓXICO: sustancia que causa daño al sistema nervioso central.
- QUERATINA: es una proteína insoluble que sirve como la principal molécula estructural en pelo y uñas y que está también presente en la piel.
- ONCOGEN: gen que al sufrir una mutación se convierte en promotor del cáncer.
- SINAPSIS: región de contacto entre las prolongaciones de dos neuronas adyacentes, en cuyo lugar es transmitido el impulso nervioso de una neurona a otra.
- TEJIDO META: tejido afectado por una sustancia o por un organismo determinado.
- TERATÓGENO: es una sustancia química capaz de causar defectos de nacimiento por alteración del desarrollo del embrión o feto sin alterar necesariamente la estructura genética del organismo.
- XENOBIÓTICO: sustancia exógena a un organismo.

FUENTE: Bio Tech:Dictionary Search Results. <http://biotech.chem.indiana.edu/search/dict-search.phtml> (1997).

BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, L.; Ruepert, C. (1992). Plaguicidas encontrados en el Valle de la Estrella: Estudio preliminar. *Tecnología en Marcha*, 12(3): 31-38.
- Abraham, S. K. (1989). Inhibition of *in vivo* genotoxicity by coffee. *Food Chemistry Toxicology*, 27: 787-792.
- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J. D. (1989). *Molecular biology of the cell*. 2nd ed. Garland Publishing, INC. New York, USA. 1218 p.
- Ashby, J.; Anwar, W.; Au, W. W.; Massoud, A.; Gentile, J. M. (1993). Genetic toxicology in developing countries: comments and recommendations. *Environmental Health Perspectives Supplements*, 101(3): 335-338.
- Arey, L.; Rea, R. L. (1968). *Histología humana*. Traducido del inglés por el Dr. José Perea Sasiain. 2nd. ed. Editorial Fournier. México, D.F. 379 p.
- Berne, R.; Levi, M. (1992). *Principles of physiology*. Mosby/ Doyma. Barcelona, España p. 374-379.
- Bio Tech :Dictionary Search Results. (1997) <http://biotech.chem.indiana.edu/search/dict-search.phtml>
- Blanco, J.; Ramírez, O. (1992). La contaminación por plaguicidas percibida por los inspectores de saneamiento ambiental. *Ciencias Ambientales de Costa Rica*, 9: 59-68.
- Blas, J.T. (1995). Evaluación de la frecuencia de micronúcleos en células uroepiteliales de

- individuos con exposición ambiental a arsénico. Tesis. Universidad Autónoma de México, Facultad de Ciencias. México, DF. 64 p.
- Calvert, G.; Talaska, G.; Müller, C.; Ammenheuser, M.; Au, W.; Fajen, J.; Fleming, L.; Briggle, T.; Ward, E. (1998). Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. *Mutation Research*, 417: 115-128.
- Castillo, L., Chaverri, F., Ruepert, C.; Wesseling, C. (1995). Manual de plaguicidas. Guía para América Central. (eds.). Programa de Plaguicidas: Desarrollo, Salud y Ambiente. EUNA (Editorial de la Universidad Nacional). San José, Costa Rica, 680p.
- COFFEE (group 2B) (1997). Summary of data reported and evaluation. /htdocs /Monographs /Vol51/01-Coffee.htm.
- Corbett, J. R. (1974). The biochemical mode of action of pesticides. 2nd. ed. Academic Press Inc. London, 330 p.
- Cremlyn, R. (1978). Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Traducción del inglés por Esther Baradon De Frixione y Eugenio Frixione. Editorial Limusa, S.A. México, DF. 355 p.
- Cuenca, P.; Ramírez, V.; Castro, R. (1997). Efecto genotóxico de los plaguicidas en una población costarricense expuesta ocupacionalmente. Informe final presentado ante el Proyecto PLAGSALUD/MASICA. Sección de Genética Humana, INISA y Escuela de Biología. Universidad de Costa Rica, 47 p.
- Cullen, M. R.; Redlich, C. A. (1995). Significance of individual sensitivity to chemicals:

- elucidation of host susceptibility by use of biomarker in environmental health research. *Clinical Chemistry*, 41(12): 1809-1813.
- Daniel, W. W. (1987). *Bioestadística*. Traducido del inglés por Manuel Guzmán Ortiz. 3ra. ed. Uthea Noriega Editores. México D.F. 667 p.
- Díaz, S., Fonseca, G.; Fernández, I. (1990). Analysis of lymphocyte and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers. *Hereditas*, 113: 77-80.
- Doe, J. E.; Paddle, G. M. (1994). The evaluation of carcinogenic risk to humans: occupational exposures in the spraying and application of insecticides. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 19: 297-308.
- Edwards, R.; Ferry, D. H; Temple, W. A. (1991). Fungicides and related compounds. In: Hayes, W. J.; Laws, E. R. (eds). *Handbook of pesticide toxicology*. Volume 3. Classes of pesticides. Academic Press, INC. San Diego, California, p. 1409-1470.
- Ellis, F. (1983). *Las transnacionales del banano en Centroamérica*. Traducido del inglés por Juan Mario Castellanos. Editorial Universitaria Centroamericana, San José, Costa Rica., p. 32-59.
- García, J. E. (1997). *Introducción a los plaguicidas*. EUNED (Editorial de la Universidad Estatal a Distancia), San José, Costa Rica, 450 p.
- Grandjean, P. (1995). Biomarkers in epidemiology. *Clinical Chemistry*, 41(12): 1800-1803.
- Grandjean, P.; Brown, S. S.; Reavey, P.; Young, D. (1995). Biomarkers in environmental toxicology: state of the art. *Clinical Chemistry*, 41(12): 1902-1904.

- Greim, H.; Csanady, G.; Filser, J. G.; Kreuzer, P.; Schwarz, L.; Wolff, T.; Werner, S. (1995). Biomarker as tools in human health risk assessment. *Clinical Chemistry*, 41(12): 1804-1808.
- Hayes, W.J. (1991). Pesticide problems and their solutions. In: Hayes, W. J.; Laws, E. R. (eds). *Handbook of pesticide toxicology. Volume 1, General principles*. Academic Press, INC. San Diego, California. p. 27-29.
- Hernández, O.; Bolaños, R. (1993). *SPSS/PC+ Básico*. Editorial de la Universidad de Costa Rica, San José. 249 p.
- Jiménez, J. (1995). *Plaguicidas y salud en las bananeras de Costa Rica*. ASEPROLA (Asociación de Servicios de Promoción Laboral), San José, Costa Rica. 144 p.
- Joksic, G.; Vidakovic, A.; Spasojevic-Tisma, V. (1996). Cytogenetic monitoring of pesticide sprayers. *Environmental Research*, 75: 113-118.
- Livingston, G.; Reed, R. N.; Olson, B. L.; Lockey, J. E. (1990). Induction of nuclear aberrations by smokeless tobacco in epithelial cells of human oral mucosa. *Environmental and Molecular Mutagenic*, 15: 136-144.
- Lohman, P. H. M., Jansen, J. D. Baan, R. A. (1984). Comparison of various methodologies with respect to specificity and sensitivity in biomonitoring occupational exposure to mutagens and carcinogens. In: Berlin, A., Draper, M., Hemminki, K., Vainio, H. (eds). *Monitoring human exposure to carcinogenic and mutagenic agents*. IARC. Scientific Publications. No. 59. Lyon, France p. 259-277.

- Lotti, M. (1995). Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation. *Clinical Chemistry*, 41(12): 1814-1818.
- McConnell, R.; Hruska, A. J. (1993). An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries. *American Journal of Public Health* 83(11): 1559-1562.
- México, Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Investigaciones Biomédicas (1994). Protocolo de laboratorio para la determinación de la frecuencia de micronúcleos en epitelios de mucosa oral. Depto. de Genética y toxicología ambiental. México, D.F.
- Ministerio de Salud (1994). Reporte oficial de plaguicidas utilizados comúnmente en la producción comercial del banano. Departamento de Sustancias Tóxicas y Medicina del Trabajo. San José Costa Rica.
- Muñoz, N.; Hayashi, M.; Bang, L. J.; Wahrendorf, J.; Crespi, M.; Bosch, F. X. (1987). Effect of riboflavin, retinol and zinc on micronuclei of buccal mucosa and of esophagus: a randomized double-blind intervention study in China. *JNCI*, 79(4): 687-691.
- Pardo, J. (1996). El cultivo del banano. 4ta. edición. EUNED. San José, Costa Rica., 73 p.
- Pimentel, D. (1995). History of pesticides. Grolier Electronic Publishing, INC. California, USA.
- Pisani, P. (1994). Burden of cancer in developing countries. In: Pearce, N.; Matos, E.,

- Vainio, H.; Boffetta, P.; Kogevinas, M. (eds.). Occupational cancer in developing countries. IARC. Scientific Publications. No. 129. Lyon, France p. 31-39.
- Quirós, D.; Salas, A.; Leveridge, Y. (1994). Intoxicaciones con plaguicidas en Costa Rica. Centro Nacional de Intoxicaciones Hospital Nacional de Niños. EDNASSS. (Editorial Nacional de Salud y Seguridad Social). San José, Costa Rica. p. 7-33.
- Ramírez, V. (1998). Efecto genotóxico de los plaguicidas en una población costarricense de trabajadoras bananeras. Tesis de posgrado. Escuela de Biología. Universidad de Costa Rica. 107 p.
- Ramírez, V.; Cuenca, P. (1996). Importancia del monitoreo genético en trabajadores expuestos a agentes mutágenos y cancerígenos. Revista Costarricense de Salud Pública, 5(9): 13-19.
- Ramírez, A. L.; Ramírez, C. (1980). Esterilidad masculina causada por la exposición laboral al nematicida 1,2-Dibromo-3 Cloropropano. Acta Médica Costarricense, 23(3): 219-222.
- Ribeiro, L. R.; Salvadori, D. M. F.; Rios, A. C. C.; Costa, S. L.; Tates, A. D.; Tornqvist, M.; Atarajan, A. T. (1994). Biological monitoring of worker occupationally exposed to ethylene oxide. Mutation Research, 313: 81-87.
- Sarto, F.; Finotto, S.; Giacomelli, L.; Mazzotti, D.; Tomanin, R.; Levis, A. G. (1987). The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa, Mutagenesis, 2: 11-17.

- Sarto, F., Tomanin, R.; Giacomelli, L.; Canova, A.; Raimundi, F.; Ghiotto, C.; Florentino, M. (1990). Evaluation of chromosomal aberrations in lymphocytes and micronuclei in lymphocytes, oral mucosa and hair root cells of patients under antitlastic therapy. *Mutation Research*, 228: 157-169.
- Sarto, F., Tomanin, R., Giacomelli, L., Iannini, G., Cupiraggi, A.R. (1990). The micronucleus assay in human exfoliated cells of the nose and mouth: application to occupational exposures to chromic acid and ethylene oxide *Mutation Research*, 244: 345-351.
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Research*, 31:9-15.
- Stadler, R.; Turesky, R.; Müller, O.; Markovic, J.; Leong-Morgenthaler, P. (1994). The inhibitory effects of coffe on radical-mediated oxidation and mutagenicity. *Mutation Research*, 308: 177-190.
- Stevens, J. T.; Sumner, D. (1991). Herbicides. In: Hayes, W. J.; Laws, E. R. (eds). *Handbook of pesticide toxicology. Volume 3. Classes of pesticides.* Academic Press, INC. San Diego, California. p. 1317-1348.
- Stich, H. F.; Curtis, R.; Parida, B. B. (1982). Application of the micronucleos test to exfoliated cells of high cancer risk groups: tobacco chewers. *International Journal Cancer*, 30: 553-550,
- Ten Cate, A. R. (1986). Mucosa bucal. En: *Histología oral: desarrollo, estructura y función.* Traducido del inglés por Dr. Enrique Ochoa. 2da. ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. p. 401-447.

- Titenko-Holland, N.; Moore, L. E.; Smith, M. T. (1994). Measurement and characterization of micronuclei in exfoliated human cells by fluorescence *in situ* hybridization with a centromeric probe. *Mutation Research*, 312: 39-50.
- Tolbert, P. E.; Shy, C. M.; Allen, J. W. (1991). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears a field test in snuff users. *American Journal of Epidemiology*, 134 (8): 840-850.
- Tolbert, P. E.; Shy, C. M.; Allen, J. W. (1992). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutation Research*, 271: 69-77.
- Vaquerano, B. (1995). Caracterización de la exposición dermal ocupacional a plaguicidas en una finca bananera en Costa Rica. Tesis de maestría en Salud Pública. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, 75 p.
- Vega, S.; Maroto, I. (1984). Plaguicidas de uso restringido en Estados Unidos se importan libremente en Costa Rica. *Revista de Ciencias Ambientales de Costa Rica*, 5-6: 125-134.
- WHO (1985) EHC 46: guidelines for the study of genetic effects in human populations, Geneva, World Health Organization, 126 p.
- Wesseling, C. (1997). Health effects from pesticide use in Costa Rica an epidemiology approach. Tesis. Division of Epidemiology. Institute of Environmental Medicine. Karolinska Institute. Stockholm, Sweden. 308 p.
- Wesseling, C. (1992). Los plaguicidas: declaración ante el Senado de los Estados Unidos de América. *Revista de Ciencias Ambientales de Costa Rica*, 9: 82-90.

- Wesseling, C.; Castillo, L.; Elinder, C. (1993). Pesticide poisons in Costa Rica. *Scand Journal Work Environmental Health*, 19: 227-235.
- Wesseling, C.; Ahlbom, A.; Antich, D.; Rodriguez, A.; Castro, R. (1996). Cancer in banana plantation workers in Costa Rica. *International Journal of Epidemiology Association*, 25(6): 1125-31.
- Wijewickreme, A.; Kitts, D. (1998). Modulation of metal-induced cytotoxicity by maillard reaction products isolated from coffee brew. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 55: 151-168.
- Worthing, C. (1997). *The pesticides manual*. Crops research Institute. Glasshouse british Crop. Protection Council. London, England. 655 p.
- Wright, C. (1997). Wright's pest law list of labeling unit documents (<http://www.pestlaw.com>.)
- Zar, J. (1996). *Biostatistical analysis*. 3th ed. Prentice Hall. New Jersey, U.S.A. p. 277-330.

Nombre de la Empresa

Dirección

Ciudad

País

Fecha de Inicio

Actividad Principal

Actividad Secundaria

Capital Social

Forma de Organización

Estado de la Empresa

Forma de Pago

Forma de Cobro

Forma de Pago

Forma de Cobro

Forma de Pago

ANEXO

Este formulario es un instrumento de registro de las microempresas y pequeñas empresas que se encuentran en el estado de Jalisco, con el fin de contar con información estadística y de planeación económica.

Anexo 1. CONTEO DE MICRONÚCLEOS EN LA MUCOSA BUCAL

FECHA de lectura: _____

ANALIZADOR: _____

CASO: _____ LÁMINA: _____ FECHA de tinción de la lámina: _____

MICROSCOPIO: _____

Tipo de Célula	Número	Total
Normal		
Binucleada		
"Broken eggs"		
Picnóticas		
Cromatina Condens		
Cariorresis		
Cariolisis		
Alta certeza Micronucleadas Mediana certeza		
 TOTAL DE CÉLULAS		

Conteo total de Células : 1000 células. Si después de contar 1000 células, se observan menos de cinco micronúcleos se cuentan 1000 células adicionales, hasta un conteo de 3000 células .

Anexo 2.

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

INISA/ESCUELA DE BIOLOGÍA

Fórmula de consentimiento informado

Fecha:

Día/mes/año

Yo: _____

Primer apellido Segundo apellido Nombre

Cédula: _____

Estoy de acuerdo en permitir que se tome un frotis de mucosa oral exclusivamente para efectos de investigación, con el fin de estudiar el efecto que la exposición ocupacional a plaguicidas, pudiera tener sobre los cromosomas.

Firma: _____

Anexo 3. CUESTIONARIO

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

INISA/ESCUELA DE BIOLOGÍA

Cuestionario de salud personal.

La información que usted nos brinde no será asociada con su nombre en ningún documento público y será manejada con estricta confidencialidad por los investigadores a cargo del estudio. Las respuestas son muy importantes para la interpretación de los resultados del examen de sangre que se realizará posteriormente. Por esta razón le pedimos su amplia colaboración, de manera que la información suministrada sea completa y lo más exacta posible. Muchas gracias por su cooperación.

1. Fecha de la entrevista: _____

2. Nombre:

Primer apellido Segundo apellido Nombre

3. N° de cédula: _____ N° de asegurado _____

¿Presentó la orden patronal? Si No

4. Dirección (distrito, barrio, N° de casa y otras señas)

Número de teléfono: _____

5. Lugar de nacimiento: Provincia _____

Cantón _____ Distrito _____

6. Edad en años cumplidos: _____

Fecha de nacimiento: _____

Día/Mes/Año

7. Sexo (Encierre en un círculo):

Masculino Femenino

8. Grupo étnico al que pertenece (Encierre en un círculo)

Caucasoide Negroide Mongoloide Amerindio

Otro (Por favor especifique): _____

9. Estado civil (Encierre en un círculo):

Casado Soltero Divorciado Separado Viudo (a) Unión libre

10. Código del individuo _____ (Uso del investigador)

Código del individuo: _____

Historia de su presente y pasado ocupacional

11. ¿ Trabaja actualmente ?

Sí No

Si su respuesta es negativa, ¿ Fecha en que dejó de trabajar ?

(Pase a la pregunta N.º 11 d)

a. Ocupación actual: _____

b. Lugar de trabajo: _____

c. Tiempo que tiene de trabajar en dicha ocupación: _____

d. ¿ Ha trabajado alguna vez en una compañía bananera ?

Sí

No (Pase a la pregunta N.º 16)

e. ¿ Trabaja actualmente en una compañía bananera ?

Sí No

Si su respuesta es negativa, ¿ Fecha en que dejó de trabajar ?

(Pase a la pregunta N.º 14)

12. ¿Cuál es el nombre de la compañía para la que trabaja **actualmente** ?
(Dirección completa, número de teléfono)

¿ En qué año ingresó a trabajar a esta compañía ?

¿ Qué edad tenía cuando entró a trabajar a esta compañía ?

¿ Tiene récord en dicha compañía ?

Sí No

13. ¿ Por cuánto tiempo ha trabajado para esa compañía?

Código del individuo: _____

¿ Qué tipo de trabajo **hace** ?

Marque con una X	No llenar
<input type="checkbox"/> Selectar	(<input type="checkbox"/>)
<input type="checkbox"/> Desflorar	(<input type="checkbox"/>)
<input type="checkbox"/> Panear Pila N.º: _____	(<input type="checkbox"/>)
<input type="checkbox"/> Deshojar	(<input type="checkbox"/>)
<input type="checkbox"/> Empacar	(<input type="checkbox"/>)
<input type="checkbox"/> Sellar	(<input type="checkbox"/>)
<input type="checkbox"/> Pesar	(<input type="checkbox"/>)

- Rodajear ()
- Quebrar puntales ()
- Abrir las bolsas que se le
ponen a los racimos en el campo ()
- Quitar las bolsas de los racimos ()
- Curar semillas con fertilizantes ()
- Fumigar ()
- Llenar bidones con fertilizantes ()
- Preparar las mezclas de fertilizantes ()
- Regar abono ()
- Regar cal ()
- Quitar la hierba ()
- Aseo: De la planta ()
- De las oficinas ()

especifique: _____

- Limpiar cables ()
- Lavar: sombrillas ()
- uniformes ()
- mascarillas ()
- guantes ()
- pilas y convellos ()

otros:

_____ ()

¿ Rotan de tarea ? Sí No

Si la respuesta es positiva, por favor indique el tiempo promedio que duran
en cada tarea

14. ¿ Para cuál compañía **trabajó anteriormente** (incluya la dirección y el número de teléfono) y por **cuánto tiempo** ?

15. ¿ Que tipo de trabajo **hacía** ?

Marque con una X No llenar

Código del individuo: _____

- | | |
|---|-----|
| <input type="checkbox"/> Selectar | () |
| <input type="checkbox"/> Desflorar | () |
| <input type="checkbox"/> Panear Pila N.º: ____ | () |
| <input type="checkbox"/> Deshojar | () |
| <input type="checkbox"/> Empacar | () |
| <input type="checkbox"/> Sellar | () |
| <input type="checkbox"/> Pesar | () |
| <input type="checkbox"/> Rodajear | () |
| <input type="checkbox"/> Quebrar puntales | () |
| <input type="checkbox"/> Abrir las bolsas que se le ponen a los racimos en el campo | () |
| <input type="checkbox"/> Quitar las bolsas de los racimos | () |
| <input type="checkbox"/> Curar semillas con fertilizantes | () |
| <input type="checkbox"/> Fumigar | () |
| <input type="checkbox"/> Llenar bidones con fertilizantes | () |
| <input type="checkbox"/> Preparar las mezclas de fertilizantes | () |
| <input type="checkbox"/> Regar abono | () |
| <input type="checkbox"/> Regar cal | () |
| <input type="checkbox"/> Quitar la hierba | () |
| <input type="checkbox"/> Aseo: ____ De la planta | () |
| ____ De las oficinas | () |

especifique: _____

- ___ Limpiar cables (___)
- ___ Lavar: ___ sombrillas (___)
- ___ uniformes (___)
- ___ mascarillas (___)
- ___ guantes (___)
- ___ pilas y convellos (___)
- ___ otros (___)

Otros(especifique): _____

_____ (___)

¿ Rotan de tarea ? ___ Sí ___ No

Si la respuesta es positiva, por favor indique el tiempo promedio que duran en cada tarea

Código del individuo: _____

Historia de exposición (trabajadores y no trabajadores relacionados)

16. ¿ Se ha visto expuesto a alguna de las siguientes cosas en su trabajo ?

¿Cuándo fue su primera exposición (mes/año)?	¿Cuándo fue su última exposición (mes/año)?	¿Cuánto tiempo en término de días, meses o años de exposición total?
--	---	--

Asbestos (Ricalit, Fibrolit)

___ Sí _____
___ No _____

Productos de carbón

___ Sí _____
___ No _____

Polvo (como madera, cuero, partículas, finas de metal)

Si _____
 No _____

Plaguicidas

Si _____
 No _____

Productos de

Petróleo (diésel, gasolina, búnker, canfin)

Si _____
 No _____

Solventes (alcoholes, cloroformo, éter, xilol, benceno, xiner, aguarrás, etilen-glicol)

Si _____
 No _____

Otros químicos (especifique en la pregunta N.º 17)

Si _____
 No _____

17. Liste los nombres de algunas sustancias (plaguicidas), que usted conoce y a las cuales ha estado expuesto por inhalación o contacto directo en su trabajo en el último año o dentro de los últimos diez años.

En los últimos doce meses:

¿Cuál es la frecuencia de exposición promedio, por mes?

Código del individuo: _____

Dentro de los últimos diez años:

¿Cuál fue la frecuencia de exposición promedio, por mes?

18. Por favor haga un listado de historia de exposición química o física, durante el año pasado o durante los últimos diez años; **mientras practica algún pasatiempo u otras actividades en su hogar y que no tengan relación con su trabajo.** Refiérase a la lista de la pregunta N.º16; pero no se limite a estas sustancias.

En los últimos doce meses:

¿Cuál es la frecuencia de exposición promedio, por mes?

Dentro de los últimos 10 años:

¿Cuál fue la frecuencia de exposición promedio, por mes?

Historial de fumado

19. ¿ Usted ha fumado ?

Si

No (Pase a la pregunta N.º20)

a. ¿ Durante cuánto tiempo fumó ? _____ años

Código del individuo: _____

b. ¿ Continúa fumando?

Sí (Pase al punto 19 d

No

c. ¿ cuándo dejó de fumar ? (Pase al punto 19f)

d. ¿ Cuánto tiempo tiene de fumar ? _____

¿ Acostumbra fumar cigarrillos ?

Si

No

Si lo hace: ¿ Cuántos paquetes fuma al día ?

Menos de ½ paquete

½-1 paquete

Más de 1 paquete (indique cuantos paquetes fuma al día) _____

¿ Fuma cigarrillos con filtro ?

Si

No

¿Cuál es la marca que usualmente fuma ?

e. ¿ Acostumbra fumar cigarros/puros ?

Si

No

Si lo hace: ¿ Cuántos cigarros fuma al día ?

- 1 cigarro
- 2-3 cigarros
- 4 ó más cigarros

f. ¿ Acostumbra fumar pipa ?

- Sí No

Si lo hace: ¿ Cuántas pipas fuma al día ?

- 1 pipa
- 2-3 pipas
- 4 ó más pipas

g. ¿ Qué fumaba en el pasado ?

- cigarrillos
- cigarros/puros
- pipa
- otros

h. ¿ Acostumbra mascar tabaco ?

- Sí No

i. ¿ Acostumbra usar tabaco en polvo/rapé ?

- Sí No

Código del individuo: _____

j. ¿ Acostumbra fumar marihuana ?

- Sí No

Historial médico

20. Ha estado tomando medicamentos prescritos por un médico durante el año pasado (por ejemplo, pastillas para la presión sanguínea, antibióticos, insulina, tranquilizantes, relajantes musculares)

- Sí No

Tipo de medicamento	Dosis (mg)	Frecuencia/día	Periodo de tiempo
---------------------	------------	----------------	-------------------

_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

Nombre del médico o clínica donde le recetaron el medicamento (indicar el servicio que utilizaron, medicina general o algún servicio especializado)

21. ¿ Ha tomado algún tipo de medicamento sin prescripción médica durante el año pasado (por ejemplo, aspirinas antiácidos, antihistaminas, sedantes, u otras drogas -cocaína, heroína, anfetaminas, crack-)

Sí No

Tipo de medicamento	Dosis	Frecuencia/día	Periodo de tiempo
---------------------	-------	----------------	-------------------

22. Ingiere o ha ingerido vitaminas en los últimos 6 meses ?

Sí No

Si es así, por favor indicar:

Clase de vitaminas	Dosis	Frecuencia semanal
--------------------	-------	--------------------

23.a. ¿ Utiliza gestageno oral (pastillas anticonceptivas) ?

Sí No

Código del individuo: _____

b. Marca del anticonceptivo: _____

c. ¿ Quién se las suministra ?
___ CCSS ___ Ministerio de Salud
___ Otro (especifique) _____

d. ¿ Qué edad tenía cuando inicio su consumo ? _____

e. ¿ Cuánto tiempo tiene de tomarlos ? _____

24.a. ¿ Ha tenido o tiene alguna de las siguientes enfermedades ?

Cáncer	___ Sí	___ No
Hepatitis	___ Sí	___ No
Mononucleosis	___ Sí	___ No
Herpes	___ Sí	___ No
Sida	___ Sí	___ No
Meningitis	___ Sí	___ No
Infecciones bacterianas o virales	___ Sí	___ No
Enfermedades cardiovasculares	___ Sí	___ No
Diabetes	___ Sí	___ No
Alergias	___ Sí	___ No
Dermatitis	___ Sí	___ No
Otras enfermedades	___ Sí	___ No

b. Si es así, especifique qué tipo de enfermedad, cuando estuvo usted enfermo , e indique el tratamiento.

Enfermedad	Período de la enfermedad (mes/meses del año y año)	Tratamiento
------------	---	-------------

Nombre del médico o clinica donde le diagnosticaron la enfermedad

c. Liste otras enfermedades y sus tratamientos, dentro de los últimos doce meses (esto puede incluir resfrios, gripe).

Enfermedad	Periodo de la enfermedad (mes/meses del año y año)	Tratamiento
------------	---	-------------

Código del individuo: _____

d. ¿ Ha recibido alguna vacuna en los **últimos doce meses** ?

Sí No

Tipo de vacuna	Fecha de administración
----------------	-------------------------

e. Le han hecho alguna vez, una radiografía dental.

Sí No

Si la respuesta es positiva:

El último mes

En los últimos seis meses

En los últimos 6-12 meses

Hace más de 1 año

f. Liste algún diagnóstico con rayos X o terapia de rayos X, además del dental, que usted haya recibido en los últimos 10 años.

Razón para rayos X	Año recibido	Clínica/Hospital
--------------------	--------------	------------------

g. ¿ Le han realizado alguna operación durante el año pasado ?
 Sí No

Fecha	Motivo	Nombre de la clínica/hospital
_____	_____	_____
_____	_____	_____

h. Proporcione los datos que recuerde de fiebre alta durante el año pasado

Fecha	Asociado con alguna enfermedad	Medicamentos ingeridos
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Historia nutricional (refleja solo los hábitos corrientes)

25. ¿ Es estrictamente vegetariana ? Sí No

26. ¿ Consume carne ? Sí No

a. Si la respuesta es positiva, por favor conteste:

Diariamente/semanalmente

Código del individuo: _____

	1-2(vuces)	3-4(vuces)	5-6(vuces)	Todos los días
Carne roja	___	___	___	___
Pescado	___	___	___	___
Pollo	___	___	___	___
Cerdo	___	___	___	___
Otro	___	___	___	___

b. ¿ Consume la carne roja cocida ?
 Poco Medio Bien cocida

27. a. ¿ Utiliza sacarina u otros endulzantes dietéticos ?
 Sí No

b. ¿ Cuántas gotas o pastillas utiliza al día ?

28.a. ¿ Utiliza bebidas dietéticas ?

Sí No

b. ¿ Cuántas al día ?

29. Haga comentarios sobre su dieta, que no hayan sido cubiertas en las preguntas anteriores, por ejemplo, **dieta especial alta en proteínas, baja en carbohidratos, etc.**

30. a. ¿ Toma café ?

Sí No Ocasionalmente
 Negro Con leche/crema

b. Si ingiere café, ¿ Cuántas tazas (vasos, jarros) al día ?

c. ¿ Qué marca consume ?

d. ¿ Toma café descafeinado ?

Sí No

31. ¿ Toma té ?

Sí No Ocasionalmente
 Negro Con leche/crema

b. Si ingiere té negro, ¿ Cuántas tazas (vasos, jarros) día?

32. ¿ Toma cerveza ?

Sí No Ocasionalmente

Código del individuo: _____

Si usted ingiere cerveza, por favor indique su promedio de consumo de
cerveza semanal:

1-6 botellas o latas (12 ozs.)

7-12 botellas

13-24 botellas

más de 24 botellas a la semana, si usted se encuentra en esta categoría,

¿cuál es su promedio de consumo de cerveza ? _____ botellas o latas por
semana.

b. ¿ Usted toma guaro, ron u otros licores ? (excluyendo cerveza)

Sí No Ocasionalmente

Si usted ingiere otro tipo de licor, por favor indique su promedio de consumo
semanal:

1-4 tragos (1-0,5 oz. de licor)

5-8 tragos

9-16 tragos

más de 16 tragos a la semana, si usted se encuentra en esta categoría, ¿

cuál es su promedio de consumo de otros licores ? _____ tragos semanales.

33. ¿ Usa regularmente sauna o toma baños calientes ?

Sí No Ocasionalmente

¿ Con qué frecuencia ? _____

¿ Ha tomado alguno recientemente ? _____

Historia familiar

34. ¿ Usted está enterada de algún (os) defecto (s) de nacimiento (s), otros
desórdenes genéticos o enfermedades hereditarias que afectan a sus
padres, hermanos, hermanas, o a sus sobrinos ?

Sí No

Si la respuesta es afirmativa, por favor especifique:

35. ¿ Usted o su esposo han tenido problemas para concebir (por un período de al menos 12 meses) o han sido diagnosticados como estériles ?

Sí No

Si la respuesta es afirmativa, porfavor especifique (indique cuándo experimentó la dificultad, dónde y quién realizó el diagnóstico):

Código del individuo: _____

36. ¿ Usted o su esposo han tenido algún hijo con defectos de nacimiento, otros desórdenes genéticos o enfermedades hereditarias ?

Sí No

Si la respuesta es afirmativa, por favor especifique(indique cuando y donde nació el niño y cuál es la naturaleza del desorden):

37. ¿ Usted o su esposo han tenido un hijo que haya nacido muerto, o que haya sido abortado espontáneamente ?

Sí No

Número total de embarazos _____

Número de hijos nacidos vivos _____

Número de hijos nacidos muertos _____

Número de abortos espontáneos _____

Número de muertes infantiles _____ edad _____

Número de hijos vivos (no incluya niños adoptados, hijastros, ni niños que no vivan con usted) _____

38. ¿ Tiene un hermano gemelo idéntico, que esté vivo ?

Sí
 No

39. ¿ Algún familiar (padre, madre, hermanos, sobrinos, hijos) tiene o tuvo cáncer?

Sí No

Si la respuesta es afirmativa, por favor indique el **tipo de cáncer y el parentesco con la persona afectada**

40. Nombre, dirección y teléfono de algún pariente o amigo que pueda dar razón de usted, en el caso de que necesitemos localizarlo en el futuro y usted haya cambiado de domicilio.

Observaciones:

Código del individuo: _____

Encuestadora:

Nombre completo

Lugar de la entrevista: _____
Doy fe que he realizado esta encuesta y que no he alterado las respuestas de la entrevistada.

Firma de la encuestadora

Anexo 4. PRUEBA DE NORMALIDAD KOLMOGOROV-SMIRNOV PARA LOS DATOS TRANSFORMADOS DE LAS VARIABLES DEPENDIENTES.

Variable dependiente	Casos		Controles	
	Max-D	Probabilidad	Max-D	Probabilidad
AMNT	0,160	p > 0,20	0,116	p > 0,20
ABINU	0,098	p > 0,20	0,072	p > 0,20
ABROK	0,139	p > 0,20	0,156	p > 0,20
APICN	0,179	p < 0,20	0,168	p < 0,20
ACROC	0,515	p < 0,01	0,510	p < 0,01
ACARI	0,084	p > 0,20	0,102	p > 0,20
ACARIOL	0,206	p < 0,10	0,086	p > 0,20
AGENOT	0,078	p > 0,20	0,156	p > 0,20
ACITOT	0,168	p > 0,20	0,100	p > 0,20
AAPOPT	0,077	p > 0,20	0,125	p > 0,20