

Los plaguicidas. Su relación con la salud humana y ambiental en la provincia de Córdoba

Delia Aiassa¹, Fernando Mañas², Beatriz Bosch¹, Laura Peralta², Natalia Gentile¹, Sergio Bevilacqua³, Joaquín Gómez Miralles³, Sandra Berrardo¹ y Nora Gorla⁴

1 Departamento de Ciencias Naturales. FCEFQyN- Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC).

2 Departamento de Clínica Animal. FAV- UNRC.

3 Departamento de Ciencias Jurídicas. FCH- UNRC.

4 CONICET

Resumen

La expansión de la superficie agrícola de la provincia de Córdoba, y el tipo de modelo productivo en marcha, han promovido un aumento de los volúmenes aplicados de distintos productos plaguicidas, muchos de los cuales son mutágenos químicos. Para detectar en forma temprana los efectos biológicos de los plaguicidas antes de que causen daño en la salud se emplean biomarcadores de daño genético. En el mundo, los ensayos de biomonitoreo de poblaciones humanas expuestas a plaguicidas más utilizados son: los ensayos de aberraciones cromosómicas (AC), de micronúcleos (MN), de intercambio de cromátidas hermanas (ICH), y más recientemente el ensayo cometa. En la provincia de Córdoba se realizaron ensayos de AC, MN y cometa en 50 personas expuestas de cuatro localidades con actividad agrícola y en un grupo de referencia concordante. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos estudiados ($p < 0,05$) en los tres ensayos. Se instrumentaron estrategias de intervención educativa a través de talleres y material de divulgación para posibilitar la introducción de cambios en la manipulación de plaguicidas y contribuir al cuidado de la salud humana y ambiental. Los resultados pueden ser usados para aportar a acciones legislativas y judiciales en beneficio de la salud.

Palabras clave: plaguicidas, biomonitoreo, daño genético, ensayos de genotoxicidad

Pesticides: their relationship with environmental and human health in the province of Córdoba

Summary

The expansion of the agricultural area in the Province of Córdoba, and the current productive model, have led to an increase of the volumes applied of different types of pesticides, many of which are mutagenic chemicals. Biomarkers of genetic damage are used for early detection of biological effects of pesticides, before they can cause health damage. Worldwide, studies of chromosomal aberrations (CA), micronuclei (MN), sister chromatid exchange (SCE), and more recently the comet assay, are the most commonly used assays for biomonitoring of human populations exposed to pesticides. CA, MN and comet assays were performed in a reference group and in an exposed group consisting of 50 people from four localities of the agricultural area of the Province of Córdoba. There was a statistically significant difference between the two groups under study ($p < 0.05$) for each of the three assays carried out. Intervention strategies were implemented through educational workshops and outreach material to promote changes in the handling of pesticides and contribute to the care of human and environmental health. Results can be used to contribute to legislative actions to benefit health.

Key words: pesticides, biomonitoring, genetic damage, genotoxicity assays

¿Cuál es la problemática de los plaguicidas en la provincia de Córdoba?

La expansión de la superficie agrícola de la provincia de Córdoba, 3.397.050 ha en la campaña 1994/95 a 7.443.200 ha en la campaña 2007-08 (SAGPyA, 2008), y el tipo de modelo productivo en marcha, han promovido un aumento de los volúmenes aplicados de distintos productos plaguicidas en los últimos años (Lantieri et al., 2009). Muchos de ellos son considerados mutágenos químicos: los datos experimentales revelan que varios componentes de los plaguicidas tienen propiedades mutagénicas e inducen mutaciones, alteraciones cromosómicas o daño al ADN (Bolognesi et al., 2003). Son numerosas las publicaciones que indican una asociación entre patologías -como cáncer, malformaciones congénitas, trastornos inmunes, afecciones neurotóxicas, disrupción endócrina- y exposición a plaguicidas (Eddleston et al., 2002; Alavanja et al., 2004; Basil et al., 2007; Sanborn et al., 2007).

Se ha establecido que sólo un 0,1 por ciento de la cantidad aplicada de plaguicidas llega a la plaga, mientras que el restante circula por el medio ambiente, contaminando posiblemente el suelo, el agua y la biota; por lo tanto, se hace necesario caracterizar el destino final y la toxicidad no prevista de estos plaguicidas para evaluar con certeza el riesgo asociado a su uso (Carvalho et al., 1998).

La exposición ocurre en distintos escenarios: domiciliario, sanitario y rural; este último es un sector en el cual su población resulta con alta exposición y gran vulnerabilidad (Maroni et al., 1999). Mientras que los informes sobre la toxicidad aguda de muchos de estos compuestos son abundantes, con un altísimo número de intoxicados fatales por año, los conocimientos sobre la toxicidad crónica o de los efectos a largo plazo son muy limitados. No se encuentran reportes para la Provincia de Córdoba. En general, en las estadísticas es evidente el subregistro, sin reflejar la magnitud real del problema posiblemente por la escasez de información recabada, en especial, en las zonas rurales (Henaó y Nieto, 2008).

¿Cómo detectar los efectos biológicos de los plaguicidas antes de que causen daño en la salud?

Si se quiere medir el riesgo de contaminación por plaguicidas, es inevitable realizar estudios en la población humana expuesta, desde los operarios que trabajan directamente en el campo, hasta los vecinos de las poblaciones cercanas. Se sabe que es imposible evitar la exposición ambiental a los plaguicidas en localidades

rurales, incluso en personas que no trabajan directamente en el campo.

Para detectar en forma temprana los efectos biológicos de los plaguicidas antes de que causen daño en la salud se emplean biomarcadores de daño genético basados en la cuantificación de alteraciones estructurales o funcionales a nivel del ADN o de los cromosomas. El monitoreo de poblaciones humanas expuestas a mutágenos y carcinógenos potenciales, mediante el uso de biomarcadores, constituye una parte importante en la investigación de la evaluación de riesgo (Grover et al., 2003), y son un sistema de detección temprana en la iniciación de la desregulación celular en el desarrollo del cáncer (Valverde y Rojas, 2009). De ese modo el biomonitoreo de poblaciones humanas expuestas a plaguicidas es una de las mejores herramientas disponibles para la prevención de los efectos deletéreos resultantes de la exposición ocupacional o ambiental a los mismos (Viau, 2005). Las investigaciones científicas sobre biomonitoreo humano comienzan a publicarse alrededor de 1985 con una escalada exponencial hasta la fecha. Desde 1980 al 2003 los ensayos de biomonitoreo en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas se han focalizado principalmente en los siguientes estudios citogenéticos: ensayo de aberraciones cromosómicas (AC), ensayo de micronúcleos (MN), ensayo de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) (Albertini et al., 2000) (Figura 1). El ensayo de AC en linfocitos detecta alteraciones en la morfología cromosómica causada por: rotura directa al ADN, replicación de ADN dañado, inhibición de la síntesis de ADN. Los micronúcleos (MN) son pequeños cuerpos extra-nucleares que se forman en la mitosis por fragmentos cromosómicos acéntricos o cromosomas que no se incluyen en el núcleo de las células hijas y aumentan en número ante un efecto genotóxico. Se pueden analizar a partir de mucosa bucal o nasal, células epiteliales de vejiga, linfocitos de sangre. El ensayo de intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos evalúa el número de intercambios recíprocos entre dos cromátidas hermanas en cromosomas en metafase mitótica, que aumenta por agentes genotóxicos que producen roturas en la cadena de ADN.

Los biomonitoreos de trabajadores expuestos a plaguicidas comprenden a trabajadores de las plantas químicas, los que emplean plaguicidas, los fumigadores, floricultores, agricultores, expuestos a un único compuesto o a mezclas. En esos primeros 20 años, una revisión de 74 estudios de biomonitoreo en el mundo han utilizado principalmente sangre periférica de los grupos de trabajadores expuestos empleando los ensayos de ICH (55% del total), AC (27%), MN (18%) (Bolognesi,

2003). De ese período sólo cuatro estudios fueron realizados en Argentina. Un estudio de ICH en poblaciones expuestas accidentalmente a organofosforados (Larripa et al., 1983). Otro grupo de investigación que observó un aumento significativo en los niveles de aberraciones cromosómicas y de intercambio de cromátidas hermanas en una población de floricultores de viveros de la provincia de Buenos Aires donde cantidades importantes de plaguicidas se aplicaban con pocas o nulas medidas de protección (Dulout et al., 1986; 1987), y un segundo análisis citogenético en un subgrupo de la misma población (Dulout et al., 1992).

Alrededor de 1990 se diseñó y aplica el ensayo cometa también conocido como electroforesis en gel de células individuales (Figura 1) para medir daño al ADN en sangre periférica y también comienza a utilizarse el ensayo de MN en células de epitelio bucal (Albertini et al., 2000). El ensayo cometa analiza los patrones de migración de ADN en células individuales, la migración es mayor cuanto mayor es el daño al ADN. Se puede efectuar en leucocitos, células epiteliales de vejiga, cavidad bucal, epitelio gástrico y nasal, esperma. El ensayo cometa es para muchos el método de elección para estudios poblacionales de exposición ambiental y ocupacional a contaminantes ambientales, metales, plaguicidas, radiación y otros xenobióticos (Valverde y Rojas, 2009), quizás por su sencillez y rapidez. Estos autores han revisado 122 estudios de biomonitorio que emplearon el ensayo cometa: niños expuestos a deltametrina en áreas de malaria de México, mujeres crónicamente expuestas en México, trabajadores ocupacionalmente expuestos a mezclas de plaguicidas en Turquía, trabajadores empleados en la producción de plaguicidas en India, estudios de biomonitorio humano en Austria, para sólo citar algunos ejemplos.

Desde el 2000 al 2008, el ensayo de MN en células bucales comienza a emplearse en trabajadores de granjas de Brasil, en floricultores mexicanos, trabajadores de viveros de España, granjeros de Polonia, de una población húngara, cuatro poblaciones europeas, mujeres de Costa Rica expuestas ocupacionalmente a plaguicidas, para ejemplificar (Ceppi et al., 2009).

Hasta el momento las evidencias experimentales y epidemiológicas demuestran que el ensayo más preciso es el de aberraciones cromosómicas, dado que las AC estructurales y numéricas están involucradas en la carcinogénesis (Albertini et al., 2000). De los ensayos citados éste es el más laborioso, que consume más tiempo y requiere mayor capacitación en sus operadores.

Por último, las consideraciones éticas deben ser siempre tenidas en cuenta en la planificación de los programas de biomonitorio y previa a la implementación de los mismos, lo cual incluye la evaluación del proyecto por un comité de ética, el consentimiento informado de sus participantes, confidencialidad, comunicación de los resultados a los trabajadores y la susceptibilidad genética individual (Manno et al., 2010). Se considera que en los países en desarrollo se tiene mayor riesgo de exposición debido a las condiciones precarias de trabajo y a una falta de conciencia de los riesgos potenciales durante la manufactura y aplicación de los plaguicidas (Bhalli et al., 2006).

¿Qué se está realizando en la provincia de Córdoba para detectar daño genético por exposición a plaguicidas en la salud humana y ambiental?

Desde hace varios años, nuestro grupo de investigación en la Universidad Nacional de Río Cuarto está dedicado al estudio de la problemática planteada. Hasta el momento, se entrevistaron y realizaron ensayos de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa en sangre periférica a 50 personas expuestas de cuatro localidades de la provincia de Córdoba con actividad agrícola y a un grupo de referencia concordante. La edad promedio del grupo expuesto varía entre 21 y 52 años. El 54% no utiliza ninguna medida de protección al manipular plaguicidas, el 33% usa guantes y barbijo, el 13% sólo usa guantes. El 56% presentó al menos un síntoma (tos, rinitis, gastritis, conjuntivitis, bronquitis, náuseas, dermatitis) tras la exposición. Los plaguicidas más usados son glifosato, cipermetrina, 2-4D, endosulfán, atrazina, clorpirifós. Los indicadores de daño genético observados, en el grupo expuesto y el grupo de referencia respectivamente, fueron: $11,50 \pm 4,33$ y $5,25 \pm 2,77$ AC por cada 100 metafases analizadas; $12,75 \pm 4,00$ y $7,20 \pm 1,55$ MN por cada 1000 células binucleadas analizadas y el daño al ADN (momento de la cola del cometa) 3820 ± 2630 y $117,41 \pm 77,60$ unidades arbitrarias (Mañas et al. 2008, 2009; Gentile et al., en prensa). Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos estudiados ($p < 0,05$) en los tres ensayos. También se realizó un diagnóstico de situación en 210 hogares rurales y urbanos, con relación a los plaguicidas utilizados en el hogar. Los resultados obtenidos muestran la necesidad concreta de la realización de acciones preventivas referidas al uso de los plaguicidas domiciliarios tanto en el ámbito rural como en el urbano (Bosch et al., en consideración).

Conjuntamente y para tener una dimensión más real

del impacto ambiental de los plaguicidas y los rastros dejados por la contaminación que producen, es necesario, además del estudio de las poblaciones humanas, poner especial énfasis en especies acuáticas vulnerables, como anfibios de las localidades rurales que pueden actuar como organismos indicadores del potencial de exposición para poblaciones humanas de químicos genotóxicos. Con ese objetivo se está estandarizando el uso de anfibios de amplia distribución en la provincia de Córdoba para el monitoreo genotóxico ambiental (Bosch et al., en consideración b).

En materia de legislación se están revisando y analizando los tratados internacionales, resoluciones comunitarias, leyes y decretos nacionales y provinciales, ordenanzas y decretos municipales (Aiassa et al., 2008), con el objetivo de diseñar una matriz con una propuesta de solución legal, en aquella legislación donde se identifiquen vacíos, brechas, barreras, inconsistencias y

superposición de competencias.

A partir de la información obtenida de los ensayos de genotoxicidad y del uso de plaguicidas se instrumentaron estrategias de intervención educativa a través de talleres y material de divulgación para posibilitar la introducción de cambios en la manipulación de plaguicidas y contribuir al cuidado de la salud humana y ambiental (Gentile et al., 2010).

Al detectar en grupos humanos expuestos a plaguicidas los efectos biológicos de los mismos en forma temprana es posible contar con pruebas contundentes para poder intervenir desde la educación e, incluso, desde la proposición de reformas legislativas, en defensa y beneficio de la salud humana y ambiental. Este es el compromiso que hemos asumido desde nuestra investigación científica y reconocemos que es abundante la tarea que resta por hacer.

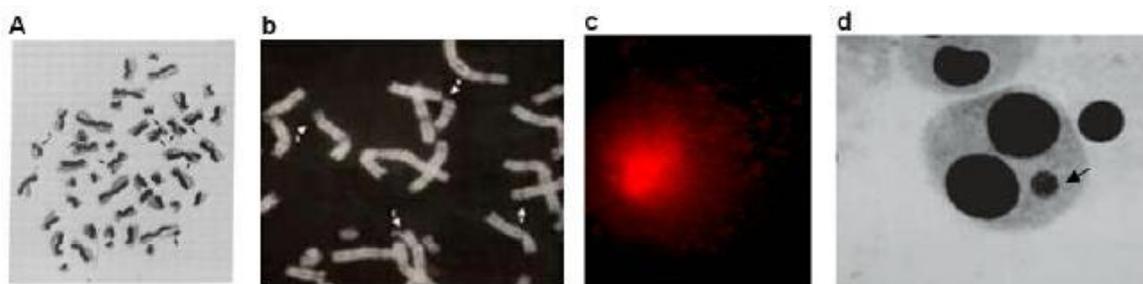


Figura 1: a-Ensayo de Intercambio de Cromátidas hermanas; b- Ensayo de Aberraciones cromosómicas; c- Ensayo Cometa; d- Ensayo de Micronúcleos

Bibliografía

1. Aiassa D., Reartes N., Martí A. Revisión y Armonización de la Legislación Ambiental de la Ciudad de Río Cuarto (Córdoba, Argentina). *Rev Cient Ciencia, UNCa* 3: 129-140, 2008.
2. Alavanja M.C.R., Hoppin, J.A., Kamel, F. Health Effects of Chronic Pesticide Exposure: Cancer and Neurotoxicity. *Ann Rev Public Health* 25:155-197, 2004.
3. Albertini R. J., Anderson D., Douglas G. R. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *International Programme on Chemical Safety. Mutat. Res.*, 463: 111-172, 2000.
4. Basil L.H., Vakil K., Sanborn M., Cole K., Kaura J.S.M., Kerr D. Cancer health effects of pesticides: systematic review. *Can Fam Physician* 53(10):1704-11, 2007.
5. Bhalli J.A., Khan O.M., Haq M.A., Khalid A.M., Nasim A. Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in a pesticide production industry. *Mutagenesis* 21: 143-148, 2006.
6. Bolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res* 543: 251-272, 2003.
7. Bosch B., Mañas F., Aun L., Gorla N., Aiassa D. La utilización de plaguicidas domiciliarios en ambientes urbanos y rurales- situación e intervención-. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias, (en consideración)*.
8. Bosch B., Mañas F., Gorla N., Aiassa D. The Micronucleus test for environmental monitoring in post metamorphic *Odontophrynus sp. and Rhinella arenarum (Amphibia: Anura)*. *Environmental Toxicology and Pharmacology, (en consideración)*.
9. Carvalho, F., Zhong N., Tavares y Klaine S. 1998. Rastreo de plaguicidas en los trópicos. *Boletín del OEIA* Nº 40.
10. Ceppi M., Biasottia B., Fenech M., Bonassi, S. Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: Statistical and epidemiological issues, *Mutat Res* 705: 11-19, 2009.
11. Dulout F. N., Lopez Camelo J.S., Guradze H.N. Analysis of sister chromatid exchanges (SCE) in human population studies, *Rev Brasil Genet* 15: 169-182, 1992.
12. Dulout F. N., Pastori M.C., Gonzales Cid M., Matos E., von Guradze H.N., Maderna C.R., Loria D., Sainz L., Albiano N., Sobel N. Cytogenetic analysis in plant breeders, *Mutat Res* 189: 381-386, 1987.
13. Dulout F. N., Pastori M.C., Olivero O.A., Gonzales Cid M., Loria D., Matos E., Sobel, N., de Bujan E.C., Albiano N. Sister-chromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides, *Mutat Res* 143: 237-244, 1985.
14. Eddleston M., Karalliede L., Buckley N., Fernando R., Hutchinson G., Isbiter G., Konradsen F., Murria D., Piola J.C., Senanayake N., Sheriff R., Singh S., Siwach S.B., Smit L. Pesticide poisoning in the developing world, a minimum pesticide list. *Lancet* 360: 1163-1167, 2002.
15. Gentile N., Mañas F., Bosch B., Peralta L., Gorla N., Aiassa D. Micronucleus assay as a biomarker of genotoxicity in the occupational exposure to agroquímicos in rural workers. *Ecotoxicol Environ Saf, (en consideración)*.
16. Gentile N., Mañas F., Peralta L., Bosch B., Gorla N., Aiassa D. Encuestas y talleres educativos sobre plaguicidas en pobladores rurales de la comuna de Río de los Sauces, Córdoba. *Revista de Toxicología en Línea (ReTeL)* 30: 36-57, 2010. En http://www.sertox.com.ar/img/item_full/30004.pdf y su indexación en DOAJ: <http://www.doaj.org/doaj?func=abstract&id=556665&recNo=4&toc=1>.
17. Grover P., Danadevi K., Mahboob M., Rozati R., Banu B.S., Rahman M.F. Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the comet assay, *Mutagenesis* 18: 201-205, 2003.
18. Henaó, S., Nieto, O. Curso de autoinstrucción en diagnóstico, tratamiento y prevención de intoxicaciones agudas causadas por plaguicidas. División de Salud y Ambiente de la Organización Panamericana de la Salud (HEP/OPS), Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS/OPS) y proyecto PLAGSALUD de la OPS/OMS. Disponible en <http://www.cepis.org.pe/tutorial2/e/unidad1/index.html>, 2008.
19. Lantieri M.J., Meyer Paz R., Butinof M., Fernández R.A., Stímolo M.I., Díaz M.P. Exposición a plaguicidas en agroaplicadores terrestres de la provincia de Córdoba, Argentina: factores condicionantes.