

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE BAJA
CALIFORNIA**



FACULTAD DE CIENCIAS



MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE ECOSISTEMAS DE ZONAS ÁRIDAS

**“DAÑO GENOTÓXICO EN JORNALEROS AGRÍCOLAS DEL VALLE DE SAN
QUINTÍN B.C. MÉXICO”**

TESIS

**Que para obtener el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS**

Presenta

ERIKA ZÚÑIGA VIOLANTE

ENSENADA B.C., Diciembre del 2009.

[Escribir texto]

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

MAESTRÍA EN MANEJO DE ZONAS ÁRIDAS

“DAÑO GENOTÓXICO EN JORNALEROS AGRÍCOLAS DEL VALLE DE SAN
QUINTÍN B.C. MÉXICO”

TESIS

Que para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

Presenta

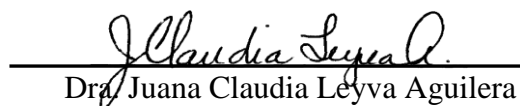
ERIKA ZÚÑIGA VIOLANTE

Aprobado por



M.C. María Evarista Arellano García

Directora de Tesis



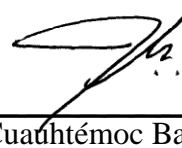
Dra. Juana Claudia Leyva Aguilera

Co-Directora de Tesis



M.S.P. Patricia Radilla Chávez

Sinodal



M.C. Raúl Cuauhtémoc Baptista Rosas

Sinodal

[Escribir texto]

Dedicatoria

Dedico esta Tesis a mi esposo maravilloso, Gerardo quien con su amor y paciencia me inspira y me anima a superarme cada día.

A mis padres y hermanos porque a pesar de la distancia los siento conmigo animándome en cada proyecto.

“El hombre encuentra a Dios detrás de cada puerta que la ciencia logra abrir.”

Albert Einstein

Agradecimientos

Quisiera agradecer a primero a Dios, porque pude sentir su mano durante estos dos años de maravilloso aprendizaje.

A la Maestra Eva, por adoptarme como su hija en la aventura de la investigación, de usted he aprendido no solo de ciencias, estadística y redacción sino de la vida, gracias por ser maestra y amiga.

Dra. Martha Patricia Ostrosky Wesman y QFB Lourdes Monserrat Sordo Cedeño del Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIBM) de la UNAM por su gran ayuda en la puesta a punto de la técnica de micronúcleos en el laboratorio

Claudia, Paty y Raúl muchas gracias por su dirección y consejos para llevar a cabo este trabajo.

Balam y Pancho, aprendí mucho de ustedes gracias por sus consejos su experiencia y su amistad se convirtieron en mis hermanos, los quiero.

Nancy, Vicky y Korina gracias por su apoyo su dedicación y su tiempo. Este trabajo también es de ustedes, fueron largas sesiones en el laboratorio que con su alegría se hicieron más llevaderas, hasta divertidas.

Dila, Blanquita, Hidemi, Rinah, Rodolfo y Aldo, dicen que los amigos es la familia que nosotros escogemos, gracias por convertirse en mi familia, por todas esas charlas, juegos, viajes y momentos especiales que compartimos y que me ayudaron a ser mejor persona y profesionalista.

A Vero, Rafa, Liliana, Lulú, Ricardo quienes hicieron de las salidas de campo y del laboratorio siempre una grata experiencia

A todos mis compañeros de generación y a mis maestros que hicieron que la maestría fuera todo una experiencia de crecimiento donde rompí paradigmas y abrieron mi mente a la interdisciplinar.

A los apoyos de XI Convocatoria Interna de Apoyo a Proyectos de Investigación de la UABC y Fondos Mixtos CONACYT-BC #60237 que hicieron posible este trabajo.

Resumen

Los efectos citogenéticos de los plaguicidas son ampliamente conocidos, sin embargo son escasos los estudios en personas expuestas laboral y ambientalmente. La comunidad de San Quintín B.C. México ha sido expuesta a este tipo de contaminación por más de 60 años, lo que la hace vulnerable a sus efectos. El objetivo de este trabajo es determinar si los residentes expuestos ocupacionalmente a plaguicidas presentan mayor daño genético que los no expuestos y relacionar el tiempo de exposición ocupacional con el nivel de daño genético. Para esto se encuestaron 88 residentes del Valle de S.Q., de los cuales, 40 firmaron el consentimiento informado: 25 expuestos ocupacionalmente a pesticidas (casos) y 15 no expuestos (controles). Se utilizó la técnica de Micronúcleos para evaluar el Daño genotóxico mediante la frecuencia de micronúcleos, *buds* y puentes de cromatina; determinando diferencias significativas por medio de la prueba Mann-Whitney. Mediante un análisis de regresión se exploró la relación del daño genético con el tiempo de exposición ocupacional a pesticidas. Los resultados encontrados mostraron un promedio de micronúcleos en los casos de $17.7 (\pm 9)$ y de $10.8 (\pm 5)$ para los controles. En los puentes de cromatina los casos presentaron una media de $8.9 (\pm 6.6)$, mientras que en los controles fue de $3.43 (\pm 3)$. Finalmente los *buds* mantienen una tendencia superior en los casos $11.1 (\pm 4.9)$ sobre los controles $8.2 (\pm 4.7)$. El tiempo de exposición ocupacional se ajustó a un modelo exponencial con una r^2 de 0.76. Por lo que se confirma la hipótesis de que, la exposición laboral y el tiempo de exposición son variables determinantes en la aparición de daño genético en individuos que laboran en el campo.

Abstract

The cytogenetic effects of the plaguicides are widely known, nevertheless there are only a few studies of the environmentally and labored exposed. The town of San Quintin in Baja California, Mexico has been exposed to this kind of contamination for more than 60 years, which vulnerates it's population. The main objective of this work is to determine if the peripheral blood growths of the labored exposed residents shows a larger amount of genetical damage from those which are not exposed. 88 inquiries were applied to some residents of the San Quintin valley, having 40 signed consent permissions. From those, 25 were labor exposed (samples) and 15 not exposed (controls). The micronucleous technique was used to measure the genetical damage by means of the micronucleous, *buds* and chromatin bridges frequency. The Mann-Whitney test was used in order to define significant differences. The relation between genetical damage and plaguicides exposing time was studied by means of a regression analysis. The results show that the micronucleous frequency has an average of $17.7 (\pm 9)$ for the samples and $10.8 (\pm 5)$ for the control samples. The chromatin bridge frequency averages $8.9 (\pm 6.6)$ for the exposed samples, while the control data shows an average frequency of $3.43 (\pm 3)$. Finally, the *buds* showed a tendency of $11.1 (\pm 4.9)$ for the studied cases, while the control samples had and value of $8.2(\pm 4.7)$. The labor exposure time was adjusted to an exponential model to determine that the plaguicides exposed population show a significant larger amount of genetical damage that those which are not exposed, this with a r^2 of 0.76. With all these is possible to confirm that labor exposure and the length of this are important variables in order to have genetical damage in individuals who work in the field.

Índice General

I. INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
OBJETIVOS.....	2
Objetivo general	2
Objetivos particulares	2
ANTECEDENTES.....	3
Agroquímicos.	3
Exposición a los agroquímicos	6
Detección de daño genotóxico.....	9
II. CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS	12
UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	12
MÉTODOS DE CAMPO	13
MÉTODOS DE GABINETE	18
III. RESULTADOS	20
IV. DISCUSIÓN.....	24
V. CONCLUSIONES.....	29
VI. CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS A FUTURO	30
BIBLIOGRAFÍA	32

Índice de Tablas

Tabla 1 Características del grupo de estudio.....	20
Tabla 2 Resultados de los indicadores de Daño Genético.....	22

Índice de Figuras

Figura 1 Campos de cultivo en el Valle de San Quintín.....	6
Figura 2 Diagrama de exposición ambiental a agroquímicos.....	7
Figura 3 a) Micronúcleo b) Puente de Cromatina c) <i>Bud</i>	10
Figura 4. Mapa del Valle agrícola de San Quintín.....	13
Figura 5 Aplicación de Cuestionario.....	14
Figura 6 Invitación a congregación cristiana a participar en el estudio.....	14
Figura 7 Aplicación de la encuesta y toma de muestras.....	15
Figura 8 Métodos de campo.....	16
Figura 9 Métodos de laboratorio.....	18
Figura 10 Métodos de gabinete.....	19
Figura 11 Dendrograma de distancia euclidiana.....	21
Figura 12 Frecuencia de MN vs tiempo de exposición ocupacional ón.....	23
Figura 13 Casas habitación junto a invernadero.....	25
Figura 14 Campo de cultivo junto a restorán.....	26
Figura 15 Niño jugando en campo de cultivo.....	26
Figura 16 Envases de agroquímicos abandonados a cielo abierto.....	27
Figura 17 Trabajadoras agrícolas del Valle de San Quintín.....	28

Anexos

1. Cuestionario.....	38
2. Consentimiento informado.....	45
3. Técnica de micronúcleos por bloqueo de la citoquinesis en leucocitos humanos	48
4. Artículo	58
5. Confirmación de registro de artículo en la Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health	79
6. Participación en Simposio “La situación de los agroquímicos en México: Impactos y Perspectivas”.....	81

INTRODUCCIÓN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Numerosos estudios publicados muestran evidencia de la capacidad de los agroquímicos para inducir daño genético y cromosómico, con consecuencias importantes relacionadas con efectos mutagénicos, carcinogénesis, defectos reproductivos y hormonales (Miguez 2009, Torres y Capote 2004).

Se estima que la exposición de la población a los agroquímicos, de manera ocupacional y/o ambiental, en las zonas de alta producción agrícola como lo es el Valle de San Quintín, constituye un factor de riesgo para la salud a corto, mediano y largo plazo, a pesar de ello, hasta el momento de la realización del presente trabajo no se encontraron programas de monitoreo periódico de daño genético causado por los agroquímicos en las comunidades potencialmente afectadas en México.

El monitoreo de las poblaciones expuestas a genotóxicos es una herramienta poco usada, a partir de la cual es posible obtener información que permita orientar políticas de salud e intervención en las poblaciones expuestas para mitigar y prevenir el daño genético.

En el Valle de San Quintín no se han encontrado estudios que estimen el nivel de daño genotóxico de la población que se encuentra ambiental y ocupacionalmente expuesta; por lo que, la falta de información en este sentido es un vacío que limita la adecuada toma de decisiones de los diferentes actores dentro y fuera de la comunidad.

Dos hipótesis orientan el desarrollo de la presente investigación: la primera supone que la exposición ocupacional a agroquímicos aumenta el daño genético con

[Escribir texto]

base en la frecuencia de micronúcleos (MN), brotes nucleares (*buds*) y puentes de cromatina (PC) en mil células binucleadas de leucocitos de sangre periférica; la segunda, formulada a partir de la demostración de la primera, sugiere que el daño genético está relacionado con el tiempo de exposición laboral a agroquímicos.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el nivel de daño genotóxico mediante tres biomarcadores de efecto: número de micronúcleos, puentes de cromatina y *buds* o brotes nucleares en personas residentes del Valle de San Quintín, Baja California para explorar si es posible revelar un patrón que muestre la dependencia funcional entre el tiempo de exposición ambiental y laboral a los agroquímicos.

Objetivos particulares

- Desarrollar y aplicar un cuestionario de encuesta para recopilar información sobre la exposición a los agroquímicos, estilo de vida e historial clínico de las personas participantes en el estudio
- Clasificar a los casos y controles con base en el cuestionario.
- Determinar el número de MN, PC y Buds en sangre periférica por la técnica de micro núcleos por bloqueo de la Citocinesis.
- Evaluar el nivel daño genotóxico en las personas participantes expuestas laboral y ambientalmente del Valle de San Quintín

ANTECEDENTES

Agroquímicos.

Se define como agroquímico a “la sustancia o mezcla de sustancias que se destine a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores que transmiten las enfermedades humanas y de animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran con la producción agropecuaria y forestal, así como las sustancias defoliantes y las desecantes”, (SEMARNAT, 2007)

La historia de los agroquímicos se remonta hacia el 1550 a.C, cuando se elaboraban una serie de preparaciones que se usaban para repeler las moscas del interior de las viviendas (Estrada 1999). A partir de esta idea comenzaron a desarrollarse, casi por coincidencia algunos otros tipos de agroquímicos y fue hasta finales del siglo diecinueve y principios del veinte cuando la escasez de alimentos en suelos europeos llevó a una serie de descubrimientos científicos y tecnológicos que aceleraron e incrementaron su producción. Los agroquímicos comienzan a desarrollarse en esta época para combatir diversas plagas, sin embargo el período de mayor expansión se produjo durante los años 40. Durante la Segunda Guerra Mundial. Paul Herman Müller descubrió las propiedades insecticidas de un compuesto organo-sintético, comúnmente conocido como (p,p'-diclorodifenil tricloroetano) (DDT), sintetizado por primera vez en 1874 (Hayes et al 1991) y usado extensivamente para el control de plagas hasta su prohibición en 1979, ya que los productos secundarios de su degradación, se han encontrado contaminando el suelo y el agua, así como tejidos animales y humanos. Otros ejemplos de este tipo de agroquímicos son el Dieldrin, Heptaclor, Hexaclorido, Benceno y Clordano, entre otros, los cuales han causado también una grave contaminación de los

ecosistemas por su alta toxicidad. (Cremllyn 1979 y 1990) Estas sustancias producen, dependiendo de la susceptibilidad de los organismos, diferentes efectos.

En el último siglo derivado de la alta demanda de productos manufacturados, se desarrollaron una gran cantidad de compuestos orgánicos de manera sintética, entre los cuales se encuentran algunos fertilizantes, insecticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas y compuestos hormonales para favorecer el rendimiento de los cultivos. La conducción por los ciclos bio-geo-químicos de estas sustancias finalmente van al ambiente, ya sea intencionadamente o por accidente (Lara 2001).

Desde su invención, los agroquímicos han contribuido al mejoramiento de la productividad agrícola en el mundo, sin embargo, su uso y bioacumulación han tenido repercusiones en el medio ambiente y en la salud humana (Vindas et al. 2009, Osornio 1995)

Torres y Capote en el 2004 mencionan que sólo el 0.1% de la cantidad del agroquímico aplicado afecta a las plagas, mientras que el resto circula por el medio ambiente, contaminando el suelo, agua y biota.

Numerosos estudios publicados muestran evidencia de la capacidad de los agroquímicos para inducir daño cromosómico, intercambio de cromátidas hermanas y mutación puntual en los seres humanos con efectos mutagénicos, carcinogénesis, defectos reproductivos y hormonales (Ortega et al. 1994, Palacios et al.1999); por esto se considera a los agroquímicos como uno de los grupos más importantes de agentes químicos genotóxicos.

En México se usa el 60% de los 22 agroquímicos catalogados como perjudiciales para la salud y el ambiente de ellos el 42% se fabrican en el país. De 90 agroquímicos que

han sido cancelados o restringido en los Estados Unidos, 30 se usan en México (INEGI, 1992). La regulación de los agroquímicos en México es llevada a cabo por diversas dependencias federales, así el transporte de estas sustancias es regulado por la SCT, el impacto al medio ambiente por la SEMARNAT, la eficacia biológica de los productos para uso agrícola por la SAGARPA y los aspectos sanitarios por la Secretaría de Salud.

Baja California se encuentra entre los trece estados de México con mayor uso de agroquímicos. Se calcula que en estos estados se aplica el 80% de total de agroquímicos usados a nivel nacional (Albert 2005), La zona rural del Municipio de Ensenada representa aproximadamente el 90% de su extensión territorial, teniendo como zonas de mayor desarrollo, al Valle de San Quintín, Valle de Maneadero, Valle de la Trinidad y Valle de Ojos Negros, cabe mencionar que aproximadamente el 70% de las comunidades de esta zona dependen de la actividad agrícola y ganadera. (Plan de desarrollo urbano 1999-2002,)

Bahía San Quintín fue sitio de paso durante la expansión misionera hacia California en el siglo XVIII, pero no fue hasta 1861 que se abrió oficialmente como puerto y posteriormente, que comenzaron a otorgarse permisos para colonizar el sitio, al cual llegaron numerosos extranjeros provenientes de Alemania e Inglaterra. (Barron y Barbosa 1981)

La región se caracteriza por un clima árido, donde la agricultura no prosperó sino hasta la década de los setentas, cuando se implementaron tecnologías israelíes para la extracción de agua del subsuelo. El desarrollo agrícola fue tal, que actualmente es la principal actividad económica de la región, en la que se producen hortalizas y frutas para mercados norteamericanos como *Campbell's*, *Del Monte* y otras firmas subsidiarias

(Martínez Novo, 2004). En la región de San Quintín se cultivan alrededor de 54 superficies diferentes: 10,000 hectáreas de riego para tomate, fresa, col de bruselas y chile; 23,000 hectáreas de temporal para trigo, cebada, maíz y frijol; 200 hectáreas perennes para alfalfa.

La agricultura representa el motor principal de la economía de esta región, y a la par del desarrollo agrícola, ha crecido el comercio y uso de los agroquímicos de la región (Figura 1).



Figura 1 Campos de cultivo en el Valle de San Quintín.

Exposición a los agroquímicos

La exposición de la población a los agroquímicos es posible representarla con base en cuatro aspectos: la dosis, que puede ser letal o menor a esta; la duración de la

exposición, que es de tipo agudo o crónico; el tipo de exposición, que puede ser accidental, ocupacional o ambiental y el número de personas que se afectan (Figura 2).

Accidental, se presenta en situaciones fortuitas como derrames o ingesta intencional o accidental en donde, el tiempo de exposición es muy corto y la dosis es cercano o superior a los límites establecidos como dosis letales, lo que produce efectos en el corto plazo como lesiones externas, intoxicaciones severas e incluso muerte repentina. En México se reportaron 281 casos de intoxicaciones durante el 2008 y solamente se reportan cuatro en Baja California. (AMIFAC 2009) Es conocido que dichas sumas son muy conservadoras ya que la mayoría de estos casos no son reportados por las personas afectadas.



Figura 2 Diagrama de exposición ambiental a agroquímicos.

Ocupacional, se refiere a las personas que por su ocupación laboral tienen una relación directa con agroquímicos como fumigadores, mezcladores, etc. Aquí se encuentran diversos tipos de problemas que dependen del tiempo de exposición y de la

dosis a la que están expuestos; se pueden presentar alergias respiratorias y cutáneas, cefaleas, dolor estomacal, vómito mareos, afecciones respiratorias severas, abortos espontáneos; y también efectos a largo plazo de carácter degenerativo e incluso transgeneracional de tipo mutagénico y oncogénico. De estos casos no se tienen estadísticas disponibles.

Ambiental, se considera a la población que por radicar en zonas de alta producción agrícola están expuestos a estos químicos en dosis mínimas durante un largo tiempo, esta exposición produce efectos a largo plazo semejantes a los expuestos ocupacionalmente dependiendo del contacto con los agroquímicos tarda más tiempo en presentarse.

La relación entre la exposición ocupacional y ambiental a agroquímicos ha sido estudiada por diferentes autores. Windham et al. 1998 efectuó un trabajo en los trabajadores del programa de erradicación de mosca de fruta del Mediterráneo, que implicaba la aplicación de malatión, y examinaron las frecuencias de formación de micronúcleos y encontraron que los expuestos tuvieron más MN que los controles. Palacios-Nava 1999 encontró una relación entre la exposición agroquímicos con la presencia de síntomas persistentes de intoxicación en trabajadores de empresas dedicadas a la fabricación de agroquímicos.

Gómez Arroyo y Martínez Valenzuela en 2007 efectuaron una revisión bibliográfica de 50 trabajos de biomonitoreo citogenético de personas expuestas a agroquímicos en el mundo desde 1987 al 2007 donde el 68 % de los trabajos se encontró un resultado positivo a DG. Dicho trabajo concluye que los estudios realizados por

investigadores de diferentes países del mundo, aportan evidencias científicas que indican correlaciones positivas entre tiempo de exposición, dosis y DG.

En Baja California solo un estudio se ha encontrado acerca de evaluación de la genotoxicidad en seres humanos, donde Alfaro-Moreno *et al.* 1995, valoraron la capacidad del polvo inorgánico de la ciudad de Mexicali, para inducir el daño genotóxico en adultos sanos mediante estudios *in vitro*.

Bojorquez (1994), determinó mediante experimentos *in vitro* la genotoxicidad de tres agroquímicos de amplio uso en Baja California, y menciona que el uso de agroquímicos se realiza de forma indiscriminada en términos de número de aplicaciones, cosechas y tiempos de reingreso. Según informan los residentes locales, la situación no ha cambiado, y de 28 agroquímicos utilizados en Baja California en 1994, carcinogénicos y teratogénicos, aún se siguen utilizando 14 . En dicho trabajo se señala la falta de estudios epidemiológicos que permitan evaluar los efectos crónicos de la exposición laboral o accidental a agroquímicos.

DetECCIÓN DE DAÑO GENOTÓXICO

Un agente genotóxico es aquel capaz de inducir daño en el material genético e incluye no sólo al ADN, sino también a todos aquellos componentes que se encuentran relacionados con la funcionalidad del núcleo celular (Palacios et al. 1999, Torres y Capote 2004, Zalacain et al 2005).

Para detectar daño al material genético se han desarrollado, desde pruebas bioquímicas y espectrofotométricas, hasta las pruebas citogenéticas (Fenech 2002), dentro de las cuales está la técnica de micronúcleos por bloqueo de la citocinesis, considerada como un ensayo práctico, estandarizado, accesible tecnológicamente y útil

para evaluar la inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. (Zalcain 2005, Fenech 2002, Pastor et al. 2001, Martínez et al. 2007)

La técnica de micronúcleos fue propuesta inicialmente por Countryman y Heddle en 1976 (Countryman et al.1976), basándose en tipos celulares con gran actividad mitótica; en 1985 Fenech y Morley (Fenech et al. 1985), lograron frenar la citocinesis al utilizar citocalasina-B, asegurándose de obtener células binucleadas después de una sola división.

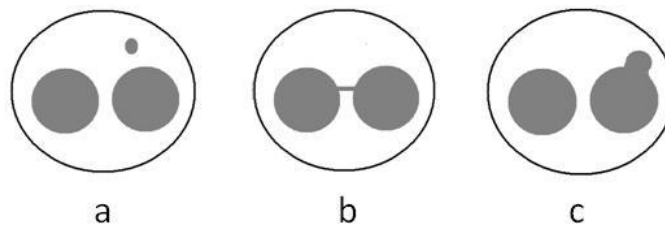


Figura 3 a) Micronúcleo b) Puente de Cromatina c) Bud

Además de los micronúcleos, que son fragmentos de cromosomas o cromosomas enteros que no se integran a los núcleos hijos después de la división celular, Fenech en 2002 establece que otras estructuras como los puentes de cromatina (PC) y los *buds* (gemas) pueden indicar daño citotóxico en células binucleadas (Fenech et al.2002,Fenech et al. 2003).

Los micronúcleos (Figura 3 a), como su nombre lo indica, son masas de cromatina que tienen la forma de pequeños núcleos y aparecen cerca del núcleo principal en las células interfásicas durante la mitosis. Su diámetro varía entre 1/16 y 1/3 del diámetro del núcleo principal, poseen una forma redonda u ovalada y no muestran ningún tipo de unión al núcleo (Fenech et al.1985).

Los puentes de cromatina (Figura 3 b) son finos puentes nucleoplasmáticos que unen los núcleos de una célula binucleada, muestran evidencia de rupturas cromosómicas originadas por cromosomas dicéntricos cuyos centrómeros fueron empujados a polos opuestos de la célula durante la anafase, el ancho de dichos “enlaces” no excede a un cuarto del diámetro de la célula (Fenech et al 2003).

Por último, los *buds* son protuberancias que muestran una unión nucleoplasmática al núcleo principal, presentan formas redondas u ovaladas. (Figura 3 c) La evidencia indica que dichos *buds* provienen de la eliminación de ADN amplificado que es resultado del intento de la célula por reparar el daño al ADN. (Fenech et al. 2002)

Los tres biomarcadores antes mencionados son indicadores de alteraciones al material genético, sin embargo los micronúcleos son la evidencia más clara y contundente de la presencia de dicho daño.

II. CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

La metodología para el desarrollo del presente trabajo se divide en cuatro secciones: ubicación del área de estudio, métodos de campo, métodos de laboratorio y métodos de gabinete.

UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El estudio fue realizado en la zona agrícola conocida como el Valle de San Quintín que forma parte del Municipio de Ensenada Baja California, México. Tiene una superficie aproximada de 87,690, de las cuales el 53% son de cultivo (Moreno et al. 2005) Abarca desde los 30°20` a los 30°50` N de latitud y 115°45` a los 116°03` de longitud en el lado oeste de la península de Baja California (Figura 4). Se localiza a 180 Km. al sur de la ciudad de Ensenada.

Por la intensidad y el tiempo de exposición a agroquímicos genotóxicos, esta zona es altamente vulnerable a sufrir de daño genético, un estudio previo realizado por Bojorquez (1999) prueba la genotoxicidad de tres agroquímicos de amplio uso en la región (Bojorquez 1999) además la aplicación de otros genotóxicos en la actividad agrícola local, como el Malatión. Bojorquez señala la falta de estudios en la población ocupacional y ambientalmente expuesta a dichos contaminantes, necesidad a la que responde el presente estudio el cual es el primero en la región y se une a los pocos que existen en el país para poblaciones agrícolas (Sánchez et al 2009)

Valle Agrícola de San Quintín

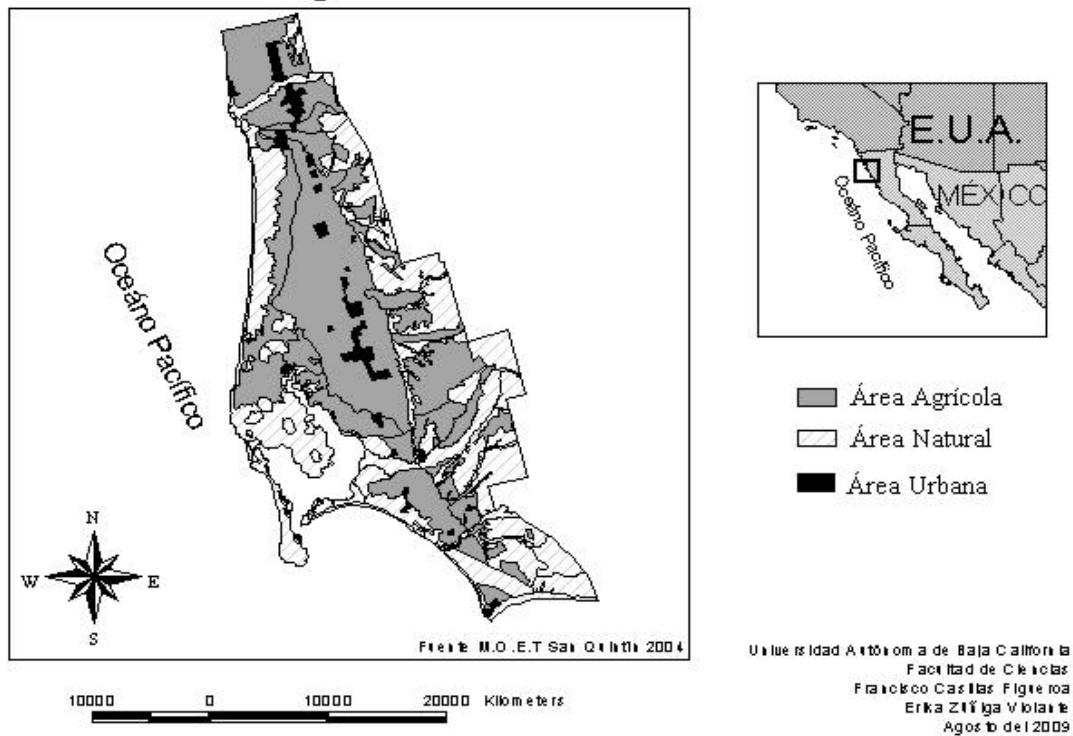


Figura 4. Mapa del Valle agrícola de San Quintín.

MÉTODOS DE CAMPO

Se diseñó un instrumento tipo cuestionario dividido en ocho secciones: Datos generales, Educación, Condiciones de salud, Historia familiar, Alimentación, Estilo de vida, Condición médica y Exposición ambiental y ocupacional a genotóxicos.

Se realizaron dos aplicaciones de dicho instrumento casa por casa en zonas aleatorias del Valle de SQ (Figura 5), la primera en enero 2007 con 22 encuestas y la segunda en abril del 2007 con 23 encuestas, como pruebas piloto para realizar ajustes al instrumento y con base en las observaciones y comentarios de los residentes y el apoyo de sociólogos, médicos y psicólogos se obtuvo un instrumento ágil y completo que proporcionó la información necesaria para el presente trabajo.



Figura 5 Aplicación de Cuestionario.

Para la aplicación del instrumento final (Anexo 1) se identificaron dos sitios de alta concurrencia en la comunidad pública rural, donde se pidió la autorización para la colaboración de los participantes al estudio. La iglesia fue visitada en el mes de mayo 2008 (Figura 6) obteniendo la participación de 22 personas y la escuela durante el mes de febrero del 2009 con un total de 21 participantes todos mayores de edad.



Figura 6 Invitación a congregación cristiana a participar en el estudio.

A cada participante se le explicó el objetivo del estudio y dieron su autorización a través del consentimiento informado (Anexo 2). Se aplicó la encuesta y se tomaron notas de las observaciones y comentarios personales de la comunidad (Figura 7).

Con base en la información obtenida en las encuestas, 26 personas participantes estuvieron expuestas ocupacionalmente a agroquímicos y 17 de la misma región, sin exposición laboral a los que se denominó casos y controles respectivamente.



Figura 7 Aplicación de la encuesta y toma de muestras.

Cada participante donó una muestra de aproximadamente 5 ml de sangre, extraída del antebrazo almacenándose en tubos vacutainer^{MR} Becton Dickinson de 6 mL con heparina de sodio y mantenida a temperatura de 20 a 25 °C para su cultivo posterior antes de las 24 horas de hecha la punción (Figura 8).



Figura 8 Métodos de campo.

MÉTODOS DE LABORATORIO

La técnica de micronúcleos por bloqueo de la citocinesis fue instalada en la Facultad de Ciencias.

A partir de agosto del 2007 se capacitó al equipo de trabajo en el desarrollo de la técnica y la lectura de las laminillas con muestras de estudiantes de la propia universidad quienes colaboraron voluntariamente en el estudio. Ya con las primeras laminillas de prueba se procedió a la revisión de las mismas en el IIBM UNAM, para verificar su correcto desarrollo. A partir de abril de 2008 después de acudir al Simposio de Genotoxicología Ambiental queda aprobada la validez de la técnica desarrollada en la Facultad de Ciencias de la UABC.

El manejo de las muestras fue el siguiente:

Las muestras biológicas se transportaron en hielera en ambiente fresco de alrededor de 20 a 25 °C hasta el laboratorio de la Facultad de Ciencias. Con base en la técnica de micronúcleos descrita por Fenech en el 2000, por cada participante se cultivaron dos muestras con 0.5 mL de sangre entera venosa en medio RPM I (SIGMA R-4130) suplementado con aminoácidos no esenciales (SIGMA M-7145), L- Glutamina (SIGMAG-6392) y 0.2ml de fitoestimulina (PHA-M, SIGMA L 8902). Posteriormente el cultivo se incubó a 37°C por 48 hrs. El proceso de división citoplasmática fue detenido por 21µl de citocalasina – B (SIGMA C-6762). Al término de las 72 horas en total se procedió a la fijación y lavado de las células con una solución de metanol y ácido acético en una proporción de 3:1 y fueron montadas en un portaobjetos teñidas con eosina y azul de metileno (Hemacolor de FisherScientific 65044/93) para su posterior visualización al microscopio óptico con un aumento de 100X.

Se contabilizaron 1000 células binucleadas para el conteo de biomarcadores de DG utilizando los criterios de conteo internacionales publicados por Fenech et al. en 2001

Se consideraron tres biomarcadores de DG: micronúcleos (MN), *buds* y puentes de cromatina (PC) (Figura 3) los cuales se pueden originar de manera espontánea o como respuesta a determinados agentes clastogénicos, y/o aneugénicos.

De los tres biomarcadores, la frecuencia de MN es el principal indicador de DG cuyos resultados se compararon con la media de MN para personas sanas establecida en la literatura de 8.8 ± 2.6 (MN/1000CB) (19).

Los detalles de la técnica así como el detalle de los reactivos y equipos usados están descritos en el Anexo 3.

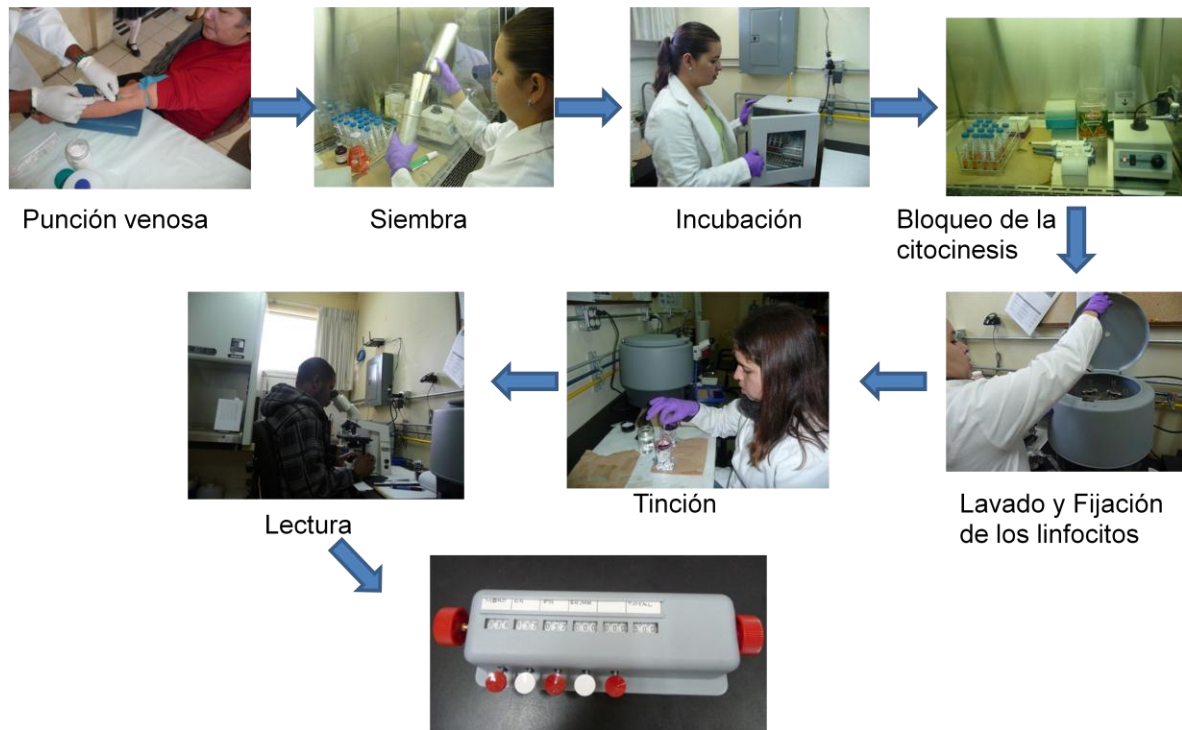


Figura 9 Métodos de laboratorio.

De las muestras 43 muestras de sangre de los participantes tres por distintas causas (contaminación, falta de muestra etc.) no pudieron ser analizadas con el mismo rigor científico por lo que fueron eliminadas y solo se consideraron 40, de las cuales son 25 expuestos ocupacionalmente y 15 ambientalmente expuestos.

MÉTODOS DE GABINETE

Se organizó la información socio-ambiental inicialmente en una hoja electrónica en el programa Excel 2009 © de forma que en los renglones se colocó cada sujeto y en las columnas las respuestas a cada una de las preguntas del cuestionario, además de los resultados de cada uno de los biomarcadores de efecto: índice mitótico (IM) micronúcleos (MN) puentes de cromatina (PC) brotes nucleares (BUDS) y la suma total

del daño genotóxico (TD). Posteriormente, para efectuar los análisis estadísticos correspondientes, se exportó la información al programa “Statistics 6.0” (Stat Soft ®).

El análisis de los datos inició con la determinación de los estadísticos básicos de las variables más importantes para posteriormente resumirlas en las tablas y gráficas que se presentan en la sección de resultados, también se calculó la similitud entre las variables para que a partir de un análisis de agregamiento (cluster analysis) obtener las variables más significativas.

Una vez separadas las variables más significativas se procedió a efectuar un análisis de significación mediante la prueba de Mann Whitney para determinar diferencias significativas entre las variables analizadas y el análisis de regresión entre los años de exposición ocupacional y el número de micronúcleos.



Figura 10 Métodos de gabinete.

III. RESULTADOS

En la tabla 1 muestra las características principales de la población de estudio.

Tabla 1 Características del grupo de estudio.

	Casos	Controles
Número de sujetos	25	15
Hombres	48%	47%
Mujeres	52%	53%
Fumadores	8%	20%
Migrantes	56%	33%
Rango de edad	19-50	20 – 33
Nivel de estudios:		
Sin estudios	3%	0%
Primaria	23%	7%
Secundaria	15%	0%
Bachillerato	39%	50%
Universidad	20%	43%

De la encuesta se sustrajeron las siguientes variables: Edad, Sexo, Trabaja en el campo, Años de trabajar en el campo, Estado de origen, Escolaridad, Fuma, Tiempo de Fumar, Tiempo de residencia, Frecuencia de trabajar en el campo, Trabajos expuestos a contaminantes, Sustancia a la que estuvo expuesto, Exposición actual a contaminantes e Ingesta de pescado. De las lecturas de laboratorio: Índice nuclear (IN), *Buds*, Puentes de Cromatina (PC), Micronúcleos, Apoptosis, Necrosis y Total de aberraciones cromosómicas (TA). Para discriminar algunas variables se realizó un análisis de similitudes (Figura 4).

Los análisis de las pruebas de factores principales y de similitud presentaron una fuerte relación entre las variables indicadoras de DG *Buds*, PC y MN con las características de la población: Trabaja en el campo, Años de trabajar en el campo, Tiempo de residencia, y Lugar de origen.

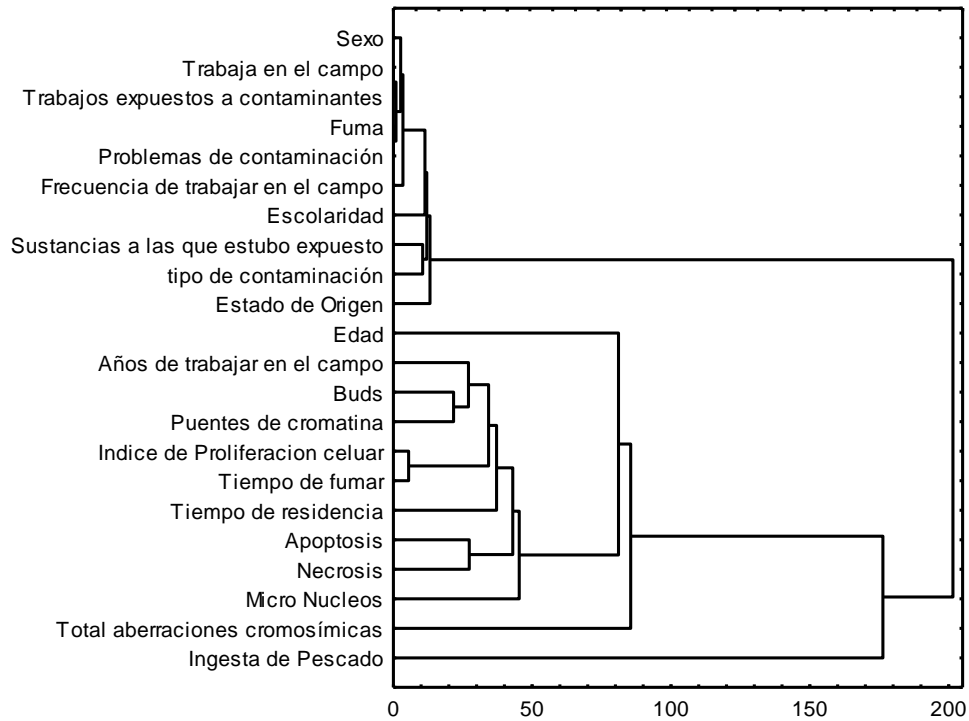


Figura 11 Dendrograma de similitudes por distancia euclidiana

El resto de las variables se consideran porque describen las características de los grupos de personas además se tomaron en cuenta comentarios hechos por los encuestados y observaciones directas del área de estudio para enriquecer la discusión de los resultados.

Tabla 2 Resultados de los indicadores de Daño Genético.

Indicadores de Daño Genético	Media	Des. Est.	Media	Des. Est.	P
	Casos		Controles		
<i>Buds</i>	11.1	± 4.9	8.2	± 4.7	0.203
Puentes de Cromatina	8.9	± 6.6	3.43	± 3.6	0.002
Micronúcleos	17.7	± 9.0	10.83	± 5.3	0.009

En la tabla 2 se observa que los sujetos que laboran en el campo sobrepasan con una diferencia estadísticamente significativa en los biomarcadores de daño, PC y MN al grupo control, ambos superan la media de MN establecida para personas sanas de 8.8 ± 2.6 (MN/1000CB) (Fenech y Morley, 1985) y, aunque en los *Buds* no se encontró una diferencia significativa los trabajadores agrícolas mantienen una tendencia superior que los controles.

Los años de trabajar en el campo y el número de MN describieron una curva de regresión de tipo exponencial con R^2 de 0.76 (Figura 12). Desde los primeros cuatro años de trabajar en el campo se detecta una frecuencia de MN en el límite para personas sanas y por cada año de labor en el campo aumenta el número de MN de manera exponencial a razón de 1 MN por cada 1.6 años de trabajo

Se efectuó el mismo análisis entre las variables de MN y Tiempo de residencia, sin embargo no se encontró un patrón consistente

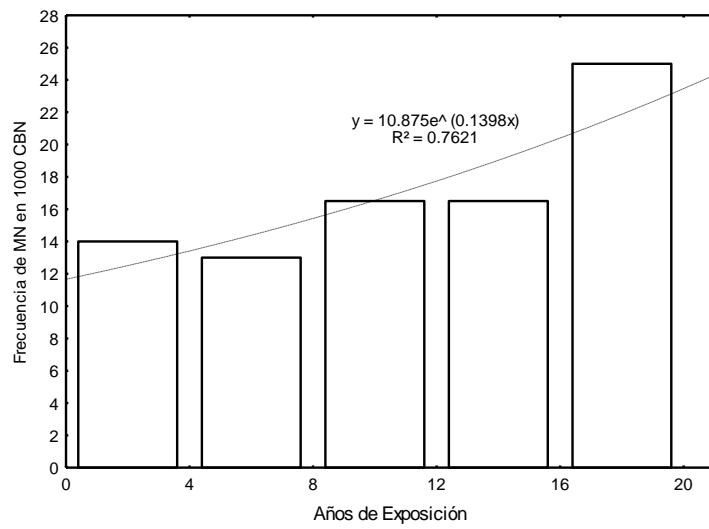


Figura 12 Frecuencia de MN vs tiempo de exposición ocupacional y función de correlación

IV. DISCUSIÓN

La actividad genotóxica de algunos agroquímicos ha sido documentada previamente (Dolara et al. 1994), diversos reportes en la literatura han demostrado efectos genotóxicos asociados a las mezclas de agroquímicos sobre los linfocitos de los trabajadores agrícolas (Paldy *et al.* 1987, Rupa *et al.* 1988, 19889, 1991, Garaj *et al.* 2001.) Diversos métodos *in vivo* e *in vitro* han mostrado que los agroquímicos tales como herbicidas, insecticidas y fungicidas ejercen efectos mutagénicos (Piperasky *et al.* 2003); un limitado número de estudios en campo abierto ha arrojado evidencias epidemiológicas que presumen el riesgo genotóxico que los agroquímicos poseen (Morety *et al.* 2000). Lo que coincide con los resultados encontrados en este trabajo donde el grupo que labora en el campo presenta cerca del doble de micronúcleos que los no expuestos laboralmente.

El grupo no expuesto ocupacionalmente, pero que reside en la región de San Quintín y por lo que está ambientalmente expuesto a los agroquímicos aplicados en los campos de cultivo adyacentes a las zonas habitadas presentó un número de micronúcleos menor al de los casos pero superior a la media para personas sana lo que es un indicador de un alto riesgo de presentar DG en la comunidad en general por exposición ambiental a agroquímicos.

La relación encontrada entre el número de micronúcleos y el tiempo de exposición ocupacional a agroquímicos sugiere que cada 1.6 años de exposición incrementa el daño en un micronúcleo. Numerosos estudios hacen énfasis en la necesidad de analizar este tipo de relaciones como lo señala Pastor *et al.* 2001, pero hasta el momento de escribir este reporte, no se han encontrado estudios que establezcan esta proporción.

Gómez Arroyo y Martínez Valenzuela en 2007 efectuaron una revisión bibliográfica de 50 trabajos de biomonitorio citogenético de personas expuestas a agroquímicos en el mundo desde 1987 al 2007 donde el 68 % de los trabajos se encontró un resultado positivo a DG. Dicho trabajo concluye que los estudios realizados por investigadores de diferentes países del mundo, aportan evidencias científicas que indican correlaciones positivas entre tiempo de exposición, dosis y DG . tal como se evidenció en el presente estudio Sin embargo, es común encontrar discrepancias en los resultados en los distintos estudios, lo cual se puede deber a la edad de las personas, al empleo de mezclas de agroquímicos, al polimorfismo genético, a las formas de aplicación, al nivel genotóxico de los compuestos, a las características de la aspersión (áreas cerradas o campo abierto) o a la interacción de estas situaciones.

Durante el trabajo de campo, fue evidente la cercanía, en ocasiones de un par de metros, que existe entre los campos de cultivo y la zona urbana, desde casas habitación hasta comercios de distintos ramos alimenticios (Figuras 13 y 14). Dichas condiciones incrementan la exposición a los agentes genotóxicos tanto de los trabajadores agrícolas como de la comunidad en general (Figura 15).



Figura 13 Casas habitación junto a invernadero.



Figura 14 Campo de cultivo junto a restorán.



Figura 15 Niño jugando en campo de cultivo.

Las encuestas y los comentarios personales de los participantes en el estudio revelaron deficiencias en el uso de agroquímicos en la región de San Quintín partiendo del almacenamiento, aplicación y tiempo de reingreso. Algunos participantes comentaron realizar actividades en el campo mientras se realizaban aplicaciones de algunos productos agroquímicos, presumiblemente agroquímicos.

Aunque existe una reglamentación por parte de la secretaría del Trabajo y Previsión social y de la secretaría de Ecología así como algunas organizaciones agrícolas promueven cursos de capacitación como la Asociación Mexicana de la Industria

Fitosanitaria (27), la falta de conocimiento, vigilancia y sanción, es la constante entre los comentarios de los trabajadores agrícolas y residentes encuestados (Figura 16 y 17) . Lo que incrementa el nivel de exposición laboral y ambiental a agroquímicos y con esto el riesgo de sufrir DG por dichos genotóxicos.



Figura 16 Envases de agroquímicos abandonados a cielo abierto.

Los resultados muestran DG tanto en residentes como en trabajadores agrícolas del Valle, sin embargo es considerablemente mayor en los trabajadores agrícolas además de concordar con un patrón exponencial relacionado con el tiempo de trabajar en el campo.



Figura 17 Trabajadoras agrícolas del Valle de San Quintín.

El que, el daño genético se presente de manera tan representativa en los trabajadores agrícolas y aumente con respecto a los años de laborar en el campo, es una muestra de que se deben reconsiderar las prácticas agrícolas, no solo en la región sino en el país ya que el 56% de los expuestos no son originarios de la región y comenzaron sus actividades agrícolas en distintos estados de la república, particularmente debe considerarse la exposición a agentes genotóxicos como los agroquímicos y las normas de seguridad y control de uso de estos.

V. CONCLUSIONES

Se encontró una relación directa entre la exposición tanto ocupacional como ambiental a agroquímicos y el DG en la comunidad de San Quintín. Lo anterior determinado por el aumento significativo de la frecuencia de MN y PC tanto en casos como en controles sin embargo el grupo de población más afectado son los trabajadores agrícolas.

La variable que muestra más significancia estadística en el DG es “Trabajar en el campo”. Por lo que es necesario mantener un monitoreo genotóxico en las poblaciones que por su ocupación laboral están en contacto con genotóxicos, como lo son los trabajadores agrícolas, así como incrementar los programas de capacitación sobre el buen uso, manejo y disposición de agroquímicos, para tomar medidas mitigantes y de prevención de DG ya que este, es un problema que impacta directamente de salud de la comunidad y de sus futuras generaciones.

El principal Producto del presente estudio es el Artículo “Daño genotóxico y exposición a agroquímicos en trabajadores agrícolas del Valle de San Quintín B. C. México” (Anexo Artículo y envío a revista PAHO)

Este trabajo fue presentado también en la modalidad oral en el simposio “La situación de los agroquímicos en México: Impactos y Perspectivas” realizado en la ciudad de Cuernavaca los días 30 de septiembre y 1 y 2 de octubre del 2009. Publicado en las memorias del mismo con ISBN en trámite. (Anexo constancia de participación).

VI. CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS A FUTURO

Este trabajo tiene el mérito de ser el primer monitoreo de la genotoxicidad en personas residentes del Valle de SQ y da continuidad al trabajo de Bojórquez ,1999 quien estudió *in vitro* la capacidad genotóxica de tres agroquímicos que se utilizaron en el Valle a finales del siglo pasado y cuya recomendación es precisamente investigar el efecto en este grupo de trabajadores agrícolas.

Con base en los resultados descritos en este trabajo, para lograr el manejo seguro de agroquímicos es necesaria la generación de normatividad y el diseño de políticas públicas orientadas a reducir, remediar y mitigar el pasivo ambiental de los agroquímicos en esta región y otras del País donde la aplicación de compuestos orgánicos altamente persistentes se practicó de manera indiscriminada y aunque actualmente muchos de ellos ya están la lista de agroquímicos prohibidos o restringidos (SEMARNAT, año), y abrir nuevas líneas de investigación que aporten información sobre la contaminación de suelos y acuíferos para plantear estrategias para la recuperación y/o restauración de los suelos agrícolas y de los acuíferos que se encuentran ya contaminados con estas sustancias.

Otro aspecto a considerar es el seguimiento y vigilancia de los casos de enfermedades relacionadas con la exposición a los agroquímicos en estos grupos altamente vulnerables como son las mujeres embarazadas, niños y ancianos que están ambiental y/o laboralmente expuestos como lo refiere el artículo de reciente publicación en un diario de circulación local (Diario El Mexicano, 2009) y los testimonios de los residentes y médicos de la región; una joven madre expresa que su hijo nació con gastrosquisis, (intestinos fuera de la cavidad abdominal) y unos meses después una

vecina dio a luz a su hijo con un problema similar, el médico que la atendió comentó que de ocho casos que ha atendido con dicho problema ella comenta “ Tengo miedo de encargar otra vez, porque no quiero pasar por lo mismo otra vez” El médico comenta que de aproximadamente ocho casos atendidos por él con dicho problema cinco son del Valle de San Quintín.

Una joven adolescente que cursa el 1er semestre de universidad obligada a cambiar de escuela por los fuertes problemas de alergia que sufría dada la cercanía de la escuela a un campo de cultivo.

Estos son solo algunos de los problemas que cada día son más cotidianos en el Valle de San Quintín y que afectan la calidad de vida de su población. El presente trabajo presenta la necesidad urgente de ampliar estudios en diferentes áreas involucradas en este problema como son salud, sociales, toxicología ambiental para plantear soluciones que involucren a los diferentes actores involucrados. Así como también la investigación de posibles fuentes alternas o potencializadores de contaminación por genotóxicos

Los resultados aquí presentados fueron entregados a los participantes del estudio de manera individual y se dio una plática para informarles de los diferentes factores que mitigan y previenen el DG. Se entregaron 130 dosis de Ácido Fólico para 3 meses y 5 dosis de Complejo B.

BIBLIOGRAFÍA

1. Albert L, Panorama de los agroquímicos en México; Revista de toxicología en línea,[Carta al editor]. Retel (Revista en internet) 2005 1-17 (Acceso5 Noviembre2008). Disponible en <http://www.sertox.com.ar/retel/n08/01.pdf>
2. Amifac, **Alianza Estratégica Con El Programa Nacional Para Jornaleros Agrícolas De La Secretaria De Desarrollo Social;**
<http://www.agronet.com.mx/cgi/articles.cgi?Action=Viewhistory&Article=3&Type=A&Datemin=2005-03-01%2000:00:00&Datemax=2005-03-31%2023:59:59>
Actualizado 8 Agosto 2009. Acceso el 9 de agosto 2009.
3. Barron M, Barbosa L. San Quintín: El Gran Valle; 1ª ed., Ensenada B.C. México, Castañeda;1981
4. Bojorquez Rangel Guillermo, Efectos Genotóxicos de Azinfos Metílico y OxidemetonMetil: Insecticidas de Amplio Uso en Baja California , (Tesis Maestría). Universidad Autónoma de Baja California; 1994.
5. Countryman PI, Heddle JA. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat Res* 1976; 41: 321-332.
6. Cremlyn, R. (1979). Pesticides, Preparation and Mode of Action. John Wiley & Sons, 360 pag. N.Y., E.U.A.
7. Cremlyn, R. (1990). Agroquímicos Modernos y su Acción Bioquímica. Limusa, 356 pag. México.
8. Dolará P., Torricelli F. y Antonelli N. (1994). Cytogenetic effects on human lymphocytes of a mixture of fifteen pesticides commonly used in Italy. *Mutat. Res.* 325, 47–51.
9. Espejel, I., Hernández, A., Riemann, H., & Hernández, L. (2005). Propuesta para un nuevo municipio con base en las cuencas hidrográficas Estudio de caso: San Quintín, B.C. *Gestión y Política Pública* , XIV (1), 129-168.
10. Estrada, M. (1998). Uso Moderado de Agroquímicos en México. Memorias, Ciclo de conferencias "Hacia una renovación ambiental en México". Facultad de

Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México.

11. Fenech M, Bonassi S, Turner J, Lando C, Ceppi M, Chang WP, Holland N, Kirsch-Volders M, Zeiger E, Bigatti MP, Bolognesi C, Cao J, De Luca G, Di Giorgio M, Ferguson LR, Fucic A, Lima OG, Hadjidekova VV, Hrelia P, Jaworska A, Joksic G, Krishnaja AP, Lee TK, Martelli A, McKay MJ, Migliore L, Mirkova E, Müller WU, Odagiri Y, Orsiere T, Scarfì MR, Silva MJ, Sofuni T, Surralles J, Trenta G, Vorobtsova I, Vral A, Zijno A Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes. Results of an international slide-scoring exercise by the HUMN project.; *Mut Res* 2003; 534: 45-64
12. Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E; HUman MicronNucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res.* 2003 10;534(1-2):65-75.
13. Fenech M. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology *Toxicology* .2002;181(182) : 411-/416
14. **Fenech M. Morley AA. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mut Res* 1985;147:29-36.**
15. Fenech Michael, The in vitro micronucleus technique; *Mutation Research* 455 (2000) 81–95
16. Fenech, M., & Crott, J. (2002). Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear *buds* induced in folic acid deficient human lymphocytes—evidence for breakage–fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutation Research* (504), 131-136.
17. Gallo MA, Lawrick LJ. Organic phosphorus pesticides. En: Hayes J, Laws E, Ed. *Handbook of pesticide toxicology*. San Diego, (CA): Academic Press; 1991: 1013-1024
18. Garaj–Vrhovac V. y Zeljezic D. (2001). Cytogenetic monitoring of Croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. *Toxicology* 165, 153–162.

19. Garaj-Vrhovac V. y Zeljezic D. (2002). Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and comet assay. *J. Appl. Toxicol.* 22, 249–255.
20. J.A. Moreno Mena L.M. Niño Contreras Nivel de bienestar de los trabajadores agrícolas del Valle de San Quintín y Mexicali, *Ciencias Marinas* (2004), 30 (1A):143 -153
21. Lara, Guillermo, Agroquímicos en la biodiversidad del suelo , su comportamiento como contaminantes, <http://www.biociencias.org/odisea/agroquímicos/> (Junio 2008)
22. MARTÍNEZ-VALENZUELA Carmen, GÓMEZ-ARROYO Sandra. Riesgo genotóxico por exposición a agroquímicos en trabajadores agrícolas. *Rev. Int. Contam. Ambient* [periódico en la Internet]. 2007 Dic [citado 2009 Ago 09]; 23(4): 185-200. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992007000400004&lng=es&nrm=iso.
23. Martinez-Valenzuela, Carmen Gomez-Arroyo, Sandra. Riesgo genotóxico por exposición a agroquímicos en trabajadores agrícolas. *Rev. Int. Contam. Ambient* [online]. 2007, vol.23, n.4 [citado 2009-09-21], pp. 185-200 .
24. Micheline Kirsch-Volders a,*, Toshio Sofuni b, Marilyn Aardemac, Silvio Albertini d, David Eastmond e, Michael Fenech f, Motoi Ishidate, Jr. g, Stephan Kirchner d, Elisabeth Lorge h, Takeshi Morita i, Hannu Norppa j, Jordi Surrallés k, Annelies Vanhauwaert a, Akihiro Wakata l Report from the in vitro micronucleus assay working group Environmental and Molecular Mutagenesis 35:167-172 (2000)
25. Miguez V., Sandra **Los efectos de los agroquímicos y otros contaminantes en la salud. Hallado en** <http://www.ecoportel.net/content/view/full/52566>. **Acceso el 9 agosto 2009.**
26. Moreno-Mena, J., & López-Limón, M. (2005). Desarrollo agrícola y uso de agroquímicos en el valle de Mexicali. *Estudios Fronterizos UABC* , 6, 119-153

27. Moreno-Mena, J., & Niño-Contreras, L. (2004). El nivel de bienestar de los trabajadores agrícolas de San Quintín y Valle de Mexicali, Baja California. *Ciencias Marinas* , 30 (1), 133-143
28. Moretti M., Villarini M., Scassellati-Sforzolini G. y Pasquini G. (2000). Pesticide-induced primary DNA damage in peripheral blood leukocytes of farm workers evaluated by the computerized comet assay. *Biomarkers* 5, 192–204.
29. Noriega Ortega Blanca, Aldana Armienta Ernesto ,Chávez Fonseca Maria Guadalupe, Cervantes Mexia Erica, Ojeda Figueroa Laura Elena, Quevedo López Iliana Yanet. Valoración de genotoxicidad con determinación de micronúcleos en ratones expuestos a metamidfos. *BolMed*, 2005;1(8-9):13-17
30. Ortega J, Espinosa F, López L. El control de los riesgos a la salud generados por los agroquímicos organofosforados en México: Retos ante el tratado de libre comercio; *Salud Pública de México* 1994;36(6):1-15.
31. Osornio-Vargas, A. (1995). Alteraciones cromosómicas inducidas por el polvo casero de la ciudad de Mexicali, Baja California / Chromosomic alterations induced by domestic dust in the city of Mexicali, Baja California . *Revista del Instituto Nacional de Cancerología* , 41 (4), 196-204.
32. Palacios-Nava Martha Edilia, Paz-Román Pilar, Hernández-Robles Silvia, Mendoza-Alvarado Laura, Sintomatología persistente en trabajadores industrialmente expuestos a agroquímicos organofosforados salud pública de México 1999.41(1)55:61
33. Paldy A., Puskás N., Vincze N. y Hadházi M. (1987). Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 187, 127–132.
34. Pastor Susana, Gutiérrez Sara, Creus Amadeu, Xamena Noel, Piperakis, Marcos Ricard. Cytogenetic analysis of Greek farmers using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and buccal cells, *Mutagenesis* 2001;16(6)539:545.
35. Piperakis S., Petrkou E., Tsilimigaki S., Sagnou M., Monogiudis E., Haniotakis G., Karkaseli H. y Sarikaki E. (2003). Biomonitoring with the comet assay of Greek greenhouse workers exposed to pesticides. *Environ. Mol. Mutagen.* 41, 104–110.

36. Plan De Manejo De Envases Vacíos De Agroquímicos Y Afines (Plamevaa) “Conservemos Un Campo Limpio” Asociación Mexicana De La Industria Fitosanitaria A.C. Julio 2007 -Versión 2 SEMARNAT
37. Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente Septiembre 2004 (Revista en internet) Sep (Acceso 10 Diciembre 2008) Disponible en <http://www.revistaecosistemas.net/pdfs/50.pdf>
38. Revista de Biología Tropical (Revista en internet) 2004 Dic 15 (Acceso 2 marzo2009) 52(3): 601-609. Disponible en http://www.accessmylibrary.com/coms2/summary_0286-32016706_ITM
39. Rupa D.S., Reddy P.P. y Reddi O.S. (1989). Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of cotton field workers exposed to pesticides. *Environ. Res.* 49, 1–6.
40. Rupa D.S., Reddy P.P. y Reddi O.S. (1991). Clastogenic effect of pesticides in peripheral lymphocytes of cotton–field workers. *Mutat. Res.* 261, 177–180.
41. Rupa D.S., Rita P., Reddy P.P. y Reddi O.S. (1988). Screening of chromosomal aberrations and sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of vegetable garden workers. *Hum. Toxicol.* 7, 333–336.
42. Sánchez- Salinas E. , Ortiz Hernández M.L., Olvera- Velona A. y Folch M.J.L. (Edits).2009. Compendio Simposio La situación de los agroquímicos en México: Impactos y perspectivas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos,
43. Stefano Bonassi, Michel Fenech, Cecilia Lando, Yiping Lin, Marcello Ceppi, Wushou Peter Chang, Nina Holland Micheline Kirsch-Volders, Errol Zeiger, Sadayuki Ban, Roberto Barale, Maria Paola Bigatti, Claudia Bolognesi, Cao Jia, Marina Di Giorgio, Lynette R. Ferguson, Aleksandra Fucic, Omar García Lima, Papatrizia Hrelia, Ayyathan P. Krishnaja, Tung Kwang Lee, Lucia Migliore, Ludmilla Mickhalevich, Ekaterina Mirkova, Pasquale, Mosesso, Wolfgang Ulrich Müller, Youichi Odagiri, Maria Rosaria Scarfi, Elena Szabova, Irena Vorobtsova, Anne Vral and Andrea Zijno. Human MicroNucleus Project: International Database Comparison for Results With the Cytokinesis-Block Microneucleus Assay in Human Lymphocytes: I. Effect of Laboratory Protocol, Scoring Criteria,

- and Host Factors on the Frequency of Micronuclei. *Environmental and Molecular Mutagenesis*; 2001; Vol. 37 pág, 31- 45
44. Torres D, Capote T; Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental; *Ecosistemas* 2004;13 (3): 2-6.
45. Vindas R , Ortiz F, Ramírez V, Cuenca P. Genotoxicidad de tres agroquímicos utilizados en la actividad bananera de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52 (3): 601-609, 2004
46. Zalacain M, Sierrasesúmaga L, Patiño A. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos *An. Sist. Sanit. Navar* 2005;28(2)227:236 .(Revista en internet): (Acceso 2 marzo2009 227-236. Disponible en <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2/pdf/07-EI%20ensayo%E2%80%A6.pdf>

Anexos

ANEXO 1

CUESTIONARIO

IMPORTANTE: Este cuestionario es una herramienta de investigación para un estudio que la UABC efectúa para conocer la relación que existe entre de salud de las personas que residen en las proximidades de las zonas agrícolas aledañas al Valle de San Quintín con la posible exposición a sustancias citotóxicas y genotóxicas como los insecticidas, herbicidas y metales pesados como el mercurio, cadmio y cromo para desarrollar recomendaciones para el cuidado de la salud y el manejo de agroquímicos y otras sustancias que pudieran ser nocivas para las personas residentes. Es por esto que le pedimos su colaboración garantizándole que la información que nos proporcione tendrá un carácter **ABSOLUTAMENTE CONFIDENCIAL** y solo será usada con fines de investigación, en formato de promedios o porcentajes, sin hacer alusión a datos personales o individuales. Anticipadamente: **GRACIAS POR SU COLABORACIÓN.**

Datos Generales

1) Nombre: _____ Fecha ___/___/2007.

Nombre(s) Apellido Paterno Apellido Materno día / mes/ año

2.) Edad(____) Fecha de nac. ___/___/____ Lugar de origen _____

Día Mes Año

Dirección: _____

Calle Número Colonia Ciudad Estado

Tel: _____ Correo electrónico _____

Estado civil: soltero() unión libre() casado() divorciado() viudo() separado()

Educación:

- 1. ¿sabe alguna otra lengua aparte del español? Si() ¿cuál?_____ No()
- 2. ¿sabe leer y escribir? Si() No() ¿terminó la primaria? Si() No() ¿termino la secundaria? Si() No()
¿terminó la prepa? Si() No() ¿terminó alguna carrera técnica? Si() cuál?_____ No()
¿terminó alguna carrera universitaria? Si() ¿cuál?_____ No()

Condiciones de Salud

Peso en kilos_____ Estatura_____ Presión Arterial_____ / _____

Queja Principal: Favor de describir cualquier problema de salud que esté experimentando actualmente ya sea físico, emocional o mental. _____

Historia Familiar: Favor de indicar si siguen viviendo los familiares y mencionar la causa de muerte, asimismo nombrar las enfermedades conocidas de cada quién.

Familiar	¿Vive?		Causa de muerte	Enfermedades conocidas
	si	no		
Madre				
Abuela				
Abuelo				
Tio1				
Tio2				
Tio3				
Tia1				
Tia2				
Tia3				
Padre				
Abuela				
Abuelo				

Tio1				
Tio2				
Tio3				
Tia1				
Tia2				
Tia3				
Hermano1				
Hermano2				
Hermano3				
Hermano4				
Hermana1				
Hermana2				
Hermana3				
Hermana4				

Alimentación

1. ¿Qué constituye para Usted una comida sana? ¿Cómo es una dieta sana? ¿en qué consiste una dieta sana?

2. ¿Logra comer de esta forma? Siempre() Casi Siempre() Pocas Veces() Casi Nunca() Nunca()

3. ¿Qué líquido toma cuando tiene sed? Agua () Café() Te() Soda de Sabor() Soda Coca-Cola() Agua fresca de sobrecito () Agua fresca de fruta natural() Otro(especifique)_____

4. ¿Cuanta agua toma cada día? _____

5. ¿Qué acostumbra desayunar? _____

6. ¿En qué consiste su comida de mediodía por lo regular? _____

7. ¿En qué consiste su cena normalmente? _____

Opciones alimentarias

Cuántas porciones come a diario de:

8. Fruta 0-1() 2-3() 4-6()

9. Verdura (espinacas, lechuga, verdolaga, brócoli, repollo, coliflor) 0-1() 2-3() 4-6()

10. Grano (pan, tortillas, cereal, arroz, sopa de pasta) 0-1() 2-3() 4-6()

11. Productos lácteos (leche, yogurt, queso, crema) 0-1() 2-3() 4-6()

12. Carne (res, pollo, cerdo) 0-1() 2-3() 4-6()

13. Pescados o mariscos 0-1() 2-3() 4-6()

14. Piezas de huevo 0-1() 2-3() 4-6()

15. Frijoles 0-1() 2-3() 4-6()

16. Semillas como nueces cacahuates, piñones, almendras 0-1() 2-3() 4-6()

17. Grasa(aceite, manteca o mantequilla) 0-1() 2-3() 4-6()

Preferencias alimentarias

18. ¿Le gusta comer fruta? Si() No() Muy poco()

19. ¿Le gusta comer verdura (espinacas, lechuga, verdolaga, brócoli, repollo, coliflor)? Si() No() Muy poco()

20. ¿Le gusta grano (pan, tortillas, cereal, arroz, sopa de pasta)? Si() No() Muy poco()
21. ¿Le gusta consumir productos lácteos (leche, yogurt, queso, crema? Si() No() Muy poco()
22. ¿Le gusta comer carne roja (res, pollo, cerdo) Si() No() Muy poco()
23. ¿Le gusta comer pescados o mariscos? Si() No() Muy poco()
24. ¿Le gusta comer huevo? Si() No() Muy poco()
25. ¿Le gusta comer semillas (nueces, cacahuates, piñones, almendras) Si() No() Muy poco()
26. ¿Le gusta guisar sus alimentos o agregarles grasa (aceite, mantequilla, manteca)? Si() No() Muy poco()

Conducta relacionada con la alimentación

1. ¿Cómo está su apetito?: _____

2. ¿Hay veces que come fuera de su casa (en la calle o en restaurante)?
No() Si() ¿Cuántas veces por semana?()
¿Qué acostumbra comer en estos casos? _____
3. ¿Cuántas veces por semana deja de desayunar? Casi nunca() 1-2() 3-4() 5 o más()
4. ¿Cuántas veces por semana deja de comer al mediodía? Casi nunca() 1-2() 3-4() 5 o más()
5. ¿Cuántas veces por semana deja de cenar? Casi nunca() 1-2() 3-4() 5 o más()
6. ¿Suele comer un solo alimento por periodos o temporadas (algo que se le antoje mucho)
Explique: _____

Recursos y acceso para la alimentación

1. ¿Le alcanza su dinero para comprar los alimentos que desea comer? Si() No()
2. ¿Qué alimentos compraría si tuviera suficiente dinero? _____

3. ¿Qué tan lejos tiene que ir para comprar sus alimentos? _____

Estilo de vida

4. ¿Fuma usted? No() Si() ¿Cuánto? _____ ¿Desde cuando? _____
5. ¿Consume alcohol? No() Si() ¿Cuánto? _____ ¿De qué tipo? _____
6. ¿Toma otra cosa? No() Si() ¿Cuál? _____ ¿Cuánto? _____
7. ¿Tiene alguna rutina de ejercicio aparte de su trabajo normal? No() Si() ¿Cuál? _____

2. ¿Toma algún medicamento? No () Si () Cuál? _____

____ ¿Toma vitaminas u otro suplemento dietético? No () Si () Cuál? _____

3. ¿Ha subido o bajado mucho de peso en los últimos 6 meses? No () Si ()
¿Porqué? _____

Exposición Ambiental y Ocupacional a la Contaminación

1. ¿Cuánto tiempo hace que vive en el Valle de San Quintín?

2. ¿Ha trabajado Usted en las labores del campo? No () Si () ¿Desde cuando? _____ ¿Con qué frecuencia se dedica a las labores del campo? Diario () Una semana al mes () Un mes al año () Dos o tres meses al año () De 4 a seis meses al año ()

3. Si ha trabajado en labores del campo, ¿qué actividades ha desarrollado? Barbecho () Siembra () Riego () Fertilización () Desyerbar () Fumigación () Pizca () Empaque ()

4. ¿Ha trabajado Usted en la Pesca? No () Si () ¿Desde cuando? _____ ¿Con qué frecuencia se dedica a la pesca? Diario () Una semana al mes () Un mes al año () Dos o tres meses al año () De 4 a seis meses al año ()

5. ¿Ha tenido que hacer trabajos en el que usted se haya expuesto a sustancias contaminantes? No () Si ()
Describa las circunstancias de ese trabajo y a que se expuso. _____

6. ¿Sabe si actualmente se encuentra expuesto a materiales o sustancias peligrosas para la salud?

No () Si () ¿Cuáles? _____

¿Sabe si existen problemas de contaminación en esta zona donde usted vive? No () Si ()
¿Cuáles? _____

7. ¿Qué medidas deberían tomarse según su criterio para cuidar la salud y protegerse de la contaminación ambiental? _____

8. ¿Tiene usted alguna recomendación, observación o comentario que agregar _____

Gracias por su tiempo y sus valiosas respuestas

Anexo 2

Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO.



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN SOBRE EFECTOS EN LA SALUD POR EXPOSICIÓN A CONTAMINANTES



Título del protocolo:

FACTORES QUE INCIDEN EN DAÑO GENOTÓXICO EN RESIDENTES DEL VALLE DE SAN QUINTÍN

Investigador Principal: María Evarista Arellano García

Nombre del participante _____

DESCRIPCIÓN / OBJETIVO DEL ESTUDIO

A usted se le está invitando a participar a formar parte del grupo CONTROL de personas no expuestas a agroquímicos en un estudio de investigación que tiene como objetivos:

1. Determinar el nivel daño genético en las células sanguíneas de personas que viven en las comunidades rurales de Baja California para relacionarlo la exposición de estas personas a sustancias contaminantes como insecticidas, herbicidas y otros que pudieran afectarlos por trabajar en las labores del campo o por vivir cerca de los campos de cultivo.
2. Evaluar el estado general de salud mediante la elaboración de historia clínica y niveles de exposición ambiental con base en encuestas dirigidas a las personas residentes de las inmediaciones de las zonas agrícolas de San Quintín y Valle de Mexicali.

Antes de decidir si desea participar en este estudio, usted debe comprender el objetivo de la investigación así como los riesgos y beneficios que esto tiene como consecuencia para usted y para otros pacientes. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase en la libertad de preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar las dudas que tenga respecto al estudio o al procedimiento.

Este documento contiene información detallada sobre el estudio de investigación. Una vez que ha comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre sus antecedentes médicos, y otros datos sobre la salud de sus familiares más cercanos. También necesitamos saber si por su trabajo en el campo ha estado en contacto con sustancias tóxicas (insecticidas, herbicidas y metales pesados), sus hábitos y sus preferencias en la comida, así como la forma en que cuida su salud.

Será también necesario en caso de que decida aceptar participar en este estudio, tomar sus datos de presión arterial, peso, estatura, una muestra de sangre mediante punción en la vena de su brazo y dos muestras de orina, para lo cual vamos a entregarle previamente dos recipientes para obtenerlas.

BENEFICIOS DEL ESTUDIO

En estudios realizados anteriormente por otros investigadores se ha observado que la mayoría de las enfermedades actuales como la alta presión, diabetes, algunos tipos de cáncer, entre otras enfermedades conocidas, se relacionan con los efectos tóxicos de los contaminantes como arsénico, mercurio, cadmio, insecticidas, herbicidas entre otras sustancias tóxicas, por lo que con este estudio se pretende documentar el efecto que estos agentes genotóxicos tienen en la salud, con base en determinaciones que provean evidencias lo suficientemente sólidas, para dar seguimiento y desarrollar estrategias que permitan atender la salud de personas que por su trabajo, o por vivir cerca de zonas agrícolas o industriales, se encuentran expuestas a sustancias tóxicas y por lo tanto conocer e informar a estas personas sobre su situación para ayudarles a prevenir sus efectos y los costos en cuidados médicos por las secuelas de la toxicidad en las células sanguíneas y otros daños en la salud.

Con este estudio conocerá de manera certera si usted tiene algún tipo de riesgo en su salud por las sustancias a las que ha sido expuesto por su trabajo en las labores del campo o por vivir cerca de los campos de cultivo, también se espera que este estudio permita que en un futuro otras personas que residen y trabajan en los campos de cultivo puedan beneficiarse del conocimiento obtenido y tomar medidas precautorias para protegerse de la toxicidad.

RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

Este estudio consta de las siguientes fases:

- 9 La primera implica el acopio de su historial médico, nutrición y antecedentes de exposición a sustancias tóxicas por su trabajo en el campo y por vivir cerca de las zonas agrícolas.
- 9 La segunda, consistirá en el acopio de las muestras de sangre y orina.
- 9 La tercera, será el análisis en el laboratorio de las muestras de sangre y orina para determinar los niveles de contaminantes presentes en la orina y el grado de daño citotóxico y genotóxico en los leucocitos de sangre.

No se conoce hasta ahora que se tenga algún tipo de riesgo para la salud por los procedimientos que se utilizarán en el estudio.

En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario que requiera atención médica, ésta se le brindará en los términos que siempre se le ha ofrecido.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

La participación en este estudio es voluntaria y por tanto puede usted decidir participar o no en esta investigación, sin estar sujeto a alguna sanción y sin que se vea afectada la atención médica presente y futura en las instituciones de salud pública.

Si usted decide participar, en cualquier momento podrá cambiar de opinión y retirarse del estudio.

PAGO

Usted no recibirá pago alguno por su participación en este estudio.

COSTOS ADICIONALES

No habrá costos adicionales para usted como resultado de su participación en este estudio. Ninguna de las pruebas de laboratorio, o tendrán algún costo para usted.

CONFIDENCIALIDAD

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

DERECHOS DE LOS PARTICIPANTES

Si tiene alguna duda relacionada con la investigación mientras ésta se realiza, podrá contactar al Dr. Raúl Baptista de la Escuela de Ciencias de la Salud en Ensenada y la M.C. Evarista Arellano de la Facultad de Ciencias en Ensenada de la UABC para que sus inquietudes sean resueltas.

CONSENTIMIENTO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos; sin embargo, también entiendo que mis datos personales no serán publicados y que serán mantenidos con estricta confidencialidad.

Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante o representante legal

Fecha

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o representante):

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuesta, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

ANEXO 3

TÉCNICA DE MICRONÚCLEOS POR BLOQUEO DE LA CITOQUINECIS EN LEUCOCITOS HUMANOS

Arellano Evarista- Ruiz Balam

Introducción

La genotoxicidad se define como la alteración o daño en el material hereditario, producido por agentes ambientales físicos químicos o biológicos. Para detectar daño al ADN se han desarrollado, desde pruebas bioquímicas y espectrofotométricas –que son muy costosas- hasta las pruebas citogenéticas y las basadas en la sedimentación del ADN dañado. Según Fenech et al. (2000), casi todas las pruebas o bien son poco sensibles o muy costosas, hasta que se desarrolló el ensayo de micronucleos. (Fenech et al, 1999; Fenech, 2000)

Los micronucleos, como su nombre lo indica, son masas de cromatina que tienen la forma de pequeños núcleos y que aparecen cerca del núcleo principal en las células interfásicas durante la mitosis. Los micronucleos (MN) se pueden originar de manera espontánea o como respuesta a determinados agentes clastogénicos, los cuales se definen como aquellos que producen daño directo a los Cromosomas y/o aneugénicos cuyos efectos se manifiestan en el huso mitótico durante la división celular, resultando de la pérdida de fragmentos Cromosómicos y/o Cromosomas enteros (Fenech y Morley, 1985). Las roturas Cromosómicas darán lugar a fragmentos Cromosómicos acéntricos, que al no disponer de centrómero no se incluirán en los núcleos hijos durante la división celular, los cuales al no poder unirse al huso mitótico durante la anafase, estos fragmentos se rodean de membrana nuclear y aparecen en el citoplasma como pequeños núcleos.

La técnica del ensayo de micronucleos presenta una serie de ventajas generales: es una técnica sencilla, relativamente rápida y de costo reducido; permite trabajar con células sanguíneas; permite valorar efectos pasado bastante tiempo después de la exposición, aunque puede también tener diferentes factores de confusión como son el sexo y la edad entre otros (Fenech et al., 2001)

Equipo

En cuanto al equipo requerido para instalar la técnica de micronucleos, es recomendable contar con una campana de flujo laminar, aunque también puede usarse una simple mesa con una cubierta de vidrio lo suficientemente grande para trabajar en condiciones de esterilidad con la ayuda de un mechero durante el proceso de siembra de los cultivos y en la fase de bloqueo de la citocinesis.

Para garantizar la proliferación de células en los cultivos una incubadora sencilla, que pueda mantener la temperatura constante a 37 °C, si no tiene una, una caja de metal, madera o vidrio rodeada de foam, espoja de fibra de vidrio o simplemente cartones de huevo vacíos y utilizando focos de bajo wataje (20, 30 wats), servirán para regular la temperatura de los cultivos a los 37 °C requeridos.

No obstante, es imprescindible contar con una centrífuga para el proceso de lavado y un refrigerador para mantener a salvo los reactivos que así lo requieran.

Reactivos

1. Medio de cultivo RPM1-1640. El medio de cultivo se puede preparar si se adquiere el SIGMA R-4130, al cual hay que añadirle bicarbonato de sodio (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/R4130>), el cual es muchísimo más económico que el Sigma R-5886, que viene listo para usarse, si se va a trabajar con pocas muestras, de 20 a 50 cada vez, conviene más comprar R5886, que viene listo para usarse. (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/R5886>)
2. Aminoácidos no esenciales, con número de catálogo SIGMA M-7145 (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/M7145>)
3. L-Glutamina SIGMAG-6392. (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/G6392>)
4. Fitohemaglutinina (PHA-M) de GIBCO 10576-015, distribuida por Invitrogen (<https://catalog.invitrogen.com/index.cfm?fuseaction=viewCatalog.viewProductDetails&productDescription=393>).

También puede usarse la de SIGMA con número de catálogo (L8902), que viene en polvo liofilizado para preparar con agua estéril. También es Phytohemagglutinin PHA-M, probada para cultivos (culture tested)

(<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/SearchResultsPage/PricingAvailability/SIGMA;L8902>)

5. Citocalasina B SIGMA C-6762

(<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/C6762>) .

6. Metanol Baker
7. Acido acético
8. Tripsina, de SIGMA con número de catálogo T5266. (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/T5266>). Se prepara la solución Stock al 0.05% con: 0.1g. de tripsina, 1.6g de NaCl, 0.08g de KCl, 0.2 g. de dextrosa, 0.116 g de NaHCO₃ y 0.04 de EDTA (el disódico), debe asegurarse que todo sea Grado reactivo
- 9.
10. Agua esteril
11. NaCl
12. KCl
13. NaHCO₃. Baker 3506-20
14. Hemacolor de FisherScientific. Con número de cartálogo 65044/93 Colorante que contiene eosina, azul de metileno y fijador de metanol y acido acético 3:1. Está listo para usarse tal y como viene.
https://www.fishersci.com/wps/portal!/ut/p/_s.7_0_A/7_0_1OC/.cmd/ad/.ar/sa.PortletNAVAction/.c/6_0_CH/.ce/7_0_A8D/.p/5_0_32H/.d/0?ru=http%3A%2F%2Fprodwcserver%2Fwebapp%2Fwcs%2Fstores%2Fservlet%2FFisherItemDisplay&catalogId=29104&productId=2803601&parentProductId=4651739&langId=-1&distype=0&fromCat=yes&catCode=ALL&brCategoryId=null&hlpi=true&highlightProductsItemsFlag=true&fromSearch=Y

Materiales Diversos y Consumibles

1. Jeringas de 5 mL
2. Tubos vacutainer heparinizados (heparina de sodio) de 6 mL
3. Torundas de algodón
4. Guantes de latex o de nitrilo
5. Liga para el brazo
6. Micropipeta de 0-200 UL
7. Micropipeta de 100 a 1000 UL
8. Micropipeta de 1 a 5 mL
9. Puntas para las micropipetas y cajas para esterilizarlas
10. Tubos para cultivo cónicos de 15 mL
11. Tubos para centrífuga de fondo redondo de 15 mL
12. Pipetas Pasteur

13. Portaobjetos

Procedimiento

1. Extracción de sangre

Se requiere extraer sangre venosa completa, aproximadamente 1ml por tubo por individuo, la persona debe estar de preferencia con un ayuno mayor a 6 horas. Si se va a hacer una curva dosis-respuesta será necesario considerar colectar la cantidad que se necesite. Además si se requiere para otros exámenes, como determinación de metales en sangre, biometría hemática u otras cosas, deberá tomarse en cuenta la cantidad necesaria.

- a. Para extraer la sangre, previamente se deberá heparinizar (heparina de 1000U) la jeringa. Esto significa esparcir por todas las paredes del tubo de la jeringa la heparina. También se puede usar tubo vacutainer previamente heparinizado (capuchón verde). La heparina, es un anticoagulante a y no deberá usarse ningun otro anticoagulante como EDTA (como los tubos heparinizados de tapon lila), pues no sirve para micronucleos, ya que se rompen las membranas.
- b. La sangre debe ser fresca, máximo puede ser conservada por algunas horas hasta un máximo de 24 horas. Si requiere traslado, no colocar la sangre en contacto con hielo, puede trasladarse en una hielera de unicel con colchoncillos congelados, papel periódico y luego la gradilla con las muestras de sangre.
- c. Un aspecto importante a considerar es que las mujeres, dependiendo de su ciclo menstrual, pueden afectar el funcionamiento del sistema, dado que durante el periodo menstrual la proliferación se ve disminuida y esto puede aparentar que el sistema no esté funcionando adecuadamente. Es mejor tener donadores varones y/o niños



2. Siembra del Cultivo

Se requieren tubos para cultivo cónicos de plástico estériles con tapadera. El cultivo deberá prepararse con las siguientes proporciones por cada tubo de cultivo:

6.3 ml de medio suplementado¹

0.2 ml de Phytohemagglutininna²

0.5 ml de sangre

7.0 ml en total en cada tubo

¹ Laboratorios SIGMA (#catálogo: R4130), vienen en frascos para diluir a un litro se sugiere usar medio líquido (#catálogoR5886) que ya viene con bicarbonato pero al que hay que adicionarle glutamina (0.3 gr/litro de glutamina, esta última viene ya en frascos para resuspender con 10ml de agua estéril). Se puede verificar en: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/R4130>

² Lab GIBCO (#catálogo: 10576-015) se resuspende en 10 ml de agua destilada esteril, se puede esterilizar en autoclave o con un filtro de jeringa de 0.22 μ de acetato de celulosa. Cuidar de no agitar. Ahora se consigue ya lista para usarse en la compañía Invitrogen busca en la liga <https://catalog.invitrogen.com/index.cfm?fuseaction=viewCatalog.viewProductDetails&productDescription=393>



Figura 1. La siembra debe efectuarse en condiciones de esterilidad, de preferencia en una campana de flujo laminar

- a. Si no se consigue medio suplementado, este se suplementa con un 1% de L-Glutamina y un 1% de aminoácidos no esenciales. Antes de suplementarlo se coloca en baño maría a 37 °C junto con el recipiente que contiene los aminoácidos no esenciales.
- b. Una vez que tenemos todos los reactivos, suplementamos el medio. Cada tubo requerirá de 6.3 ml; por lo tanto, nos aseguramos de preparar cantidad más o menos adecuada para no desperdiciar reactivos, según el número de muestras de sangre que debemos sembrar.
- c. Preparamos cada tubo de cultivo colocando ahora si las proporciones indicadas en el el paso 2. (6.3 de medio suplementado, 0.2 ml de Phytohemagglutininn y 0.5 ml de sangre entera)
- d. Cada tubo se mezcla suavemente hasta que todo quede bien integrado y se coloca sobre una gradilla. para llevarlo a incubar a 37°C por 48 horas



Figura 2. Muestra el estado de los cultivos: (a) 24 horas después de la siembra, (b) 48 horas después de la siembra antes de efectuar el bloqueo de la citocinesis y (c) 72 horas después de la siembra, antes de cosechar las células

3. Bloqueo de la citocinesis.

Una vez que los núcleos celulares de los leucocitos se han dividido, necesitamos frenar el proceso de duplicación celular, para lograr que las membranas celulares se mantengan sin dividir. Para bloquear la citocinesis de células en los tubos de cultivo es necesario:

- a. Agregar 3UL/ml de Cytocalasina-B³; como los tubos con el cultivo de células son de 7 ml, entonces debemos agregar en total $3 \times 7 = 21$ UL de Cytocalasina-B a cada tubo. Se debe tener cuidado de mezclar suavemente todo el contenido del tubo para que el bloqueo actúe de manera homogénea como se presenta en la figura 4
- b. Una vez bloqueada la citocinesis se incuba por 24 horas más a 37°C.

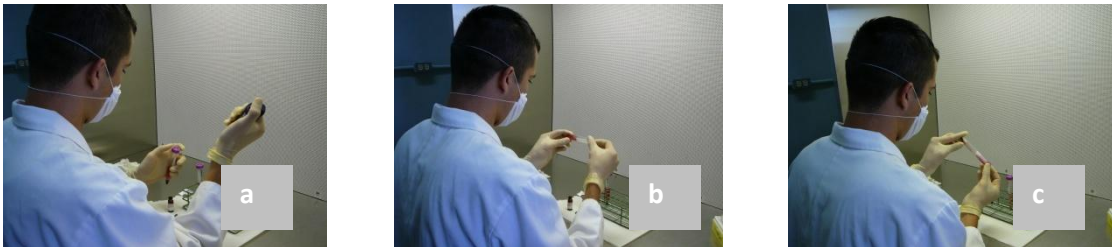


Figura 3. El bloqueo de la proliferación se inicia con la adición de Cys-B, luego se mezcla el cultivo para que el reactivo actúe de manera homogénea

4. La Cosecha

La cosecha consiste en la fijación de los leucocitos con una solución de metanol y ácido acético glacial, lavado y eliminación de organelos celulares y otras impurezas de nuestros cultivos.

- a. La cosecha inicia con la preparación del fijador el cual es una solución de Metanol puro y Ácido Acético Glacial (3:1). Es necesario preparar una buena

³ Viene en polvo, y se prepara disolviéndolo en DMSO (Dimetilsulfóxido) para que quede a una concentración de 2mg/ml y se guarda en un sitio oscuro refrigerada

- cantidad para efectuar un buen lavado de las muestras. Una forma es preparar 300ml de Metanol y 100ml de ácido acético para tener un total de 400 ml de fijador; se introduce al congelador por al menos una hora antes de cosechar, cuando se vaya a usar se coloca sobre una fuente con hielo *frappe*.
- b. También se buscan los portaobjetos y se colocan en agua simple en el refrigerador para que estén bien frías. Se debe tener a mano una gradilla y tantos tubos de centrifuga de fondo redondo como tubos de cultivo se tengan aquí no necesariamente estar estériles, pero si necesario rotular los tubos de centrifuga para no caer en equivocaciones.
 - c. Se sacan los cultivos de la estufa y con el uso de una pipeta automática de 1ml se resuspenden suavemente para no romper los citoplasmas. Con otra punta se agrega con mucho cuidado 1ml de fijador en las células resuspendidas dejando caer el fijador suavemente por las paredes del tubo, se tapan con microfilm y se mezcla muy suavemente, se vacía el contenido en el tubo de centrifuga de fondo redondo correspondiente. Se procede de la misma manera con el resto de los tubos.



Figura 4. Muestra el procedimiento para resuspender las células antes de la cosecha.

- d. Se llevan los tubos a la centrifuga por 10 min. A 1200rpm, lo cual constituye la pre-fijación. Una vez terminada la centrifugación se quita el sobrenadante dejando aproximadamente 2ml de material. Para fijar se resuspenden las células con una punta nueva, agregando nuevamente fijador. Con esto ya están fijadas las células y no se vuelven a resuspender. Seguir lavando por centrifugación de 3 a 4 veces más. En la última se le deja un poquito más de fijador a cada tubo
- e. Se procede a eliminar las proteínas excedentes con tripsina (0.0012%). Aquí hay que proceder con mucho cuidado. Se resuspende con suavidad el botón café claro de células agregando 1ml de tripsina y mezclamos suavemente; se diluye la reacción con fijador de manera más o menos rápida para que no se degraden las células.

- f. Se nivelan todos los tubos y se centrifugan una vez más 10 min a 1200 rpm., se extrae la mayor parte del sobrenadante y se deja el botón blanco. Se lava una vez más.



Figura 5. La preparación de las laminillas. (a) aspecto del botón celular antes de agregar triplicina. (b) el botón celular después de haber eliminado las impurezas. (c) las laminillas se preparan sobre un portaobjetos frío.

5. La preparación de laminillas y tinción.

- a. Con una pipeta pasteur se resuspende el botón de células, y posteriormente se reabsorbe totalmente colocando el material en el portaobjetos previamente rotulado, cuidando que esté bien frío. La preparación se efectúa a manera de zig-zag esparciendo las células por toda la superficie del portaobjetos. Y se dejan por media hora en posición horizontal para que las células se peguen al portaobjetos y después se deja escurrir al ambiente (es mejor de un día para otro) colocándolas más o menos inclinadas sobre toallas absorbentes, para eliminar el exceso de líquido.
- b. Para teñirlas se colocan 3 vasos de precipitado: 1 con Eosina; otro con Azul de Metileno y otra más con agua fría.
- c. Se sumerge cada laminilla primero en la Eosina (20 seg), se escurre rápidamente en posición vertical sobre una toalla para quitar el excedente e inmediatamente se introduce en azul de metileno por otros 20 segundos. Finalmente se lava con agua muy suavemente y se seca al ambiente. Y
- d. está lista para su observación al microscopio



Figura 6. La tinción: (a) sumergir en eosina por 15-20 segundos; (b) azul de metileno por 20 segundos mas y (c) lavar en agua simple

6. Observación de las laminillas.

Se usa un microscopio compuesto para enfocar con el objetivo de 20X y luego se le coloca aceite de inmersión para virar al objetivo 100X.

Los principales registros son el número celulas mono, bi y multinucleadas para calcular el índice nuclear en 200 cel aprox y el número de micronucleos por cada 1000 células binucleadas.

$$IN = \frac{(1 * Mononucleadas) + (2 * Binucleadas) + (3 * Polinucleadas)}{\# \text{ total de células contadas}}$$

Anexo 4

Artículo enviado a revista PAHO

Daño genotóxico y exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas del Valle de San Quintín B. C. México

Zúñiga-Violante Erika, Baptista-Rosas Raúl C., Radilla-Chávez Patricia, Leyva-Aguilera J. Claudia, Ruiz-Ruiz Balam, Zúñiga- Enriquez Juan C, Arellano-García Evarista.

RESUMEN

Objetivo. Determinar si los residentes expuestos ocupacionalmente a plaguicidas presentan mayor daño genético que los no expuestos en cultivos de sangre periférica y relacionar el tiempo de exposición ocupacional con el nivel de daño genético.

Metodología. Se encuestaron 88 residentes del Valle de S.Q., 40 firmaron el consentimiento informado: 25 expuestos ocupacionalmente a pesticidas (casos) y 15 no expuestos (controles). Se utilizó la técnica de Micronúcleos para evaluar el Daño genotóxico mediante la frecuencia de micronúcleos, buds y puentes de cromatina. Se utilizó la prueba Mann-Whitney para determinar diferencias significativas. Mediante un análisis de regresión se exploró la relación del daño genético con el tiempo de exposición ocupacional a pesticidas.

Resultados. El promedio de micronúcleos en los casos fue de 17.7 (\pm 9) y los controles 10.8 (\pm 5). Para los puentes de cromatina los casos presentaron una media de 8.9 (\pm 6.6) y los controles 3.43 (\pm 3). Los buds mantienen una tendencia superior en los casos 11.1 (\pm 4.9) que en los controles 8.2(\pm 4.7). El tiempo de exposición ocupacional se ajustó a un modelo exponencial con una r^2 de 0.76.

Conclusiones. Se determinó que la población expuesta ocupacionalmente a pesticidas presentan un daño genotóxico significativamente mayor que el grupo no expuesto. El tiempo de exposición ocupacional se relaciona exponencialmente con la frecuencia de micronúcleos en sangre periférica.

Palabras clave: Micronúcleos, exposición laboral, genotóxico.

En el presente estudio se efectuó un monitoreo de la genotoxicidad en residentes del valle agrícola de San Quintín Baja California, México, para estudiar su relación con la exposición ambiental y ocupacional a pesticidas, conocidos genotóxicos ampliamente utilizados en la región por más de 60 años (1) ya que esta zona es una de las principales regiones agrícolas en Baja California (1,2). El desarrollo agrícola ha sido tal, que actualmente es la principal actividad económica de la región, basada en la producción intensiva de hortalizas y frutas a gran escala para mercados internacionales (3,4)

Baja California se encuentra entre los trece estados de México con mayor uso de plaguicidas. Se calcula que en estos estados se aplica el 80% de total de plaguicidas usados a nivel nacional (5).

Bojorquez (1994), determinó mediante experimentos *in vitro* la genotoxicidad de tres plaguicidas de amplio uso en el Valle de San Quintín, (6) y menciona que el uso de plaguicidas se realiza de forma indiscriminada en términos de número de aplicaciones, cosechas y tiempos de reingreso. Según informan los residentes locales, la situación no ha cambiado, y de 28 plaguicidas utilizados en Baja California en 1994, carcinogénicos y teratogénicos, aún se siguen utilizando 14 (6). En dicho trabajo se señala la falta de estudios epidemiológicos que permitan evaluar los efectos crónicos de la exposición laboral o accidental a plaguicidas ya que por la intensidad de la actividad agrícola en esta área y sus prácticas de cultivo, su población es vulnerable a sufrir efectos en la salud de dos tipos: agudos, como cefaleas, intoxicación e incluso la muerte o bien crónicos, entre los cuales se encuentran padecimientos vasculares, metabólicos, respiratorios y daño genotóxico (7).

FIGURA 1. Efectos a corto y largo plazo relacionado al tipo de exposición, dosis y el número de casos.



Desde su invención, los pesticidas han contribuido al mejoramiento de la productividad agrícola en el mundo, sin embargo, su uso y bioacumulación ha tenido repercusiones en el medio ambiente y en la salud humana (7-12). Torres y Capote mencionan que sólo el 0.1% de la cantidad de pesticidas afecta a las plagas, mientras que el resto circula por el medio ambiente, contaminando el suelo, agua y biota (13).

Numerosos estudios publicados muestran evidencia de la capacidad de los pesticidas para inducir daño cromosómico, intercambio de cromátidas hermanas y mutación puntual en los seres humanos con efectos mutagénicos, carcinogénesis, defectos reproductivos y hormonales (13, 14); por esto se considera a los pesticidas como un grupo importante de agentes químicos genotóxicos.

Un agente genotóxico es aquel capaz de inducir daño en el material genético e incluye no sólo al ADN, sino también a todos aquellos componentes que se encuentran relacionados con la funcionalidad del núcleo celular (11-14).

Para detectar daño al material genético se han desarrollado, desde pruebas bioquímicas y espectrofotométricas, hasta las pruebas citogenéticas (15), dentro de las cuales está la técnica de micronúcleos por bloqueo de la citocinesis, considerada como un ensayo

práctico, estandarizado, accesible tecnológicamente y útil para evaluar la inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos (14-17).

La técnica de micronúcleos fue propuesta inicialmente por Countryman y Heddle en 1976 (18), basándose en tipos celulares con gran actividad mitótica; en 1985 Fenech y Morley (19), lograron frenar la citocinesis al utilizar citocalasina-B, asegurándose de obtener células binucleadas después de una sola división.

Además de los micronúcleos, que son fragmentos de cromosomas o cromosomas enteros que no se integran a los núcleos hijos después de la división celular, Fenech en 2002 establece que otras estructuras como los puentes de cromatina (PC) y los *buds* (gemas) pueden indicar daño citotóxico en células binucleadas (20,21).

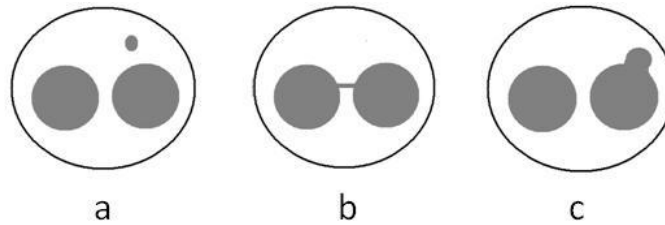
Los micronucleos (MN) (figura 2 a), como su nombre lo indica, son masas de cromatina que tienen la forma de pequeños núcleos y aparecen cerca del núcleo principal en las células interfásicas durante la mitosis. Su diámetro varía entre $1/16$ y $1/3$ del diámetro del núcleo principal, poseen una forma redonda u ovalada y no muestran ningún tipo de unión al núcleo (19).

Los puentes de cromatina (PC) (figura 2 b) son finos puentes nucleoplasmáticos que unen los núcleos de una célula binucleada, muestran evidencia de un daño clastogénico originado por cromosomas dicéntricos cuyos centrómeros fueron empujados a polos opuestos de la célula durante la anafase, el ancho de dichos “enlaces” no excede a un cuarto del diámetro de la célula (20).

Por último, los *buds* son protuberancias que muestran una unión nucleoplasmática al núcleo principal, presentan formas redondas u ovaladas (figura 2 c). La evidencia indica

que dichos *buds* provienen de la eliminación de ADN amplificado que es resultado del intento de la célula por reparar el daño al ADN. (19,22)

FIGURA 2. a) Micronúcleo b) Puente de Cromatina c) Bud



Los tres biomarcadores antes mencionados son indicadores de alteraciones al material genético, sin embargo los micronúcleos son la evidencia más clara y contundente de la presencia de dicho daño.

La relación entre la exposición ocupacional y ambiental a pesticidas ha sido estudiada por diferentes autores. Windham et al,1998 efectuó un trabajo en los trabajadores del programa de erradicación de mosca de fruta del Mediterráneo, que implicaba la aplicación de malatión, y examinaron las frecuencias de formación de micronúcleos y encontraron que los expuestos (20, n=13) tuvieron mas MN que los controles (14, n=4) (23). Palacios-Nava (1999) encontró una relación entre la exposición plaguicidas con la presencia de síntomas persistentes de intoxicación en trabajadores de empresas dedicadas a la fabricación de plaguicidas (11).

El presente estudio compara el número de micronúcleos, puentes de cromatina y *buds* de dos grupos de personas residentes del valle de San Quintín. El primer grupo (casos) son trabajadores agrícolas expuestos de manera ocupacional a pesticidas y el segundo grupo (controles) son residentes de la zona de estudio que solo están expuestos ambientalmente a estos pesticidas. La hipótesis principal de este trabajo es que la exposición ocupacional

aumenta la frecuencia de micronúcleos, *buds* y puentes de cromatina en células binucleadas de leucocitos de sangre periférica.

Este trabajo también estudia la relación entre el número de micronúcleos y dos variables independientes: el tiempo de exposición y el tiempo de residencia para revelar si existe un patrón que determine la dependencia funcional entre el número de micronúcleos y estas dos variables.

Se evidenció que el grupo que labora en el campo presenta un DG mayor que el grupo control ya que los casos los sobrepasan con una diferencia estadísticamente significativa en dos de los biomarcadores de daño, PC ($p= 0.003$), MN($p=0. 009$), en cambio en el número de *buds*, no se detectó diferencia significativa entre los casos y los controles ($p=0.203$).

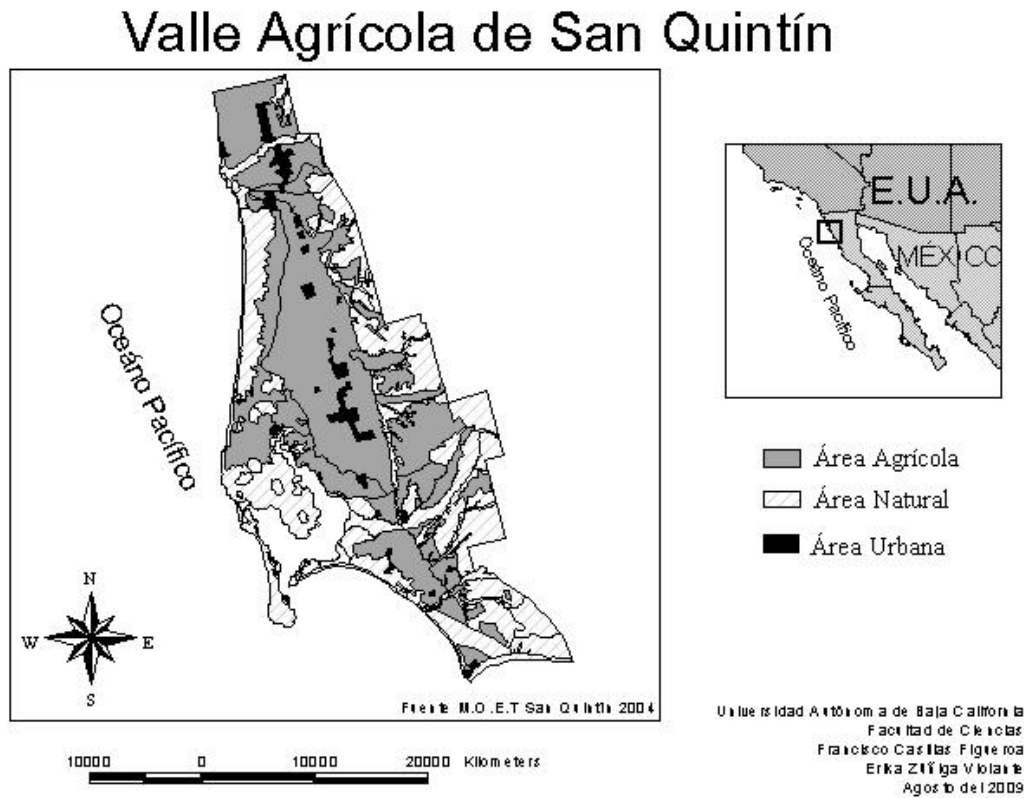
Se encontró una relación de tipo exponencial entre el DG y el tiempo de trabajar en el campo, no así con el tiempo de residencia.

Lo anterior revela la necesidad de ampliar la discusión en torno a las prácticas agrícolas, no solo en la región sino en el país ya que el 56% de las personas laboralmente expuestas en el presente estudio, no son originarios de la región e iniciaron sus actividades agrícolas en distintos estados de la república, por lo que es importante considerar el tiempo de exposición a pesticidas en los distintos lugares donde se han empleado como jornaleros agrícolas.

Metodología

El estudio fue realizado en la zona agrícola conocida como el Valle de San Quintín que forma parte del municipio de Ensenada Baja California, México. Tiene una superficie aproximada de 87,690 ha. de las cuales el 53% son de cultivo (24) (figura 3).

Figura 3 Mapa de la zona de estudio., “Valle agrícola de San Quintín B.C. México”



En el presente estudio participaron 88 individuos que fueron encuestados, para identificar condiciones socio-económicas, estilo de vida y otros factores que pudieran influir en el nivel de daño.

Aceptaron participar en el estudio un total de 40 personas mediante la firma de consentimiento informado, de las cuales 25 estuvieron expuestas ocupacionalmente a pesticidas y 15 de la misma región sin exposición laboral, a los que se denominó casos y controles respectivamente, con características similares (Cuadro 1).

Cada participante donó una muestra de aproximadamente 5 ml de sangre, extraída del antebrazo, almacenándose en tubos vacutainer^{MR} de 6 mL con heparina de sodio y mantenida a temperatura de 20 a 25 °C para su cultivo posterior, antes de las 24 horas de

hecha la punción. Con base en la técnica de micronúcleos descrita por Fenech (25 - 27), por cada participante se cultivaron dos muestras con 0.5 mL de sangre entera venosa en medio RPM I (SIGMA R-4130), suplementado con aminoácidos no esenciales (SIGMA M-7145), L- Glutamina (SIGMAG-6392) y 0.2ml de fitoestimulina (PHA-M, SIGMA L 8902); posteriormente el cultivo se incubó a 37°C por 48 hrs. El proceso de división citoplasmática fue detenido por 21µl de citocalasina – B (SIGMA C-6762). Al término de las 72 horas en total se procedió a la fijación y lavado de las células con una solución de metanol y ácido acético en una proporción de 3:1. Posteriormente fueron montadas en un portaobjetos y teñidas con eosina y azul de metileno (Hemacolor de FisherScientific 65044/93) para su posterior visualización al microscopio óptico con un aumento de 100X. Se consideraron 1000 células binucleadas para el conteo de biomarcadores de DG utilizando los criterios internacionales publicados por Fenech et al. (27)

Los biomarcadores de DG utilizados en el estudio fueron: MN (figura 2a), *buds*(figura2b) y puentes de cromatina (figura 2c) los cuales se pueden originar de manera espontánea o como respuesta a determinados agentes clastogénicos, y/o aneugénicos.

Dada la naturaleza de los tres biomarcadores, la frecuencia de MN es el principal indicador de DG cuyos resultados se compararon con la media de MN para personas sanas, que en la literatura se establece de 8.8 ± 2.6 MN/1000CB (19).

Se aplicaron análisis de similitudes y de factores principales para obtener las variables más significativas (figura 4). Análisis de frecuencias y ANOVA para análisis descriptivos y la prueba de Mann Whitney para determinar diferencias significativas entre las variables analizadas.

RESULTADOS

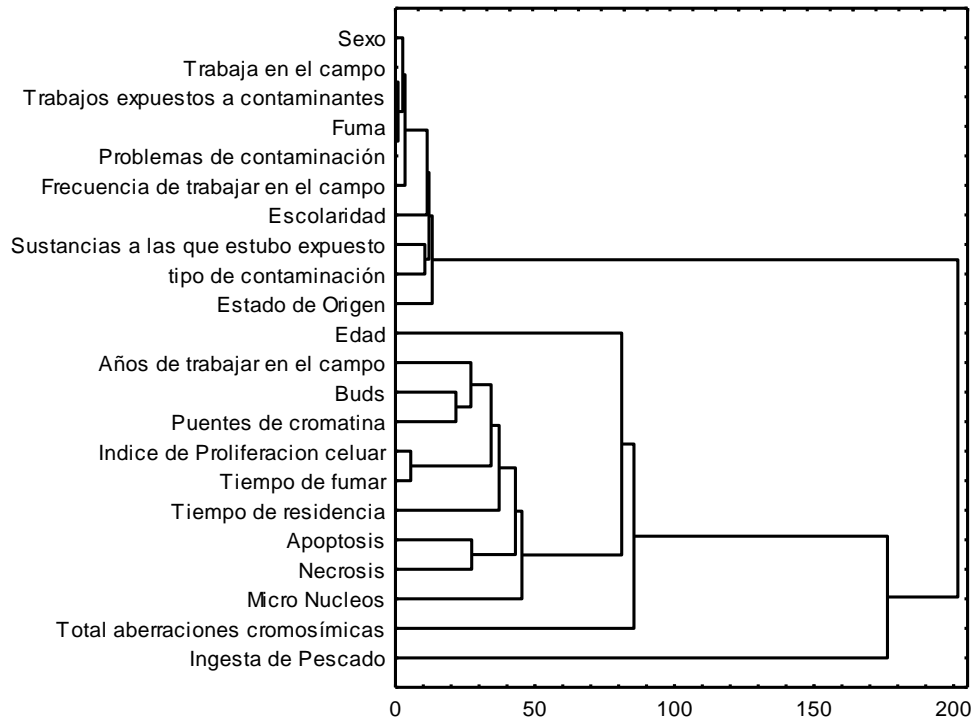
El cuadro 1 muestra las características principales de la población de estudio.

Cuadro 1 Características del grupo de estudio.

	Casos	Controles
Número de sujetos	25	15
Hombres	48%	47%
Mujeres	52%	53%
Fumadores	8%	20%
Migrantes	56%	33%
Rango de edad	19-50	20 – 33
Nivel de estudios:		
Sin estudios	3%	0%
Primaria	23%	7%
Secundaria	15%	0%
Bachillerato	39%	50%
Universidad	20%	43%

De la encuesta se sustrajeron las siguientes variables: Edad, Sexo, Trabaja en el campo, Años de trabajar en el campo, Estado de origen, Escolaridad, Fuma, Tiempo de Fumar, Tiempo de residencia, Frecuencia de trabajar en el campo, Trabajos expuestos a contaminantes, Sustancia a la que estuvo expuesto, Exposición actual a contaminantes e Ingesta de pescado. Por otra parte, de las lecturas de laboratorio se consideraron: Índice nuclear (IN), *Buds*, Puentes de Cromatina (PC), Micronúcleos (MN), Apoptosis, Necrosis y Total de aberraciones cromosómicas (TA). Para discriminar algunas variables antes mencionadas se realizó un análisis de similitudes (figura 4).

Figura 4 Dendrograma de similitudes por distancia euclidiana



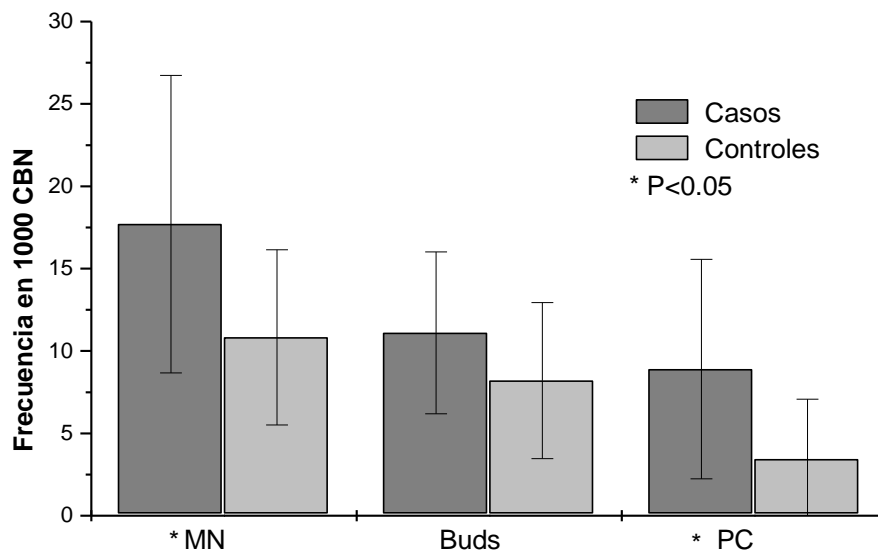
Los análisis de las pruebas de factores principales y de similitud presentaron una fuerte relación entre las variables indicadoras de DG: *Buds*, PC y MN con las características de población: Trabaja en el campo, Años de trabajar en el campo, Tiempo de residencia, y Lugar de origen. El resto de las variables se consideran ya que describen las características de los grupos de personas en estudio, además se tomaron en cuenta comentarios hechos por los encuestados y observaciones directas del área de estudio para enriquecer la discusión de los resultados.

Cuadro 2 Resultados de los indicadores de Daño Genético.

Indicadores de Daño Genético	Media	Des. Est.	Media	Des. Est.	P
	Casos		Controles		
<i>Buds</i>	11.1	± 4.9	8.2	± 4.7	0.203
Puentes de Cromatina	8.9	± 6.6	3.43	± 3.6	0.002
Micronúcleos	17.7	± 9.0	10.83	± 5.3	0.009

En el cuadro 2 se observa que los sujetos que laboran en el campo sobrepasan con una diferencia estadísticamente significativa en los biomarcadores de daño, PC y MN al grupo control, ambos superan la media de MN establecida para personas sanas (8.8 ± 2.6 (MN/1000CB)) (19), aunque en los *Buds* no se encontró una diferencia significativa, los trabajadores agrícolas mantienen una tendencia superior que los controles (figura 5).

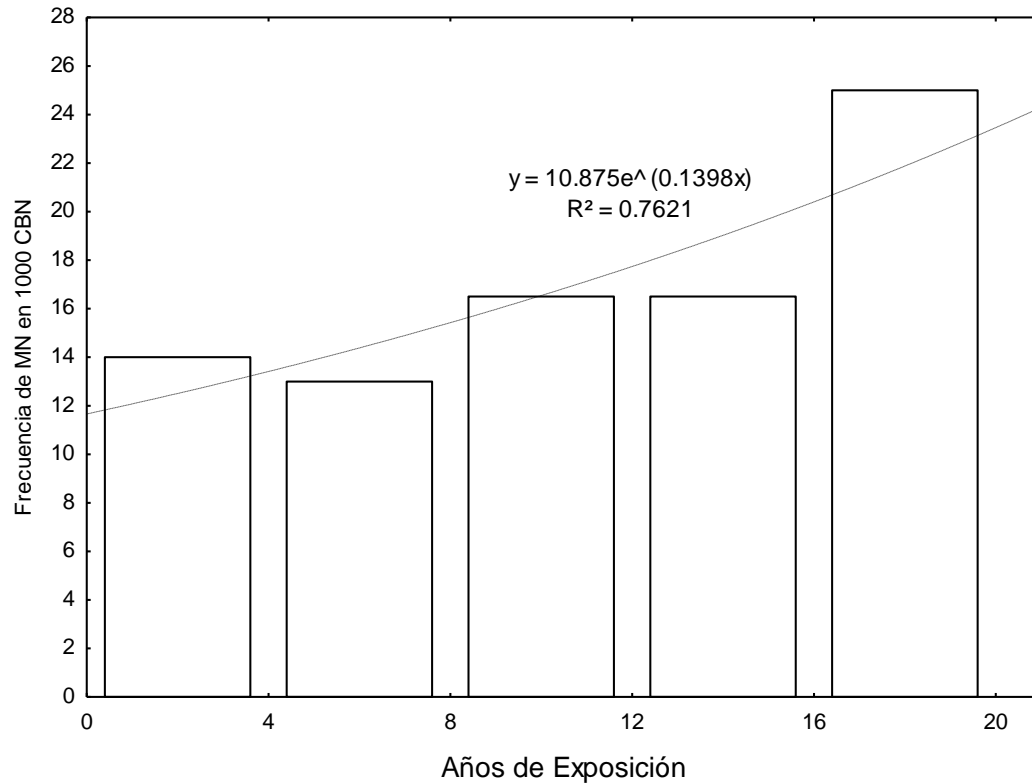
FIGURA 5 Biomarcadores de DG en Trabajadores del campo y grupo control



Se encontró que el número de MN describe un crecimiento exponencial en función de los años de trabajar en el campo (figura 6). Se observa también que desde los primeros 4 años de trabajar en el campo se detecta una frecuencia de MN en el límite establecido para personas sanas.

Se efectuó el mismo análisis entre las variables de MN y Tiempo de residencia, sin embargo los datos no mostraron un patrón consistente.

Figura 6 Frecuencia de MN vs tiempo de exposición ocupacional y función de correlación



DISCUSIÓN

Diversos reportes en la literatura han demostrado efectos genotóxicos asociados a las mezclas de plaguicidas sobre los linfocitos de los trabajadores agrícolas (29-38). Diversos métodos *in vivo* e *in vitro* han mostrado que los plaguicidas tales como herbicidas, insecticidas y fungicidas ejercen efectos mutagénicos (34); un limitado número de estudios en campo abierto ha arrojado evidencias epidemiológicas que presumen el riesgo genotóxico que los plaguicidas poseen (38), lo que coincide con los resultados encontrados en este trabajo; donde el grupo que labora en el campo presenta cerca del doble de micronúcleos que los no expuestos laboralmente.

El grupo expuesto ambientalmente, residente en la región de San Quintín presentó un número de micronúcleos menor al de los casos peroligeramente superior a la media para personas sanas, lo que indica un riesgo de presentar DG en la comunidad en general por exposición ambiental a pesticidas.

La relación encontrada entre el número de micronúcleos y el tiempo de exposición ocupacional a plaguicidas sugiere que aproximadamente cada 1.6 años de exposición incrementa el daño en un micronúcleo. Numerosos trabajos hacen énfasis en la necesidad de analizar este tipo de relaciones como lo señala Pastor et al. 2001(16), pero hasta el momento de escribir este reporte, no se han encontrado estudios que establezcan dicha proporción.

Gómez Arroyo y Martínez Valenzuela en 2007 (28) efectuaron una revisión bibliográfica de 50 trabajos de biomonitoreo citogenético de personas expuestas a plaguicidas en el mundo, desde 1987 al 2007 donde en el 68 % de los trabajos se encontró un resultado positivo a DG. Dicho trabajo concluye que los estudios realizados por investigadores de diferentes países, aportan evidencias científicas que indican correlaciones positivas entre tiempo de exposición, dosis y DG; tal como se evidenció en el presente estudio. Sin embargo, es común encontrar discrepancias en los resultados de los distintos trabajos, en donde puede influir: la edad de las personas, mezclas de plaguicidas, polimorfismo genético, formas de aplicación, nivel genotóxico de los compuestos, características de la aspersión (áreas cerradas o campo abierto) o la interacción de estas variables (28).

Durante el trabajo de campo, fue evidente (figura 1) la cercanía, en ocasiones de algunos metros, que existe entre los campos de cultivo y la zona urbana, desde casas habitación hasta comercios de distintos ramos alimenticios. Dichas condiciones incrementan la

exposición a los agentes genotóxicos tanto de los trabajadores agrícolas como de la comunidad en general.

Las encuestas y los comentarios personales de los participantes en el estudio revelaron deficiencias en el manejo de agroquímicos en la región de San Quintín desde del almacenamiento, aplicación y tiempo de reingreso. Algunos participantes comentaron realizar actividades en el campo mientras se realizaban aplicaciones de algunos productos agroquímicos, presumiblemente pesticidas.

Aunque existe una reglamentación por parte de la secretaría del Trabajo y Previsión social y de la secretaría de Ecología, así como algunas organizaciones agrícolas promueven cursos de capacitación como la Asociación Mexicana de la Industria Fitosanitaria (27), la falta de conocimiento, vigilancia y sanción, es la constante comentada entre los trabajadores agrícolas y residentes encuestados. Lo que incrementa el nivel de exposición laboral y ambiental a pesticidas y con esto el riesgo de sufrir DG por dichos genotóxicos.

Los resultados muestran DG tanto en residentes como en trabajadores agrícolas del Valle, sin embargo es considerablemente mayor en los trabajadores agrícolas además de concordar con un patrón exponencial relacionado con el tiempo de trabajar en el campo.

El que, el daño genético se presente de manera tan representativa en los trabajadores agrícolas y aumente con respecto a los años de laborar en el campo, es una muestra de que se deben reconsiderar las prácticas agrícolas no solo en la región, sino en el país ya que el 56% de los expuestos no son originarios de la región y comenzaron sus actividades agrícolas en distintos estados de la república. Particularmente debe considerarse la

exposición a agentes genotóxicos como los pesticidas y las normas de seguridad y control del uso de estos.

CONCLUSIONES

Se encontró una relación directa entre la exposición tanto ocupacional como ambiental a pesticidas y el DG en la comunidad de San Quintín. Lo anterior determinado por el aumento significativo de la frecuencia de MN y PC tanto en casos como en controles, sin embargo el grupo de población más afectado son los trabajadores agrícolas.

La variable que muestra más significancia estadística en el DG es “Trabajar en el campo”. Por lo que es necesario mantener un monitoreo genotóxico en las poblaciones que por su ocupación laboral están en contacto con genotóxicos, como lo son los trabajadores agrícolas, así como incrementar los programas de capacitación sobre el buen uso, manejo y disposición de pesticidas, para tomar medidas mitigantes y de prevención de DG ya que este es un problema que impacta directamente a la salud de la comunidad y de sus futuras generaciones.

Bibliografía

1. Barron M, Barbosa L. San Quintín: El Gran Valle; 1ª ed., Ensenada B.C. México, Castañeda;1981
2. J.A. Moreno Mena L.M. Niño Contreras Nivel de bienestar de los trabajadores agrícolas del Valle de San Quintín y Mexicali, Ciencias Marinas (2004), 30 (1A):143 - 153

3. Espejel, I., Hernández, A., Riemann, H., & Hernández, L. (2005). Propuesta para un nuevo municipio con base en las cuencas hidrográficas Estudio de caso: San Quintín, B.C. *Gestión y Política Pública* , XIV (1), 129-168.
4. Moreno-Mena, J., & Niño-Contreras, L. (2004). El nivel de bienestar de los trabajadores agrícolas de San Quintín y Valle de Mexicali, Baja California. *Ciencias Marinas* , 30 (1), 133-143
5. Albert L, Panorama de los plaguicidas en México; *Revista de toxicología en línea*, [Carta al editor]. Retel (Revista en internet) 2005 1-17 (Acceso 5 Noviembre 2008). Disponible en <http://www.sertox.com.ar/retel/n08/01.pdf>
6. Bojorquez Rangel Guillermo, Efectos Genotóxicos de Azinfos Metílico y Oxidemeton Metil: Insecticidas de Amplio Uso en Baja California , (Tesis Maestría). Universidad Autónoma de Baja California; 1994.
7. Vindas R , Ortiz F, Ramírez V, Cuenca P. Genotoxicidad de tres plaguicidas utilizados en la actividad bananera de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52 (3): 601-609, 2004
Revista de Biología Tropical (Revista en internet) 2004 Dic 15 (Acceso 2 marzo 2009) 52(3): 601-609. Disponible en http://www.accessmylibrary.com/coms2/summary_0286-32016706_ITM
8. Osornio-Vargas, A. (1995). Alteraciones cromosómicas inducidas por el polvo casero de la ciudad de Mexicali, Baja California / Chromosomic alterations induced by domestic dust in the city of Mexicali, Baja California . *Revista del Instituto Nacional de Cancerología* , 41 (4), 196-204.

9. Ortega J, Espinosa F, López L. El control de los riesgos a la salud generados por los plaguicidas organofosforados en México: Retos ante el tratado de libre comercio; Salud Pública de México 1994;36(6):1-15.
10. Noriega Ortega Blanca, Aldana Armienta Ernesto ,Chávez Fonseca Maria Guadalupe, Cervantes Mexia Erica, Ojeda Figueroa Laura Elena, Quevedo López Iliana Yanet. Valoración de genotoxicidad con determinación de micronúcleos en ratones expuestos a metamidofos. BolMed, 2005;1(8-9):13-17
11. Palacios-Nava Martha Edilia, Paz-Román Pilar, Hernández-Robles Silvia, Mendoza-Alvarado Laura, Sintomatología persistente en trabajadores industrialmente expuestos a plaguicidas organofosforados salud pública de México 1999.41(1)55:61
12. Torres D, Capote T; Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental; Ecosistemas 2004;13 (3): 2-6. Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente Septiembre 2004 (Revista en internet) Sep (Acceso 10 Diciembre 2008) Disponible en <http://www.revistaecosistemas.net/pdfs/50.pdf>
13. Miguez V.,Sandra **Los efectos de los agroquímicos y otros contaminantes en la salud. Hallado en <http://www.ecoportat.net/content/view/full/52566>. Acceso el 9 agosto 2009.**
14. Zalacain M, Sierrasesúmaga L, Patiño A. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos An. Sist. Sanit. Navar2005;28(2)227:236 .(Revista en internet): (Acceso 2 marzo2009 227-236.Disponible en <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2/pdf/07-El%20ensayo%E2%80%A6.pdf>

15. Fenech M. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology Toxicology .2002;181(182) : 411-/416
16. Pastor Susana, Gutiérrez Sara, Creus Amadeu, Xamena Noel, Piperakis, Marcos Ricard. Cytogenetic analysis of Greek farmers using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and buccal cells, Mutagenesis 2001;16(6)539:545.
17. MARTÍNEZ-VALENZUELA Carmen, GÓMEZ-ARROYO Sandra. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. Rev. Int. Contam. Ambient [periódico en la Internet]. 2007 Dic [citado 2009 Ago 09]; 23(4): 185-200. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992007000400004&lng=es&nrm=iso.
18. Countryman PI, Heddle JA. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. Mutat Res 1976; 41: 321-332.
19. Fenech M. Morley AA. Measurement of micronuclei in lymphocytes. Mut Res 1985;147:29-36.
20. [Fenech M](#), [Bonassi S](#), [Turner J](#), [Lando C](#), [Ceppi M](#), [Chang WP](#), [Holland N](#), [Kirsch-Volders M](#), [Zeiger E](#), [Bigatti MP](#), [Bolognesi C](#), [Cao J](#), [De Luca G](#), [Di Giorgio M](#), [Ferguson LR](#), [Fucic A](#), [Lima OG](#), [Hadjidekova VV](#), [Hrelia P](#), [Jaworska A](#), [Joksic G](#), [Krishnaja AP](#), [Lee TK](#), [Martelli A](#), [McKay MJ](#), [Migliore L](#), [Mirkova E](#), [Müller WU](#), [Odagiri Y](#), [Orsiere T](#), [Scarfi MR](#), [Silva MJ](#), [Sofuni T](#), [Surralles J](#), [Trenta G](#), [Vorobtsova I](#), [Vral A](#), [Zijno A](#) Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes. Results of an international slide-scoring exercise by the HUMN project.; Mut Res 2003; 534: 45-64

21. Fenech, M., & Crott, J. (2002). Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear *buds* induced in folic acid deficient human lymphocytes—evidence for breakage–fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutation Research* (504), 131-136.
22. [Fenech M](#), [Chang WP](#), [Kirsch-Volders M](#), [Holland N](#), [Bonassi S](#), [Zeiger E](#); [HUMAN Micronucleus project](#). HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. [Mutat Res.](#) 2003 10;534(1-2):65-75.
23. Windham, G. C., Titenko-Holland, N., Osorio, A. M., Gettner, S., Reinisch, F., Haas, R. et al. (1998). Genetic monitoring of malathion-exposed agricultural workers. *Am.J.Ind.Med.*, 33, 164-174.
24. Moreno-Mena, J., & López-Limón, M. (2005). Desarrollo agrícola y uso de agroquímicos en el valle de Mexicali. *Estudios Fronterizos UABC* , 6, 119-153
25. Fenech Michael, The in vitro micronucleus technique; *Mutation Research* 455 (2000) 81–95
26. Micheline Kirsch-Volders a,*, Toshio Sofuni b, Marilyn Aardemac, Silvio Albertini d, David Eastmond e, Michael Fenech f, Motoi Ishidate, Jr. g, Stephan Kirchner d, Elisabeth Lorge h, Takeshi Morita i, Hannu Norppa j, Jordi Surrallés k, Annelies Vanhauwaert a, Akihiro Wakata l Report from the in vitro micronucleus assay working group *Environmental and Molecular Mutagenesis* 35:167-172 (2000)
27. Stefano Bonassi, Michel Fenech, Cecilia Lando, Yiping Lin, Marcello Ceppi, Wushou Peter Chang, Nina Holland Micheline Kirsch-Volders, Errol Zeiger, Sadayuki Ban, Roberto Barale, Maria Paola Bigatti, Claudia Bolognesi, Cao Jia, Marina Di

Giorgio, Lynette R. Ferguson, Aleksandra Fucic, Omar García Lima, Papatrizia Hrelia, Ayyathan P. Krishnaja, Tung Kwang Lee, Lucia Migliore, Ludmilla Mickhalevich, Ekaterina Mirkova, Pasquale, Mosesso, Wolfgang Ulrich Müller, Youichi Odagiri, Maria Rosaria Scarfi, Elena Szabova, Irena Vorobtsova, Anne Vral and Andrea Zijno. Human MicroNucleus Project: International Database Comparison for Results With the Cytokinesis-Block Microneucleus Assay in Human Lymphocytes: I. Effect of Laboratory Protocol, Scoring Criteria, and Host Factors on the Frequency of Micronuclei. *Environmental and Molecular Mutagenesis*; 2001; Vol. 37 pág, 31- 45

28. AMIFAC, _ALIANZA ESTRATÉGICA CON EL PROGRAMA NACIONAL PARA JORNALEROS AGRÍCOLAS DE LA SECRETARIA DE DESARROLLO SOCIAL;

<http://www.agronet.com.mx/cgi/articles.cgi?Action=Viewhistory&Article=3&Type=A&Datemin=2005-03-01%2000:00:00&Datemax=2005-03-31%2023:59:59> **Actualizado 8 Agosto 2009. Acceso el 9 de agosto 2009.**

29. MARTINEZ-VALENZUELA, Carmen e GOMEZ-ARROYO, Sandra. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Rev. Int. Contam. Ambient* [online]. 2007, vol.23, n.4 [citado 2009-09-21], pp. 185-200 .

30. Dolara P., Torricelli F. y Antonelli N. (1994). Cytogenetic effects on human lymphocytes of a mixture of fifteen pesticides commonly used in Italy. *Mutat. Res.* 325, 47–51.

- 31.** Paldy A., Puskás N., Vincze N. y Hadházi M. (1987). Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 187, 127–132.
- 32.** Rupa D.S., Rita P., Reddy P.P. y Reddi O.S. (1988). Screening of chromosomal aberrations and sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of vegetable garden workers. *Hum. Toxicol.* 7, 333–336.
- 33.** Rupa D.S., Reddy P.P. y Reddi O.S. (1989). Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of cotton field workers exposed to pesticides. *Environ. Res.* 49, 1–6.
- 34.** Rupa D.S., Reddy P.P. y Reddi O.S. (1991). Clastogenic effect of pesticides in peripheral lymphocytes of cotton–field workers. *Mutat. Res.* 261, 177–180.
- 35.** Piperakis S., Petrkou E., Tsilimigaki S., Sagnou M., Monogiudis E., Haniotakis G., Karkaseli H. y Sarikaki E. (2003). Biomonitoring with the comet assay of Greek greenhouse workers exposed to pesticides. *Environ. Mol. Mutagen.* 41, 104–110.
- 36.** Garaj–Vrhovac V. y Zeljezic D. (2001). Cytogenetic monitoring of Croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. *Toxicology* 165, 153–162.
- 37.** Garaj–Vrhovac V. y Zeljezic D. (2002). Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and comet assay. *J. Appl. Toxicol.* 22, 249–255.
- 38.** Moretti M., Villarini M., Scassellati–Sforzolini G. y Pasquini G. (2000). Pesticide–induced primary DNA damage in peripheral blood leukocytes of farm workers evaluated by the computerized comet assay. *Biomarkers* 5, 192–204.

Anexo 5

Confirmación de registro de artículo en la Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health.

Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health - Manuscript ID/Número de manuscrito 2009-00643

De: **onbehalfof+deoriome+paho.org@manuscriptcentral.com** en nombre de **deoriome@paho.org**

Enviado:viernes, 20 de noviembre de 2009 06:45:04 a.m.

Para: erika.zuniga.v@gmail.com; eri_k17@hotmail.com

20-Nov-2009

Dear Mrs. ZUNIGA:

Your manuscript entitled "Daño genotóxico y exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas del Valle de San Quintín B. C. México" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health.

Your manuscript ID is 2009-00643.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when contacting the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <http://mc.manuscriptcentral.com/rpsp> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by entering the Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/rpsp>.

Thank you for submitting your manuscript to the Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health.

Sincerely,
Editorial Office
Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health

Estimado(a) Mrs. ZUNIGA:

Su manuscrito titulado "Daño genotóxico y exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas del Valle de San Quintín B. C. México" ha sido registrado en línea satisfactoriamente y será evaluado con detenimiento

para su posible publicación en la Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health.

El número de su manuscrito es el 2009-00643.

Le rogamos que se refiera a este número en toda correspondencia futura o en cualquier contacto que establezca con nuestra oficina para hacer preguntas o averiguaciones.

Si hay cualquier cambio en su dirección postal o electrónica, por favor actualice sus datos entrando a Manuscript Central, en el sitio <http://mc.manuscriptcentral.com/rpsp> . Si desea averiguar en qué etapa del proceso de decisión se encuentra su manuscrito, puede hacerlo en todo momento en esa misma dirección, bajo "Author Center".

Le agradecemos que haya elegido a la Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health para publicar su manuscrito.

Atentamente,

La redacción
Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health

Anexo 6

Participación en Simposio “La situación de los agroquímicos en México: Impactos y Perspectivas”

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
A TRAVÉS DEL CUERPO ACADÉMICO
GESTIÓN Y BIOPROCESOS AMBIENTALES

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A

Arellano Evarista, Zúñiga Erika, Leyva Claudia,
Baptista Raúl y Radilla Patricia

Por su ponencia denominada:

DAÑO GENOTÓXICO Y EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS
DEL VALLE DE SAN QUINTÍN B.C. MÉXICO

Impartida durante el simposio **LA SITUACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN MÉXICO: IMPACTOS Y PERSPECTIVAS**, realizado el 30 de septiembre, 1 y 2 de octubre del 2009 en Cuernavaca, Morelos

Javier Siqueiros Alatorre
Dr. Javier Siqueiros Alatorre
Secretario Académico de la UAEM

Ma Laura Ortiz Hernández
Dr. Ma Laura Ortiz Hernández
Responsable del Cuerpo Académico



SIMPOSIO

La situación de los plaguicidas en México: Impactos y perspectivas

Cuernavaca Mor., 1º. de septiembre del 2009

Estimados Colegas:

ARELLANO EVARISTA, ZÚÑIGA ERIKA, LEYVA CLAUDIA, BAPTISTA RAÚL Y
RADILLA PATRICIA

El Comité Organizador del SIMPOSIO LA SITUACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN MÉXICO: IMPACTOS Y PERSPECTIVAS, tiene el placer de informarles que su trabajo titulado:

DAÑO GENOTÓXICO Y EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS DEL VALLE DE SAN QUINTÍN B.C. MÉXICO

Ha sido **ACEPTADO** para su presentación **ORAL**.

El evento tendrá lugar en el Auditorio Gral. Emiliano Zapata Salazar, ubicado en el campus Chamilpa de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, en la Ciudad de Cuernavaca, Morelos; los días 30 de septiembre y el 1 y 2 de octubre del 2009.

El día y la hora de la presentación de su trabajo le será informado en breve, además de que el programa final podrá ser consultado en la página www.uaem.mx/biologicas.

La presentación del trabajo en el Simposio, está condicionada a que al menos uno de los autores del mismo, se encuentre debidamente inscrito a este evento, a más tardar el día 18 de septiembre del presente año.

Sin otro particular por el momento, enviamos cordiales saludos.

**ATENTAMENTE
POR UNA HUMANIDAD CULTA
POR EL COMITÉ ORGANIZADOR**

DRA. MA. LAURA ORTIZ HERNÁNDEZ