

Con el objeto de facilitar la lectura de este informe y de buscar una estructura más idónea, se tomó la decisión de presentar las páginas dedicadas a establecer el estado de las investigaciones en relación a los efectos de los plaguicidas OF y Cb sobre la salud, en la primera sección del capítulo 7: *Estado de salud y exposición a plaguicidas*.

2.1 Diseño del estudio

Con el fin de evaluar el efecto producido por la exposición a plaguicidas organofosforados y carbámicos sobre los niveles medios de acetilcolinesterasa eritrocítica y establecer la correlación con la sintomatología asociada en los individuos expuestos se utilizó un diseño de corte transversal con seguimiento. El componente transversal nos permitió:

- obtener información demográfica, socioeconómica y laboral;
- documentar el estado de salud de la población estudiada;
- caracterizar la exposición laboral y ambiental; y
- registrar los niveles de ACE y las prevalencias de sintomatología asociada con la exposición a plaguicidas organofosforados y carbámicos.

El componente de seguimiento nos permitió obtener, por segunda vez con fines comparativos, los valores de ACE de un subgrupo de la población participante en el estudio y controlar la exposición a OF y Cb y a otras sustancias inhibidoras de las colinesterasas.

2.2 Participantes en el estudio

La población elegible para participar en el estudio estuvo integrada por campesinos que estuvieran trabajando en el tabaco en el momento de la entrevista: jornaleros indígenas, preferiblemente del pueblo *wixárika*, porque la experiencia de trabajo con este pueblo facilitaba la ubicación de los participantes en las montañas para la segunda toma de sangre; jornaleros mestizos y ejidatarios. Con fines comparativos se eligieron indígenas, campesinos mestizos y ejidatarios que no estuvieran trabajando en el tabaco al momento de la entrevista.

En la primera etapa del trabajo de campo participaron en el estudio 505 personas. Los expedientes de 57 de ellas fueron descartados por diversas razones, la más importante, porque en la hoja de registro de los niveles de ACE no se había anotado la temperatura ambiente en el momento de la entrevista.¹ Se consideraron válidos los expedientes de

¹ Véase *infra* sobre la necesidad del registro de las temperaturas ambientales para efectuar la corrección de los valores de ACE por el funcionamiento incorrecto del termómetro interno del EQM.

448 personas; de ellas, 297 eran adultos de 15 años o más y 151 niños y niñas menores de 15 años de edad. En la segunda etapa participaron 240 personas; de ellas, 158 adultos y 82 niños y niñas. Fueron analizadas dos veces 220 personas; de ellas, 145 adultos y 75 niños y niñas.

Cuadro 1
Participantes en el estudio de salud por toma de sangre

Toma(s)	Adultos	Niños	Total
Primera	297	151	448
Segunda	158	82	240
Primera y segunda	145	75	220

2.3 Categorías

Se clasificó a los participantes en la primera toma por categorías atendiendo a los siguientes criterios:

- Participación o no en la cosecha de tabaco. Esta clasificación se hizo para evaluar exposición laboral a plaguicidas.
- Grupo étnico (indígenas o mestizos). Esta clasificación se hizo para evaluar la exposición ambiental a plaguicidas dado que los jornaleros indígenas regresan a sus comunidades de origen en donde hay un uso mucho menor de plaguicidas.
- Ubicación dentro del proceso de trabajo (jornaleros o ejidatarios). Esta clasificación se hizo para evaluar la exposición laboral a plaguicidas, dado que son los ejidatarios, en primer lugar, y los jornaleros mestizos en segundo lugar, quienes con más frecuencia trabajan cargando, mezclando o aplicando plaguicidas.

La lista de categorías con su número de identificación se presenta en el siguiente cuadro:

Cuadro 2
Categorías por número de identificación, denominación y criterio de adscripción de los participantes

Número	Categoría	Descripción
1	J. indígena	Jornalero indígena trabajando en el tabaco al momento de la primera toma de sangre
2	J. mestizo	Jornalero mestizo trabajando en el tabaco al momento de la primera toma de sangre
3	Ejidatario	Ejidatario trabajando en el tabaco al momento de la primera toma de sangre
4	Indígena n.t.	Indígena que no estaba trabajando en el tabaco
5	Mestizo n.t.	Mestizo que no estaba trabajando en el tabaco
6	Ejidatario n.t.	Ejidatario que no estaba trabajando en el tabaco

Las categorías 4, 5 y 6 fueron establecidas con fines comparativos pero no constituyen controles de los casos estudiados en las categorías 1, 2 y 3 dado que no se establecieron criterios de pareamiento por edad y sexo. Con la obtención de una segunda toma de sangre en un periodo de no exposición a plaguicidas OF y Cb cada individuo del subgrupo de 220 personas con dos tomas de sangre funcionó como su propio control; es este grupo el que se analizó en las pruebas pareadas.

2.4 Fechas y ubicación del estudio

El trabajo de campo se realizó en dos etapas, la primera del 17 de febrero al 22 de marzo de 1995, para obtener una muestra de sangre durante el tiempo en que se presumía una mayor exposición a OF y Cb y, la segunda, del 7 de noviembre de 1996 al 7 de enero de 1997, en la que se obtuvo una segunda muestra de sangre durante el tiempo en que se presumía una exposición a estos plaguicidas menor o inexistente.

El estudio se realizó en la zona tabacalera del norte de Nayarit, que es donde se concentra 74% de la producción de tabaco de la entidad. Las entrevistas se realizaron en localidades de los municipios de Santiago Ixcuintla, Ruiz, Rosamorada, Tuxpan, San Blas y Tecuala (véase figura 3, *Municipios en los que se realizó el estudio*, p. 27).

La segunda toma de sangre se realizó en las localidades de residencia permanente de los entrevistados, en los municipios de Santiago Ixcuintla, Tepic y El Nayar en el estado de Nayarit, y en los municipios de Mezquitic y Guadalajara en el estado de Jalisco (véase figura 4, *Municipios en los que se realizó la segunda toma de sangre*, p. 29).

2.5 Recopilación de la información

La recopilación de la información se realizó por medio de seis cuestionarios, un examen físico y dos análisis de sangre. Para documentar el estado de salud se aplicaron dos cuestionarios *Historia médica*, *Síntomas* y un grupo de médicos practicó un examen físico a cada participante y registró los resultados en el formulario *Examen físico*. Los datos demográficos y socioeconómicos así como la historia laboral de cada persona se registraron en tres cuestionarios más *Información general adultos*, *Historia ocupacional e Información sobre la temporada de tabaco 1994-1995*. Por último, al obtener la segunda muestra de sangre se aplicó un cuestionario para documentar las variables ocupacionales, ambientales y médicas que pudieran influir en los niveles de ACE (*Hoja de actualización*).

Los cuestionarios fueron diseñados por la médica Marion Moses, directora del Pesticide Education Center-PEC de San Francisco, California, y adaptados a los giros lingüísticos mexicanos por la Dra. Isabel Valadez (UdeG) y la epidemióloga Susana Cerón.

Todos los cuestionarios fueron traducidos al *wixárika* por el Departamento de Lenguas Indígenas (DELI) de la UdeG para ser utilizados en caso de que el participante fuera monolingüe o mostrara un insuficiente dominio del castellano. Traductores indígenas estuvieron presentes en todas las entrevistas y durante los exámenes médicos practicados a jornaleros *wixaritari*. Los investigadores de la UdeG y de la UAN que participaron en el trabajo de campo fueron capacitados por la doctora Marion Moses y supervisados por la médica pediatra Ysela Honorato y por Patricia Díaz Romo, coordinadora del proyecto.

Los datos fueron capturados utilizando el programa *EPI Info*, versión 6 (1994), software público producido por la División de Vigilancia Epidemiológica de los Centros para el Control de Enfermedades (CCDC) en Atlanta, Georgia, en colaboración con el Programa Global sobre SIDA y la Organización Mundial de la Salud (OMS).

2.6 Análisis de los niveles de acetilcolinesterasa eritrocítica (ACE)

Los plaguicidas de los grupos organofosforados y carbamatos son inhibidores de la colinesterasa (Henaó, 1991). El envenenamiento por insecticidas organofosforados produce la fosforilación irreversible de la acetilcolinesterasa en las terminaciones nerviosas. La recuperación ocurre cuando una nueva enzima reemplaza a la inactivada por el OF; la sustitución de la acetilcolinesterasa fosforilada puede tardar entre varios días o algunas semanas.

En el envenenamiento por carbamatos ocurre la carbamilación reversible de la acetilcolinesterasa; la intoxicación tiende a ser de más corta duración porque los carbamatos son metabolizados más rápidamente y la combinación carbamilo-acetilcolinesterasa se disocia más rápidamente que el complejo fosforilo-acetilcolinesterasa. La disociación del complejo carbamilo-acetilcolinesterasa, es decir, la reversión de la carbamilación, puede ocurrir en unas cuantas horas. Se ha observado que la exposición simultánea a organofosforados y carbamatos puede producir toxicidad adicional (Reigart y Roberts, 1999).

Las colinesterasas pueden ser de dos tipos: la acetilcolinesterasa eritrocítica (ACE), que se encuentra localizada exclusivamente en las neuronas, en las sinapsis ganglionares de la estructura neuromuscular del organismo y en los eritrocitos; y la pseudocolinesterasa o colinesterasa inespecífica, también denominada butirilcolinesterasa, de tipo “s” o plasmática, la cual está presente en casi todos los tejidos (principalmente en el hígado) y en el plasma, pero en poca concentración en el sistema nervioso central y periférico (Henaó y Corey, 1991). Tanto la colinesterasa plasmática como la eritrocítica pueden ser usadas como bioindicadores (biomarcadores) de los efectos fisiológicos adversos de la sobreexposición a plaguicidas OF y Cb. Se ha sugerido que la colinesterasa plasmática puede ser un indicador más sensible para comunidades con baja exposición (McConnell *et al.*, 1999).

Considerando que este estudio fue diseñado para evaluar los efectos fisiológicos en la población que vive y trabaja en una zona de intensa y continua utilización de plaguicidas OF y Cb, se decidió obtener los niveles de acetilcolinesterasa eritrocítica, que es una huella más persistente en comunidades con alta exposición a estos productos.

Para el análisis en campo de las muestras de sangre se utilizó el equipo *Test-mate OP Kit* de la empresa EQM Research Inc. de Cincinnati, Ohio. El equipo fue probado por la toxicóloga Luz María Cueto Sánchez, entonces miembro de la Sociedad Mexicana de Toxicología, en condiciones de laboratorio y sus resultados fueron comparados con los obtenidos por el método *Michel* obteniéndose un coeficiente de correlación de 0.3155 por lo que se concluyó que por ambos métodos, en condiciones de laboratorio, se obtenían los mismo resultados equivalentes.

El *EQM OP Kit* ha sido considerado como un equipo adecuado para el trabajo de campo; la baja variabilidad de los experimentos realizados con este equipo portátil permiten mejorar el diagnóstico y la detección de intoxicaciones, así como la evaluación epidemiológica de la exposición. Se considera que los resultados ajustados por hemoglobina permiten corregir errores ocasionados por la presencia de anemia en sujetos expuestos (McConnell *et al.*, 1992:37).

El *EQM OP Kit* es un equipo computarizado operado con baterías que se basa en el método de Ellman adaptado para funcionar con un colorímetro y un diodo emisor de luz. (Magnotti *et al.*, 1987). El procedimiento consiste en la obtención de una muestra de sangre capilar que se hace reaccionar en una pipeta. La colinesterasa hidroliza la acetilcolina a ácido acético y tiocolina; ésta reacciona con DTNB (ácido 5, 5' ditiobis-2 nitrobenzoico) formando un complejo amarillo cuya concentración se mide espectrofotométricamente.

El *EQM OP Kit* proporciona el conteo de acetilcolinesterasa eritrocítica en unidades por mililitro, U/ml (sin corrección por hemoglobina) o en unidades internacionales por gramo, U/g Hb (corregidas por hemoglobina). Dado que la reacción de la colinesterasa, como cualquier reacción química, depende de la temperatura a la que ocurre, el *EQM OP Kit* ajusta la actividad colinesterásica a 25 grados centígrados utilizando un sensor electrónico de temperatura ambiente para seleccionar los factores de corrección apropiados almacenados en la memoria computarizada del equipo (EQM Research, 1991:24).

En 1996, un año después de concluida la primera etapa del trabajo de campo del estudio de salud, se detectó un funcionamiento erróneo en el termómetro interno del *EQM OP Kit* (Amaya *et al.*, 1996:358). El hallazgo obligó a ajustar los resultados mediante la aplicación de factores de corrección por temperatura. Los factores de corrección fueron establecidos, para el universo de datos obtenidos en el estudio, por la química Araceli Amaya, uno de los investigadores que detectaron la falla en el aparato.

Diversos factores pueden incidir en los niveles de acetilcolinesterasa eritrocítica de una persona. La edad, el sexo, el fenotipo, el estado nutricional, el embarazo, el alcoholismo, algunas enfermedades y la ingesta de determinados medicamentos, entre otros, son factores que pueden modificar la actividad de la ACE (Henaó y Corey, 1991:24-28). La adopción, con fines comparativos, de determinados niveles de ACE como *normales* exige hacer explícitos los criterios de tal *normalidad*. Hay dos procedimientos para establecer los valores *normales* de la actividad enzimática de la acetilcolinesterasa eritrocítica. Se puede establecer una comparación estadística interpersonal entre los valores promedios de una población expuesta y su grupo de control, pareado por edad y sexo. Otro procedimiento consiste en obtener el nivel basal de ACE antes de la exposición y hacer la comparación, intrapersonal, con el nivel obtenido después de la exposición.

Tanto la acetilcolinesterasa eritrocítica como la colinesterasa plasmática tienen variaciones inter e intra personales, siendo la primera mucho mayor que la segunda. Dado que, en el caso de la ACE, la variación intrapersonal y el error de ensayo tienen 10% de coeficiente de variación y, de 15% en el caso de la colinesterasa plasmática, y dado que el criterio de significancia para el efecto de cualquier influencia externa en cualquier medición clínica es de tres desviaciones estándar respecto del promedio, una caída de 30% respecto del nivel basal de acetilcolinesterasa eritrocítica, o de 45% en colinesterasa plasmática, puede ser atribuido a una influencia externa, por ejemplo, a la exposición a plaguicidas (EQM Research, 1991:23).

En su evaluación de 1992 del *EQM OP Kit*, McConnell, Cedillo, Keifer y Reyna establecen que “cualquier persona expuesta a organofosforados cuya medición [en los niveles de ACE corregida por hemoglobina] caiga por debajo del 22% (con respecto al 78% de la medición basal) puede ser identificada como anormal por este procedimiento, aún si no se cuenta con una medición previa a la exposición” (1992:37).

El *Protocolo Modelo* de la Organización Mundial de la Salud para los estudios de campo sobre exposición a plaguicidas señala que los valores basales de la actividad colinesterásica deben obtenerse antes de la exposición (OMS, 1982). Esta toma previa es prácticamente imposible de realizar entre los jornaleros indígenas del tabaco debido a la dispersión de las comunidades en la sierra y a que no es posible prever con certeza quiénes ni cuándo bajarán a trabajar a la planicie costera. Considerando que la acetilcolinesterasa eritrocítica inactivada vuelve a sus niveles normales entre unos días y unas semanas después de la exposición, y asumiendo que era prácticamente imposible elegir de entre los jornaleros indígenas aquéllos que con toda seguridad bajarían de las montañas a trabajar en la zona costera, se decidió establecer los niveles basales o *normales* de las personas participantes en el estudio mediante la obtención de una segunda toma de sangre en un periodo posterior

de no exposición a plaguicidas organofosforados y/o carbámicos. Para esta segunda toma de sangre se entrevistó a los jornaleros mestizos y a los ejidatarios en la zona tabacalera, y a los jornaleros indígenas, en sus comunidades de la sierra *wixárika*, que fueron localizados en esa ocasión, antes de que se iniciara la temporada de tabaco 1996-1997 y, en consecuencia, antes de que comenzara la aplicación de plaguicidas OF y Cb en el cultivo. Esta segunda toma se analizó en campo con el *EQM OP Kit* y se documentó con un cuestionario destinado a registrar posibles exposiciones a plaguicidas OF y Cb, así como la ingestión de medicamentos y de otras condiciones inhibitoras de la ACE durante los seis meses anteriores al momento de la segunda entrevista.

2.7 Diseño, captura y validación de las bases de datos

La doctora Isabel Valadez, del Instituto Regional de Salud Pública (IRSP) de la UdeG diseñó las bases de datos y coordinó la captura en el formato EPI Info, versión 6. Se realizó una revisión de las bases de datos en la ciudad de México, expediente por expediente, bajo la supervisión de Patricia Díaz Romo y Samuel Salinas Álvarez. Una segunda validación fue realizada por el Instituto de Salud, Ambiente y Trabajo (ISAT) que trasladó las bases al formato *Stata*.

2.8 Definición del nivel de exposición

Los jornaleros indígenas, jornaleros mestizos y ejidatarios que estaban trabajando en el tabaco en el momento de la entrevista fueron considerados como el *grupo expuesto* dividido en tres categorías. Los indígenas, mestizos y ejidatarios que no estaban trabajando en el tabaco en el momento de la entrevista fueron considerados como *grupo no expuesto* y fueron también divididos en tres categorías. La segunda toma de sangre se obtuvo para un subgrupo de personas no expuestas. Esta categorización se creó sobre la base de la hipótesis inicial de trabajo que suponía que los grupos que estaban trabajando en el tabaco tendrían menores niveles de ACE que los que no estaban trabajando en el tabaco en el momento de la entrevista y que, de los grupos expuestos, serían los jornaleros indígenas quienes presentarían mayor inhibición de ACE. El componente de seguimiento, es decir, el análisis de la segunda toma de sangre, mostró que los participantes tienen menores niveles de ACE durante la temporada de cosecha de tabaco que durante los meses previos al inicio de la temporada de cultivo, independientemente de que estuvieran o no trabajando en el tabaco en el momento de la entrevista.

Se considera grupo de bajo riesgo aquella parte de la población expuesta a plaguicidas a través de agua, aire y alimentos. El grupo de alto riesgo lo constituyen las personas que manipulan plaguicidas directamente, ya sea que los formulen, los mezclen,

los carguen o los apliquen. Los niveles de exposición, en consecuencia, están definidos por la duración y la intensidad de la exposición, como se expone en la figura siguiente.

Figura 2
Grupos de población en riesgo



Para fines del estudio se definieron **cinco niveles** de exposición basados en la duración e intensidad de la exposición. En el **primer nivel** se encuentran quienes estaban trabajando en el tabaco al momento de la entrevista y realizaron alguna actividad directamente relacionada con plaguicidas: cargar, mezclar o aplicar. En el **segundo nivel**, quienes estaban trabajando en el tabaco en el momento de la entrevista pero no realizaron ninguna actividad relacionada con plaguicidas. En el **tercer nivel**, quienes no estaban trabajando en el tabaco al momento de la entrevista y no tenían ningún contacto con plaguicidas pero viven en la zona tabacalera. En el **cuarto nivel**, quienes no habían trabajado en el tabaco ni en ningún otro cultivo con uso de plaguicidas organofosforados o carbámicos durante los seis meses anteriores a la segunda toma de sangre y tampoco habían tenido contacto con plaguicidas organofosforados o carbámicos durante el mismo periodo. Por último, en el **quinto nivel**, a quienes habían residido fuera de la zona tabacalera durante los seis meses anteriores a la segunda toma de sangre y no habían trabajado en cultivos con uso de plaguicidas organofosforados o carbámicos ni habían estado expuestos a sustancias o condiciones potencialmente inhibitoras de la ACE.

Para evaluar la exposición crónica a plaguicidas OF y Cb se elaboró un índice basado en el número de temporadas que el entrevistado había trabajado en el tabaco.

Dado que el estudio fue diseñado para evaluar exposición de toda la población que estaba trabajando en el tabaco y no solamente de aquellos que hubieran tenido contacto directo con plaguicidas OF y Cb, se incluyeron diversas variables no ocupacionales que podrían implicar exposición, por ejemplo, el origen y forma de almacenamiento del agua para beber, cocinar, lavar trastes, bañarse y lavar ropa; acceso a los sitios en los que se embodegan los plaguicidas y las condiciones de vivienda durante la temporada de tabaco.

Dado que la agricultura de contrato obliga a los cultivadores de tabaco en Nayarit a seguir estrictas normas de producción, ha sido posible estimar la cantidad, en kilogramos, de plaguicidas organofosforados y carbámicos utilizados por hectárea durante el cultivo y en la etapa de planteros (veáanse cuadros 54 y 55, pp. 78 y 79). Esta cantidad es mayor en México que en los Estados Unidos o que en el promedio mundial consignado por la OMS y constituye un antecedente para definir los niveles de exposición.

2.9 Análisis de la información

Las bases de datos del estudio de salud están constituidas por 1 781 variables, de ellas 1 046 son información relacionada con los adultos participantes, 682 sobre los niños y niñas menores de 15 años y 53 corresponden al cuestionario de actualización aplicado durante la obtención de la segunda toma de sangre.

El presente estudio constituye también una fuente de información socioeconómica, demográfica, cultural y biomédica de utilidad para subsecuentes investigaciones. Para fines de este reporte se seleccionaron las variables de interés relacionadas con la exposición laboral y ambiental a plaguicidas OF y Cb.

Se obtuvieron frecuencias simples de las variables de interés para conocer su distribución. Se aplicaron pruebas “t” de Student para el análisis de muestras independientes (comparación entre categorías 1, 2 y 3 y categorías 4, 5 y 6) cuando los datos eran suficientes y cumplían los supuestos para ejecutarla. La prueba “t” de Student se realizó con datos pareados para comparar los resultados de la primera y la segunda toma de sangre del subgrupo de participantes en el estudio con ambas tomas, de modo que cada individuo funciona como su propio control.

Cuando lo permitió la distribución de las variables, se utilizó regresión lineal simple para estimar la relación entre dos variables continuas. Esta prueba permite estimar la tendencia y el grado de significación con que una variable influye sobre la otra, por ejemplo, la edad en meses o en años sobre los niveles de ACE. En los resultados se reporta el valor de la pendiente β y su nivel de significación con el valor de p. En algunos casos se obtuvo

el coeficiente de correlación entre dos variables, por ejemplo, nivel de ACE en la primera toma correlacionado con el nivel de ACE en la segunda toma.

Para efectos de interpretación de todas estas pruebas estadísticas se consideraron como significativas aquéllas en las que se obtuvo un valor de $p \leq 0.05$.