



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DPTO. DE TOXICOLOGÍA**



**Características citológicas de micronúcleos del frotis
sanguíneo y bucal en personas expuestas ocupacionalmente
a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos**

Trabajo Especial de Grado presentado como requisito para optar al Título de
Licenciado en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autoras:

Maria Daniela Dávila Zambrano

C.I.: 25.643.067

Smailyn Daniela Nuñez Fontecha

C.I.: 26.862.364

Tutora:

Prof. Yasmin Morales

Mérida, Junio 2023

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen por llenarnos de sabiduría y fortaleza, y por ayudarnos a alcanzar esta meta y cumplir uno de nuestros sueños.

A nuestros padres Thania Zambrano, Surisadai Fontecha, Darling Dávila y Daniel Núñez, por su amor y apoyo incondicional en este largo caminar.

A nuestros hermanos Liam, Brayan, Danny y Gabriel.

A nuestros abuelos Gloria, Estela, Gladys y Evelio.

A nuestros tíos y demás familiares

Este logro es de ustedes, los amamos...

www.bdigital.ula.ve

Maria Daniela y Smailyn Daniela

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgencita, por darme sabiduría, inteligencia, gracia y favor desde el primer momento para afrontar cada situación. Gracias Diosito por iluminar mi camino y nunca dejarme sola.

A mis Padres, Darling y Thania, sin duda alguna mi fábrica de fortaleza, las palabras se quedan cortas para darles GRACIAS por tanto amor, comprensión, esfuerzo, guía, y por acompañarme, no hay triunfo en donde no estén y no hay caída en donde no me den la mano para levantarme y seguir adelante, todo esto y lo que soy es gracias a ustedes, son mi todo.

A mi Abuelita Gloria y a mi Nona Estela, mi Glori mi Angelito aquí en la tierra, todas tus oraciones me iluminan y me protegen cada día, gracias por tu amor y entrega desde siempre, mi Nona Estela mi compañera de charlas, historias de vida y café, tu forma de ser es única y especial, eres luz para todos lo que te rodeamos, este logro es de ustedes.

A Liam Santiago, gracias por darme el puesto de hermana mayor, por tus ocurrencias y alegrarnos los días, contigo aprendo cada día.

A Dilce, tan iguales, pero tan distintas, gracias por tus consejos, por mostrarme la vida desde diferentes enfoques, por tus palabras de valentía, por empujarme a cumplir mis sueños, este triunfo es tuyo.

A mi Tía Libeles, y mi Tía Jacke, por acompañarme en cada paso a Libeles por cada palabra de aliento y por la conexión para llegar siempre en el momento justo, a mi Jacke por sus Oraciones, por prenderme velitas, por su energía y por siempre darme valor, a las dos. Gracias por tanto amor.

A mi Tía Ara y mi Tío Julio, por consentirme desde siempre y aún más en la distancia, apoyándome con sus oraciones, llamadas y palabras, los quiero mucho.

A mi Tío José Luis, porque en medio de sus pocas palabras, me bendice y siempre me desea lo mejor, te quiero mucho.

A mi Narcyta, por ese amor tan puro y especial que me tienes, por pedirle tanto a nuestra Virgencita por mí y por mis estudios, te quiero mucho.

A mi Madrina Dubelia por su amor incondicional, por formar parte de mi camino y por acompañarme en cada momento, te quiero mucho.

A Smi mi hermana de vida y compañera de tesis, con quien comencé esta linda travesía, lo estamos logrando y juntas, aquí estamos materializando un sueño, gracias Smi por siempre estar.

A Melvis, Patricia, Paola, Maga, Carolina, Génesis, Gabriel y Miguel por formar parte de este camino y alentarme a través de sus Oraciones, frases, y afirmaciones, no pude haberlos escogido mejor.

A la Dra. Heidy por llegar en el año que tuve una sacudida para mi alma, por enseñarme que todo pasa por algo y que todo es perfecto, por creer en mi aun cuando ni yo misma creía, porque cuando las cosas son del destino suceden porque sí. Gracias.

A nuestra tutora la Profesora Yasmin Morales, por apoyarnos en este largo camino.

A la Profesora Rossy, se me llena el corazón al decir que, por fin, al final de nuestra carrera, logré coincidir con una Profe tan linda y noble como usted, gracias por ser tan especial.

A Rafa, por tener siempre la disposición de ayudarnos y apoyarnos en este proceso, muchas gracias.

A nuestra Ilustre Universidad de los Andes, por mi casa de estudio y formar parte de mi vida, por vernos crecer en lo profesional y a nivel espiritual, no pude escoger mejor Universidad.

Al Universo por su sincronía perfecta, y por su Magia para darme lo mejor siempre GRACIAS.

www.bdigital.ula.ve

Maria Daniela Dávila Zambrano

AGRADECIMIENTOS

A Dios, primeramente, por darme salud y sabiduría, y por guiarme y ayudarme a superar tantos obstáculos a lo largo de este recorrido, gracias a él, he podido desarrollar la entereza y la constancia, virtudes que me ayudaron a poder llegar hasta este punto en mi vida universitaria.

A mis padres, Surisadai y Daniel quienes desde siempre me han apoyado y aconsejado, sin ustedes no hubiese conseguido este logro. Hoy pueden estar orgullosos y decir que su sacrificio y esfuerzo ha valido la pena.

A mi madre, por ser mi apoyo incondicional, por enseñarme a ser una mujer luchadora, guerrera, y por enseñarme a dar siempre lo mejor de mí, a perseverar y a nunca rendirme a pesar de las adversidades, a “terminar lo que se empieza”. Gracias mami, eres mi pilar, todo lo que soy, es gracias a ti.

A mi padre, gracias por todo papi, gracias por enseñarme y mostrarme la nobleza de tu corazón y por ser mi ejemplo de responsabilidad, trabajo y entrega.

A mis hermanos Brayan, Danny y Gabriel por ser parte fundamental de mi vida, por su apoyo, su comprensión y por siempre estar pendiente de mí, este logro también es de ustedes. Son los mejores hermanos que pude haber tenido.

A mi abuelita Gladys, por sus oraciones, por siempre querer lo mejor para mí, por sus enseñanzas diarias, por siempre recordarme la palabra de Dios y por sus consejos sabios. Gracias abuelita eres la mejor, quisiera algún día ser como tú.

A mi abuelo Evelio y a mis tíos Jairo, Charlie, Beatriz, Irene, Gerardo y demás familiares, por estar siempre para mí, cuando los he necesitado, gracias por ser tan especiales, los llevo en mi corazón.

A la profesora Yusmey, por el cariño especial que me ha brindado y por ser un ejemplo para mí de excelencia, responsabilidad y de amistad incondicional, gracias profe.

A la Sra Thania y al Sr Darling por abrirme las puertas de su casa y acogerme en su familia, gracias por sus consejos, por el cariño sincero que me han ofrecido y por ser mi apoyo, han sido parte importante de este logro.

A Daniela, mi amiga y compañera universitaria, con quien inicié esta larga travesía, gracias por brindarme su amistad sincera y su apoyo incondicional durante todo este camino, me alegra enormemente haber alcanzado este logro juntas, porque ambas sabemos lo que nos ha costado, sin embargo, Dios es y ha sido bueno y nos ha recompensado.

A mi tutora, Yasmin Morales, por su dedicación, su tiempo, su paciencia y por impartirnos sus conocimientos y ayuda para poder culminar esta meta de la mejor manera.

A la profe Rossy, gracias por su nobleza, por su disposición, por ayudarnos siempre de forma desinteresada tanto en clases como con esta tesis, muchas gracias profe, la recordamos con un cariño especial.

A José Rafael, nuestro amigo y compañero de clases, por su ayuda incondicional para la realización de este trabajo, gracias Rafa.

A la Universidad de Los Andes, por haberme permitido formar parte de sus aulas, en especial a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, donde me formé académicamente, viví momentos únicos y conocí a excelentes profesores, compañeros y amigos.

Smailyn Daniela Núñez Fontecha

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|------|
| Índice de Tablas | xi |
| Índice de Figuras | xii |
| Índice de Esquema | xiii |
| Resumen | xiv |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| CAPÍTULO I: EL PROBLEMA | |
| Planteamiento del Problema..... | 3 |
| Justificación de la Investigación..... | 6 |
| Objetivos de la Investigación..... | 7 |
| Objetivo general..... | 7 |
| Objetivos específicos..... | 7 |
| Alcances y Limitaciones de la Investigación..... | 8 |
| CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO | |
| Trabajos previos..... | 9 |
| Antecedentes históricos..... | 11 |
| Bases teóricas..... | 12 |
| Aproximación teórica sobre los cuerpos de Howell Jolly | 12 |
| Aproximación teórica sobre biomarcadores..... | 13 |
| Aproximación teórica sobre la aplicación clínica del ensayo de micronúcleos..... | 13 |
| Aproximación teórica sobre el ensayo de micronúcleos en serie roja, blanca y células bucales..... | 14 |
| Aproximación teórica sobre la exposición a plaguicidas..... | 15 |
| Definición operacional de términos..... | 15 |
| Bases legales..... | 18 |
| Definición operacional de las variables..... | 20 |

ÍNDICE DE CONTENIDO
(Continuación)

| | Pág. |
|--|-------------|
| CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO | |
| Tipo de investigación..... | 23 |
| Diseño de investigación (experimental)..... | 23 |
| Población y muestra..... | 24 |
| Unidad de investigación..... | 24 |
| Selección del tamaño muestral..... | 24 |
| Criterios de inclusión..... | 24 |
| Criterios de exclusión..... | 25 |
| Sistema de variables..... | 25 |
| Instrumento de recolección de datos..... | 25 |
| Metodología o procedimiento de la investigación..... | 26 |
| Frotis sanguíneo y bucal..... | 26 |
| Tinción del frotis..... | 26 |
| Diseño de análisis de datos..... | 30 |
| CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN | |
| Resultados..... | 31 |
| Discusiones..... | 40 |
| CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | |
| Conclusiones..... | 44 |
| Recomendaciones..... | 45 |
| Referencias Bibliohemerográfica..... | 46 |
| ANEXOS | 52 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|---|------|
| Tabla 1. Operacionalización del evento de estudio características citológicas de micronúcleos..... | 20 |
| Tabla 2. Operacionalización del criterio de análisis frotis sanguíneo..... | 21 |
| Tabla 3. Operacionalización del criterio de análisis frotis bucal.... | 22 |
| Tabla 4. Características epidemiológicas de las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas..... | 32 |
| Tabla 5. Características epidemiológicas de las personas no expuestas ocupacionalmente a plaguicidas (grupo control)..... | 32 |
| Tabla 6. Características relacionadas al tiempo de exposición de las personas expuestas ocupacionalmente y las manifestaciones clínicas presentadas por los mismos.... | 33 |
| Tabla 7. Anormalidades celulares observadas en el frotis bucal de personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas..... | 34 |
| Tabla 8. Anormalidades celulares observadas en el frotis bucal de personas no expuestas ocupacionalmente a plaguicidas (grupo control)..... | 34 |
| Tabla 9. Características celulares de la línea roja en el frotis sanguíneo de personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas..... | 35 |
| Tabla10. Características celulares de la línea roja en el frotis sanguíneo de personas no expuestas ocupacionalmente a plaguicidas (grupo control)..... | 36 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|--|-------------|
| Figura 1. Presencia de micrónucleos en los frotis sanguíneos en relación a las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas..... | 37 |
| Figura 2. Presencia de micrónucleos en los frotis bucales en relación a las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas..... | 37 |
| Figura 3. Frotis bucal de trabajadores expuestos ocupacionalmente a plaguicidas..... | 38 |
| Figura 4. Frotis sanguíneo de trabajadores expuestos ocupacionalmente a plaguicidas..... | 38 |
| Figura 5. Frotis bucal de personas no expuestas a plaguicidas (grupo control) | 39 |
| Figura 6. Frotis Sanguíneo de personas no expuestas a plaguicidas (grupo control)..... | 39 |

ÍNDICE DE ESQUEMAS

| | Pág. |
|--|-------------|
| Esquema 1. Procedimiento de la investigación (Frotis bucal)..... | 28 |
| Esquema 2. Procedimiento de la investigación (Frotis sanguíneo).. | 29 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|--|----|
| Anexo 1. Ficha de inclusión para el estudio..... | 52 |
| Anexo 2. Lista de cotejo de los datos personales y epidemiológicos y de las condiciones laborales de las personas estudiadas..... | 53 |



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DPTO. DE TOXICOLOGÍA**



**Características citológicas de micronúcleos del frotis sanguíneo y bucal
en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en
establecimientos de venta de agroquímicos**

Autoras:

Maria Daniela Dávila Zambrano

C.I.: 25.643.067

Smailyn Daniela Nuñez Fontecha

C.I.: 26.862.364

Tutora:

Prof. Yasmin Morales

RESUMEN

Los plaguicidas son sustancias altamente tóxicas, las cuales, representan peligros potenciales para la salud humana, pudiendo provocar alteraciones en el material genético. En consecuencia, se ha hecho necesario la búsqueda de métodos que permitan cuantificar el grado de inestabilidad que estos productos pudiesen causar al ADN, entre ellos, el ensayo de micronúcleos. El objetivo de este trabajo es analizar las características citológicas del frotis sanguíneo y bucal de personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas y un grupo control comprendido por personas no expuestas a plaguicidas. El diseño de esta investigación es de campo, transeccional contemporáneo y univariable, con diseño de análisis de enfoque semicuantitativo. Se utilizó la tinción de Wright para colorear los frotis bucales y sanguíneos, los cuales, fueron posteriormente observados en un microscopio con objetivos de 40X y 100X respectivamente, encontrándose formación de micronúcleos en mayor cantidad en los frotis sanguíneos con respecto a los bucales, así como la existencia de otras anomalías en las células epiteliales de la cavidad bucal. En conclusión, se evidenció la presencia micronúcleos en el 87,5% de los frotis sanguíneos y en el 56,25% de los frotis bucales de las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas.

Palabras Clave: plaguicidas, genotóxicidad, micronúcleos, biomarcadores, exposición ocupacional.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el uso indiscriminado de plaguicidas ha aumentado considerablemente debido a la necesidad del ser humano de mantener y proteger los cultivos, esto con el fin de producir una mayor cantidad de alimentos y evitar pérdidas. Si bien, estos productos prometen una mayor protección a las siembras, los riesgos asociados al ambiente y a la salud humana han excedido los beneficios, ocasionando patologías crónicas, neurodegenerativas, cáncer y malformaciones congénitas. Estos compuestos son biocidas e implican una alta toxicidad humana la cual ha sido motivo de preocupación desde mitad del siglo XX (Beltrán, Moreno y cols, 2019; Matheus y Bolaños, 2014).

No siempre las consecuencias por la exposición a plaguicidas aparecen como lesiones inmediatas, en algunas ocasiones, estas pueden tardar incluso años en manifestarse, por lo que se requieren estudios de biomonitorización para evaluar las enfermedades agudas y crónicas que pudieran originarse. Estudios han mostrado evidencias de disminución de la fertilidad en ambos sexos, de aborto involuntario y la presencia de diferentes tipos de neoplasias como leucemias, mielomas, melanomas, cáncer de pulmón, colón, entre otros, producidos por la exposición crónica a estos agentes (Matheus y Bolaños, 2014).

Dada la gravedad de daños que genera el uso de estos productos, se ha hecho imprescindible la búsqueda de pruebas o biomarcadores que permitan cuantificar el grado de desequilibrio que estos pudiesen causar al ADN, entre ellos, el ensayo de micronúcleos (MN). El cual se basa en el descubrimiento y cuantificación de cuerpos citoplasmáticos parecidos al núcleo celular, que de manera espontánea o por acción de agentes genotóxicos no se integran al núcleo durante la metafase (Matheus y Bolaños, 2014). Estos cuerpos también llamados micronúcleos, pueden ser observados tanto en extendidos

de células sanguíneas, como en extendidos de células bucales, ya que estas poseen características que favorecen su utilización para evaluar genotoxicidad y citotoxicidad (Terry y Mendoza, 2017 y Cortes, 2017). Razón por la cual, el objetivo del presente trabajo fue, analizar las características citológicas de micronúcleos relacionados con frotis sanguíneo y bucal en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de ventas de agroquímicos.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

El uso de plaguicidas al igual que muchas otras sustancias químicas, representa peligros potenciales para la salud humana, ya que pueden provocar irregularidades en el material genético y el posible desarrollo de tumores. Estas sustancias afectan con mayor frecuencia a las células epiteliales y las de la médula ósea, creando así una alteración en el ADN, lo que conlleva a la formación de micronúcleos. Estos cuerpos citoplasmáticos son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos, que espontáneamente o por causa de agentes genotóxicos, quedan fuera del núcleo durante la división celular. Se caracterizan por su forma redonda o almendrada, alcanzan un diámetro entre 0.4 a 1.6 micras y son extranucleares (Cedano, Martinez y cols, 2012).

El estudio de estos cuerpos, se realiza a través del ensayo de micronucleos en células sanguíneas. Este extendido permite precisar e informar alteraciones morfológicas y evaluar el estado de maduración de las líneas eritrocitaria, leucocitaria y megacariocítica. Facilita también, la observación de las características tintoriales, el contenido de gránulos e inclusiones citoplasmáticas y formas celulares de las células de la sangre, lo que se correlaciona con la fisiopatología de ciertas enfermedades (Terry y Mendoza, 2017 y Cortes, 2017).

Este ensayo de micronucleos también se puede realizar en células epiteliales en frotis bucal, debido a que la mucosa oral es un punto de contacto de agentes potencialmente peligrosos. Además, esta superficie de revestimiento facilita la observación e identificación de rasgos morfológicas

del núcleo y la membrana celular, características que favorecen su utilización en pruebas para evaluar genotoxicidad o citotoxicidad (Torres y Ramos, 2013).

La situación actual del evento de estudio ha sido divulgada por varios autores en los últimos 5 años. Estos trabajos guardan relación con el presente proyecto de investigación, uno de ellos titulado “Evaluación de los parámetros hematológicos: Cuadro hemático y frotis de sangre periférica, en trabajadores expuestos a pesticidas organofosforados, carbamatos y piretroides” con el objetivo de determinar las posibles alteraciones hematotóxicas a través de una exploración clínica y paraclínica, en los trabajadores que por su oficio se exponen a pesticidas, en procesos de producción, envase, distribución y fumigación, en el departamento de Cundinamarca Colombia. Encontrando hallazgos en la exploración clínica en el 17% del grupo participante, solo el 2% presenta la colinesterasa eritrocitaria por fuera de los rangos de referencia. Los parámetros hematológicos como el frotis de sangre periférica presentan valores por fuera de los criterios normales en el 15% y el cuadro hemático tiene valores por fuera de los rangos en el 47% de las personas (Cortes, 2017).

En el 2018, se publicó el trabajo “Ensayo de micronúcleos de citoma bucal en trabajadores de fincas frutícolas que han aplicado plaguicidas alrededor de quince años” con el objetivo de determinar el nivel de daño genético en un grupo de trabajadores de plantaciones frutales que han utilizado plaguicidas agrícolas en forma crónica y analizar si existe una correlación con parámetros de la práctica laboral. El estudio se aplicó a una población de 40 personas, 20 habitantes del área rural que en sus prácticas agrícolas habituales aplicaban plaguicidas y 20 habitantes del área urbana fueron el grupo de referencia. Se realizó el frotis bucal y en cada persona se analizaron entre 831 y 2464 células y se reportaron los resultados por cada

1000 células. Las siguientes anomalías nucleares fueron analizadas: célula micronucleada, célula binucleada, célula picnótica, célula condensada, célula cariorréxica y célula cariolítica. El grupo expuesto a plaguicidas presentó una media de 9.28 ± 2.08 células micronucleadas/1000 células analizadas ($p \leq 0.01$), 2.16 ± 0.75 brotes ($p \leq 0.05$) y 7.13 ± 1.05 células binucleadas/1000 células analizadas ($p \leq 0.05$; respecto del grupo de referencia. La frecuencia de células en proceso de muerte celular: picnóticas (9.90 ± 2.40), células con núcleos condensados (22.75 ± 3.73), cariorréxicas (19.36 ± 6.44) y cariolíticas (21.41 ± 5.74) en el grupo expuesto no presentaron diferencias significativas respecto al grupo de referencia ($p > 0.05$) (Ferre, Quero y cols, 2018).

Por último, se publicó una investigación titulada "Daño genético y citotóxico provocado por plaguicidas en jornaleros que laboran en invernaderos en Atlixco, Puebla, México. El objetivo de esta investigación fue determinar la frecuencia de MN y anomalías nucleares en frotis epiteliales de mucosa bucal de 40 jornaleros de invernaderos de alta y baja tecnología, expuestos a distintas clases de plaguicidas, y en 40 personas no expuestas a estos compuestos. Se evaluaron las anomalías nucleares contando mil células basales diferenciadas por participante. La comparación de frecuencias de los biomarcadores indicó mayor valor estadístico de anomalías nucleares en jornaleros de invernaderos, cuyas relaciones de índice de frecuencia fueron: 63.0 células binucleadas, 14.2 células con cromatina condensada, 8.0 células cariolíticas, 3.8 células picnóticas, 2.4 células con brotes nucleares y 2.3 células con micronúcleos. La mayor frecuencia de anomalías nucleares se determinó en jornaleros que laboran en invernaderos de baja tecnología en comparación con los invernaderos de alta tecnología. La población masculina de invernaderos de baja tecnología mostró mayores frecuencias de células picnóticas, con micronúcleos y con brotes nucleares (Martínez, Armendáriz y cols, 2019).

Después de describir la situación actual del problema de estudio, las autoras de esta investigación formulan el siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál es la relación de correspondencia de las características citológicas de micronúcleos del frotis sanguíneo y bucal en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos desde junio 2022 hasta junio 2023?

Justificación de la Investigación

La justificación, responde a los por qué o a las razones por las cuales se realiza la investigación. Dichas razones se pueden clasificar como necesidades, motivaciones, intereses, potencialidades y tendencias (Hurtado, 2010). A través de la historia, el uso de plaguicidas ha sido beneficioso en diferentes áreas para la preservación de muchos elementos, convirtiéndose así en una tendencia. Sin embargo, su predominio ha generado contaminación en el ambiente, y el mayor problema para la salud ha sido la sobreexposición que genera efectos biológicos adversos. A partir de esto, las razones de esta investigación, ya que las autoras consideran de gran importancia clínica el conocer los efectos de estas sustancias tóxicas incluidas las exposiciones, su manejo y el alcance del daño que producen.

La creación de nuevas técnicas de biomonitorización como el ensayo de micronúcleos, ha ampliado el espectro para el estudio de estas complicaciones; logrando determinar alteraciones a nivel genético precursoras de diversas patologías en el ser humano, esto con el fin de generar técnicas de cambio y prevención en el manejo de cualquier elemento tóxico, en búsqueda siempre de mantener la prevención y promoción de la salud. Estudios retrospectivos han demostrado la relación estrecha entre la presencia de micronúcleos, el desarrollo de cáncer y otras patologías crónicas, aunado a ello la población desconoce, la grave relación de los

elementos tóxicos por ignorancia y otros por inconciencia lo que ha causado gran preocupación en las investigadoras.

Objetivos de la investigación

Objetivo general

Analizar las características citológicas de micronúcleos relacionados con frotis sanguíneo y bucal, en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos desde julio 2022 hasta julio 2023

Objetivos específicos

- Examinar la presencia de micronúcleos en la serie roja en correspondencia con el frotis de sangre periférica, en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos.
- Examinar la presencia de micronúcleos en las células epiteliales en correspondencia con el frotis bucal, en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos.
- Interpretar la presencia de micronúcleos en el frotis de sangre periférica y frotis bucal, en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos.

Alcances y limitaciones de la investigación

Alcances

La presente investigación tiene como alcance aportar nuevos datos relacionados con las características de micronúcleos en frotis sanguíneo y bucal en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos. Además, pretende ampliar los conocimientos de las autoras en cuanto al tema de estudio.

Limitaciones

En ese sentido, las limitaciones técnicas están relacionadas con la disposición de las personas a acceder a la toma de la muestra, la disponibilidad de reactivos en el laboratorio y los altos costos de los mismos. Sin embargo, las limitaciones mencionadas no afectaron la viabilidad de esta investigación.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Son los fundamentos que respaldan las variables del estudio.

Agudelo (2020) publicó un trabajo de grado, en la Universidad del Rosario, titulado: Efectos genotóxicos por exposición a mezclas de plaguicidas en la actividad agrícola: revisión de alcance de 2009 a 2019. El diseño de la investigación fue de tipo documental, retrospectivo y multivariado. Se llevó a cabo una revisión literaria de publicaciones científicas de los años 2009 a 2019 sobre la prevalencia de las patologías y los factores relacionados en trabajadores agrícolas expuestos a mezcla de sustancias químicas en las bases de datos Pubmed, Scopus, Cochrane y Google Scholar en idiomas portugués, español e inglés y usando las palabras clave: “plaguicidas”, “genotoxicidad”, y “exposición ocupacional”. Resultado: El autor seleccionó 10 artículos, todos con efectos genotóxicos por plaguicidas en población agrícola, se evaluaron complicaciones en donde se establecieron alteraciones del DNA como la prueba de micronúcleos, alteraciones epigenéticas y el desarrollo de diferentes tipos de cáncer en trabajadores del agro que tienen una exposición a mezcla de plaguicidas. Y halló estos factores de riesgo: ocupación (trabajador del campo-agricultor), tipo de plaguicida (mezclas de sustancias químicas), edad (mayores de 18 años), género (masculino) y tiempo de exposición. Conclusión: se identificó la genotoxicidad y los factores relacionados, lo que permitirá una adecuada comprensión sobre un problema que no es comúnmente investigado y que podría producir un daño de la salud de los trabajadores agrícolas en muchos

países, donde se establece una relación entre la exposición a plaguicidas y genotoxicidad con la expresión de algunas patologías, entre otras, cáncer. Este trabajo respalda esta investigación ya que, los autores utilizaron un evento de estudio parecido.

Cortés (2017) publicó un trabajo de grado, en la Universidad Nacional de Colombia, titulado: Evaluación de los parámetros hematológicos: Cuadro hemático y frotis de sangre periférica, en trabajadores expuestos a pesticidas organofosforados, carbamatos y piretroides. Cundinamarca 2016-2017. El diseño de la investigación fue un estudio observacional y descriptivo de corte transversal, en donde se realiza un análisis univariado, bivariado y multivariado. El procedimiento que se llevó a cabo fue mediante ensayos experimentales en animales en su mayoría, pero también en organismo humanos, a través de marcadores de estrés oxidativo. Obteniéndose como resultados: alteraciones a nivel de las células sanguíneas por el mecanismo mencionado anteriormente, alteraciones en las concentraciones de hemoglobina, así como alteraciones sobre la línea celular roja y blanca, presentando en varios casos aumento y en otra disminución del recuento de estas. Los autores concluyeron: que es evidente la alteración de los parámetros hematológicos de la población estudiada, lo cual podría indicar que efectivamente y tal como lo mencionan los estudios publicados a nivel internacional, los pesticidas tipo organofosforados, carbamatos y piretroides, por medio de la peroxidación lipídica, son capaces de producir alteraciones a nivel de las diferentes células sanguíneas, especialmente de la línea roja y la línea blanca, como se observó en este estudio. Este trabajo respalda esta investigación ya que, los autores utilizaron un evento de estudio parecido.

Gentile, Bernardi y cols (2016) publicaron en la Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, un trabajo titulado: Estudios de genotoxicidad

en trabajadores rurales y familias, con el objetivo de identificar de manera precoz, los potenciales daños a la salud de individuos expuestos por razones laborales a plaguicidas y las personas con las que conviven, empleándose como biomarcadores citogenéticos la frecuencia de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica y en células de la mucosa bucal. Los análisis realizados revelaron un incremento estadísticamente significativo de AC aberraciones cromosómicas, BNMN células binucleadas con micronucleos y CBMN células bucales con micronucleos, en el grupo de trabajadores rurales expuestos a plaguicidas y las personas con las que convive, en comparación con el grupo referente Este trabajo respalda esta investigación ya que los autores utilizaron un evento de estudio parecido.

Antecedentes históricos

Desde el comienzo de la agricultura los cultivos padecieron el ataque de plagas que diezmaban y reducían drásticamente la producción y el acopio de los alimentos. Para evitar o reducir los daños, desde hace milenios se han empleado sustancias que podrían considerarse los precursores de los plaguicidas como, azufre, flores de pietro y arsenitos. Con la revolución industrial comenzó la era de las fumigaciones frecuentemente con derivados del petróleo. Y es entonces desde mediados de la década de 1990 que comenzó la era de los productos sintéticos con la preparación y el uso en los Estados Unidos de compuestos derivados de nitrógeno gaseoso, en este periodo se crearon todos los productos sintéticos hoy en uso. El crecimiento exponencial de ese uso se produjo durante la segunda guerra mundial, cuando se difundió un insecticida basado en cloro, el DDT.

Bases teóricas

Aproximaciones teóricas

Las aproximaciones teóricas que sustentan esta investigación están relacionadas con: genotoxicidad, cuerpos de Howell Jolly, biomarcadores, aplicación clínica del ensayo de micronúcleos, ensayo de micronúcleos en serie blanca, roja y células bucales, fisiopatología de micronúcleos y exposición a plaguicidas. Al respecto la genotoxicidad, es la capacidad relativa que posee un agente de ocasionar daños en el material genético y en aquellos componentes celulares que se encuentren relacionados con la funcionalidad y comportamiento de los cromosomas dentro de la célula. Estos agentes se clasifican de acuerdo a su origen: químico, físico y biológico y de acuerdo a su modo de acción: mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis (Córdoba, 2006).

Aproximación teórica sobre los cuerpos de Howell Jolly

En hematología, los micronúcleos son llamados cuerpos de Howell Jolly, se forman durante la transición de metafase/anafase de la mitosis por dos mecanismos. El primero, ocurre por la pérdida mitótica de fragmentos acéntricos, en el que cualquier fragmento cromosómico que no posea centrómero no podrá integrarse a un núcleo. Posterior a la división celular, los elementos rezagados quedan incluidos en el citoplasma de las células hijas y una gran parte se convierte en uno o varios núcleos mucho más pequeños que el núcleo principal (micronúcleos). El segundo mecanismo ocurre por la pérdida mitótica de cromosomas completos, causada por el daño en el funcionamiento del aparato mitótico. En este caso el núcleo

principal, por la influencia de alguna sustancia genotóxica es sustituido por pequeños núcleos (Cedano, Martínez y cols, 2012).

Aproximación teórica sobre biomarcadores

Los biomarcadores, permiten explorar mecanismos fisiopatológicos complejos de un modo sencillo, poco invasivo y sin riesgo para el paciente. Los biomarcadores genéticos, son utilizados para evaluar exposiciones que pueden causar enfermedades, encontrar factores genéticos o adquiridos que pueden cambiar la susceptibilidad individual hacia una enfermedad y validar los biomarcadores de efecto temprano que puedan predecir el riesgo de cáncer. Para realizar un monitoreo de personas expuestas para evaluar daño citogenético en las células somáticas, se pueden aplicar diferentes ensayos como: intercambio de cromátidas hermanas, aberraciones cromosómicas, ensayo de micronúcleos tanto en linfocitos como en células epiteliales descamadas de las mucosas, citogenética molecular para buscar inversiones, translocaciones, o para identificar el origen cromosómico de los micronúcleos y en cuanto a biología molecular el ensayo cometa, que permite determinar el daño originado en el ADN por rupturas de cadenas y sitios lábiles a álcali (Torres y Calvo, 2016 y Gentile y Bernardi, 2016).

Aproximación teórica sobre la aplicación clínica del ensayo de micronúcleos

El termino aplicación clínica, se creó con el fin de lograr un preciso diagnóstico de las enfermedades del ser humano, surgió con el nacimiento de la medicina, que inició la búsqueda de una explicación racional de las enfermedades, atendiendo a sus síntomas para formular un diagnóstico y

ofrecer el tratamiento adecuado. Investigaciones in vitro e in vivo han conducido al desarrollo de pruebas citogenéticas, como el ensayo de micronúcleos, ya que ciertas observaciones indican la capacidad de los plaguicidas para formar neoplasias y apoyan la posible relación entre la aparición de micronúcleos y la presencia de cáncer y patologías crónicas en los seres humanos. A pesar de que la relación no es estrictamente lineal: reordenamientos cromosómicos y formación de puentes-anafase conducen a ciclos de rompimiento-fusión-puente, observándose así, un aumento significativo de micronúcleos en pacientes con cáncer (Matheus y Bolaños 2014).

Aproximación teórica sobre el ensayo de micronúcleos en serie roja, blanca y células bucales

El ensayo de micronúcleos, tanto en mucosa como en sangre, permite evaluar la inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos, debido a que detecta daños en el material genético que responden a alteraciones y deterioro de los cromosomas a través de la identificación de fragmentos acéntricos y cromosomas rezagados, y reduce la dificultad a la hora de realizar el recuento con relación al otro ensayo aberraciones cromosómicas (Gentile, Bernadi y cols 2016). El ensayo de micronúcleos en células bucales muestra la presencia de un núcleo principal y micronúcleos, también se pueden visualizar otras anormalidades en dichas células como cromatina condensada, cariorrexis, núcleo picnótico, cariólisis y binucleación (Torres, Ramos y cols, 2016). Por otra parte, el ensayo de micronúcleos en la serie blanca (linfocitos), muestra células con citoplasma irregular y disgregado, además se observa micronúcleos no refractarios, con intensidad de tinción similar a los núcleos principales y con forma análoga a los núcleos de las células binucleadas (Zalacain, Sierrasesumaga y Patiño, 2005). Mientras

que, en la serie roja, se logra observar micronúcleos con un diámetro entre 1/16-1/3 del diámetro del núcleo principal, la intensidad de tinción es similar al del núcleo principal y puede tocar el núcleo de la célula de origen, pero no superponerse con él, además su membrana se ve con claridad (Castillo, Guevara y Fujita, 2011).

Aproximación teórica sobre la exposición a plaguicidas

Los plaguicidas son sustancias capaces de causar toxicidad ya sea por exposición crónica o aguda. La exposición crónica es considerada un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. Cabe mencionar que el impacto que tiene la exposición crónica a plaguicidas, en el aumento de la población enferma, es desconocido. (Gutierrez, Cerda y Plaza 2015) Entre los diversos daños están las mutaciones puntuales y cromosómicas que pueden propiciar el desarrollo de cáncer, contribuir al envejecimiento prematuro o producir enfermedades vasculares, autoinmunes o degenerativas, infertilidad y enfermedades genéticas, trastornos inmunológicos, metabólicos y endocrinos (Larrea, Tirado y Ascarrunz, 2010).

Definición operacional de términos

Plaguicidas

Plaguicidas es el nombre genérico que recibe cualquier sustancia o mezcla de sustancias usada para controlar las plagas que atacan los cultivos o los insectos que son vectores de enfermedades. Los plaguicidas son el resultado de un proceso de industrial de síntesis química, y se han

convertido en la forma dominante del combate a las plagas (Karam, Ramirez y cols, 2004)

Exposición ocupacional

Contacto con un agente físico, químico, o biológico potencialmente nocivo como resultado del trabajo de una persona, puede ser directa afectando a los trabajadores que manipulan y/o aplican las diferentes formulaciones, o indirecta, a través de la cual pueden verse afectados los trabajadores en las proximidades de zonas de aplicación/manipulación o en contacto con zonas tratadas. En lo relativo a las vías de exposición, la vía dérmica y la inhalatoria son las más importantes, aunque la vía digestiva, asociada a comer, beber o fumar en el trabajo, puede llegar a tener importancia en la dosis total absorbida (Vila, Van der, Garcia, 2014).

Hematotóxicidad

Estudia los efectos nocivos que las sustancias químicas extrañas producen en la sangre y en los tejidos hematopoyéticos, puede ser primaria, cuando el agente tóxico afecta directamente a uno o a varios elementos sanguíneos, o secundaria, cuando el efecto tóxico se debe a la lesión de otros tejidos o trastornos generalizados, la primaria está considerada como un efecto grave de los xenobióticos especialmente de los fármacos (Curtis y Watkins, 2005).

Toxicología

Consiste la identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados a la exposición a agentes físicos, sustancias químicas y otras situaciones. La toxicología abarca desde estudios de investigación básica

sobre el mecanismo de acción de los agentes tóxicos hasta la elaboración e interpretación de pruebas normalizadas para determinar las propiedades tóxicas de los agentes. Aporta relevante información tanto a la medicina como a la epidemiología de cara a comprender la etiología de las enfermedades, así como las asociaciones que se observan entre éstas y las exposiciones. Desde el punto de vista de sus funciones, se habla de investigación, realización de ensayos y evaluación de los riesgos (Finklea, Messite y cols 1998).

Patología

Es la rama de las ciencias naturales que estudia las enfermedades, la patología comprende en general dos grandes campos: la teratología, que estudia los trastornos del desarrollo de los seres vivos y la nosología, que estudia los procesos o enfermedades adquiridas como entidades aisladas o específicas (Mendoza, 2004).

Bases Legales

Las bases legales se refieren a las leyes que respaldan de forma legal el desarrollo de un trabajo de investigación (Villafranca, 2002). Son leyes, reglamentos, normas, decretos...sobre los cuales se sustenta de forma jurídica la investigación (Pérez, 2009).

Constitución de la República Bolivariana de Venezuela

Artículo 87: Todo patrono o patrona garantizará a sus trabajadores o trabajadoras condiciones de seguridad, higiene y ambiente de trabajo adecuados. El Estado adoptará medidas y creará instituciones que permitan el control y la promoción de estas condiciones.

Ley orgánica de prevención, condiciones y medio ambiente de trabajo (LOPCYMAT)

Artículo 40: Funciones Los Servicios de Seguridad y Salud en el Trabajo tendrán entre otras funciones, las siguientes:

1. Asegurar la protección de los trabajadores y trabajadoras contra toda condición que perjudique su salud producto de la actividad laboral y de las condiciones en que ésta se efectúa.

Artículo 53: Derechos de los Trabajadores y las Trabajadoras. Los trabajadores y las trabajadoras tendrán derecho a desarrollar sus labores en un ambiente de trabajo adecuado y propicio para el pleno ejercicio de sus facultades físicas y mentales, y que garantice condiciones de seguridad, salud, y bienestar adecuadas. En el ejercicio del mismo tendrán derecho a:

1. Ser informados, con carácter previo al inicio de su actividad, de las condiciones en que ésta se va a desarrollar, de la presencia de sustancias

tóxicas en el área de trabajo, de los daños que las mismas puedan causar a su salud, así como los medios o medidas para prevenirlos.

Reglamento Parcial de la Ley orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo

Artículo 4: Información y declaración obligatoria de las enfermedades ocupacionales y accidentes de trabajo Las enfermedades ocupacionales y los accidentes de trabajo son de información y declaración obligatoria ante el Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales debido a sus efectos en la salud pública. En consecuencia, las autoridades en el ejercicio de sus funciones, tendrán acceso a esta información y a los datos personales de salud de los trabajadores y las trabajadoras. El Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales presentará informes periódicos al Ministerio de Salud sobre las enfermedades ocupacionales y accidentes de trabajo.

www.bdigital.ula.ve

Definición operacional de las variables

Las variables son elementos o factores que pueden ser clasificados en una o más categorías. Es posible medirlas o cuantificarlas, según sus propiedades o características (Palella y Martins, 2012).

Tabla 1. Operacionalización del evento de estudio características citológicas de micronúcleos.

| 1.Evento | 2.Definición Conceptual ¿Qué es? | 3.Definición operacional ¿Cómo se mide? |
|---|--|--|
| Características citológicas de micronúcleos | Se caracterizan por que su forma es generalmente redonda o almendrada, alcanzan un diámetro entre 0.4 a 1.6 micras y son extranucleares (Cedano, Martínez y cols, 2012 y Ferrer, 2003). | Por medio del ensayo de micronúcleos |
| 4.Dimensiones | 5.Indicador | |
| <ul style="list-style-type: none"> - Hay presencia de micronúcleos - No hay presencia de micronúcleos | <ul style="list-style-type: none"> - En serie blanca y células bucales se observan masas extranucleares, algunas de estas células pueden degenerar; Núcleo picnotico, cromatina condensada y cariolisis. - En serie roja, se logra observar micronúcleos con un diámetro entre 1/16-1/3 del diámetro del núcleo principal, la intensidad de tinción es similar al del núcleo principal y puede tocar el núcleo de la célula de origen, pero no superponerse con él, además su membrana se ve con claridad. | |

Fuente: Dávila, Núñez y Morales 2023

Tabla 2. Operacionalización del criterio de análisis frotis sanguíneo

| 1.Evento | 2.Definición Conceptual ¿Qué es? | 3.Definición operacional ¿Cómo se mide? |
|---|--|---|
| Frotis sanguíneo | Es un estudio el cual permite precisar e informar las alteraciones morfológicas, evaluar el estado de maduración de las líneas eritrocitaria, leucocitaria y megacariocítica, la observación de las características tintoriales, el contenido de gránulos e inclusiones citoplasmáticas y formas celulares (Terry y Mendoza, 2017 y Cortes, 2017). | A través de la observación de un extendido de sangre en el microscopio. |
| 4.Dimensiones | 5.Indicador | |
| <ul style="list-style-type: none"> - Apariencia normal de las células. - Anomalías en las células. - Diferencial normal de los glóbulos blancos. | Presencia de discos cóncavos, de color rojo, anucleares y con un área de color claro en el centro. | |

Fuente: Dávila, Nuñez y Morales 2023

Tabla 3. Operacionalización del criterio de análisis frotis bucal

| 1.Evento | 2.Definición Conceptual ¿Qué es? | 3.Definición operacional ¿Cómo se mide? |
|--|---|---|
| Frotis bucal | Es la extracción indolora de una muestra de células del interior de la boca (mejillas) para su estudio (Torres y Ramos, 2013). | A través de la observación de un extendido de células epiteliales de la mucosa bucal en el microscopio. |
| 4.Dimensiones | 5.Indicador | |
| <ul style="list-style-type: none"> - Células superficiales normales - Células intermedias normales - Anomalías en células superficiales e intermedias | Presencia de células de forma cubica y cilíndrica, núcleo redondo u oval, citoplasma basófilo, son responsables de la formación de la lámina basal. | |

Fuente: Dávila, Núñez y Morales 2023

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de investigación

El tipo de investigación hace referencia a la pregunta de estudio (lo que se quiere saber), marcando el logro general que se desea conseguir durante el proceso de la investigación. Los tipos de investigación pueden ser: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa (Hurtado, 2010). En tal sentido, este trabajo corresponde a una investigación analítica, ya que se quiere analizar las características citológicas de micronúcleos del frotis sanguíneo y bucal en una unidad de estudio y contexto determinado.

Diseño de investigación

El diseño de investigación se refiere a la estrategia que adopta el investigador para responder al problema, dificultad o inconveniente planteado. El diseño de una investigación puede ser experimental, no experimental y bibliográfico (Palella y Martins, 2012). En contraste, Hurtado en 2010 señala que, el diseño guarda relación con el dónde, cuándo y la amplitud de la información que se recolectará. En tal sentido, esta investigación es de tipo experimental, de campo y con diseño transeccional contemporáneo, pues los datos se recolectarán en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos. Según la amplitud de la información será un diseño

univariable, ya que se va a analizar un solo evento de estudio, características citológicas de micronúcleos.

Población y Muestra

Unidad de investigación

La unidad de estudio estuvo representada por personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos en Lagunillas y la ciudad de Mérida y un grupo control no expuesto.

Selección del tamaño muestral

El tamaño de la muestra se seleccionó a conveniencia, es decir, se analizó un número de muestras de acuerdo a la disponibilidad de reactivos en el laboratorio y la disposición de las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. En ese sentido, se tomaron 26 muestras, de las cuales $n=16$ representa el Grupo Experimental, comprendido por personas que laboran en establecimientos de ventas de plaguicidas, y $n=10$ representa el grupo control que abarca personas sanas que no estén expuestas a plaguicidas.

Criterios de inclusión

- ✓ Trabajadores expuestos de forma crónica a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos.
- ✓ Antigüedad mínima de tres meses en contacto con plaguicidas.

- ✓ Trabajadores o personas que participen voluntariamente en el estudio, mediante firma de consentimiento informado.

Criterios de exclusión

- ✓ Antecedentes de enfermedades de medula ósea (leucemias, síndrome mielodisplásico, mieloma múltiple, policitemia vera, mielofibrosis, anemia aplásica, y anemia megaloblástica), anemias congénitas hereditarias, linfoma.
- ✓ Embarazo, enfermedad esplénica, esplenectomía, infecciones activas.

Sistema de variables

Dado que el diseño de esta investigación se enfoca en un solo evento, la variable relacionada con el objetivo de esta investigación es características citológicas de micronúcleos, la cual no se sistematiza en independiente o dependiente, debido a que no es una investigación confirmatoria, sino de correspondencia analítica.

Instrumento de recolección de datos

Un instrumento de recolección de datos es cualquier recurso, dispositivo o formato, que se utiliza para obtener, registrar o almacenar información (Arias, 2006). Los instrumentos que se utilizaron para la recolección de datos fueron tablas, fotografías y listas de cotejo, donde se registraron las características citológicas de los frotis sanguíneos y bucal.

Procedimiento de la Investigación

Frotis Bucal

Preparación del frotis con la técnica de la citología exfoliativa oral: Consiste en realizar un raspado en el interior de las mejillas y la posterior extensión del material sobre una lámina portaobjeto, como se describe en el **Esquema 1**. Es una técnica sencilla, no agresiva, indolora y bien aceptada por los pacientes. El uso del cytobrush (cepillo) parece aumentar el número de células recogidas por muestra en comparación con el hisopo y permite una mejor distribución de las células en el portaobjeto, lo que podría aumentar la sensibilidad de la técnica (Almirón, Rosende y cols, 2011).

Frotis Sanguíneo

Preparación del frotis con la técnica del portaobjeto: Es el resultado de la extensión de una gota de sangre de manera uniforme sobre una lámina como se describe en el **Esquema 2**. El objetivo es obtener una delgada capa de sangre que luego debe teñirse con una coloración específica. No obstante, el tamaño de la gota es importante; las gotas demasiado grandes forman extendidos gruesos, mientras que las que son pequeñas producen extendidos delgados (Mckenzie, 2000; Carr y Rodak, 2012).

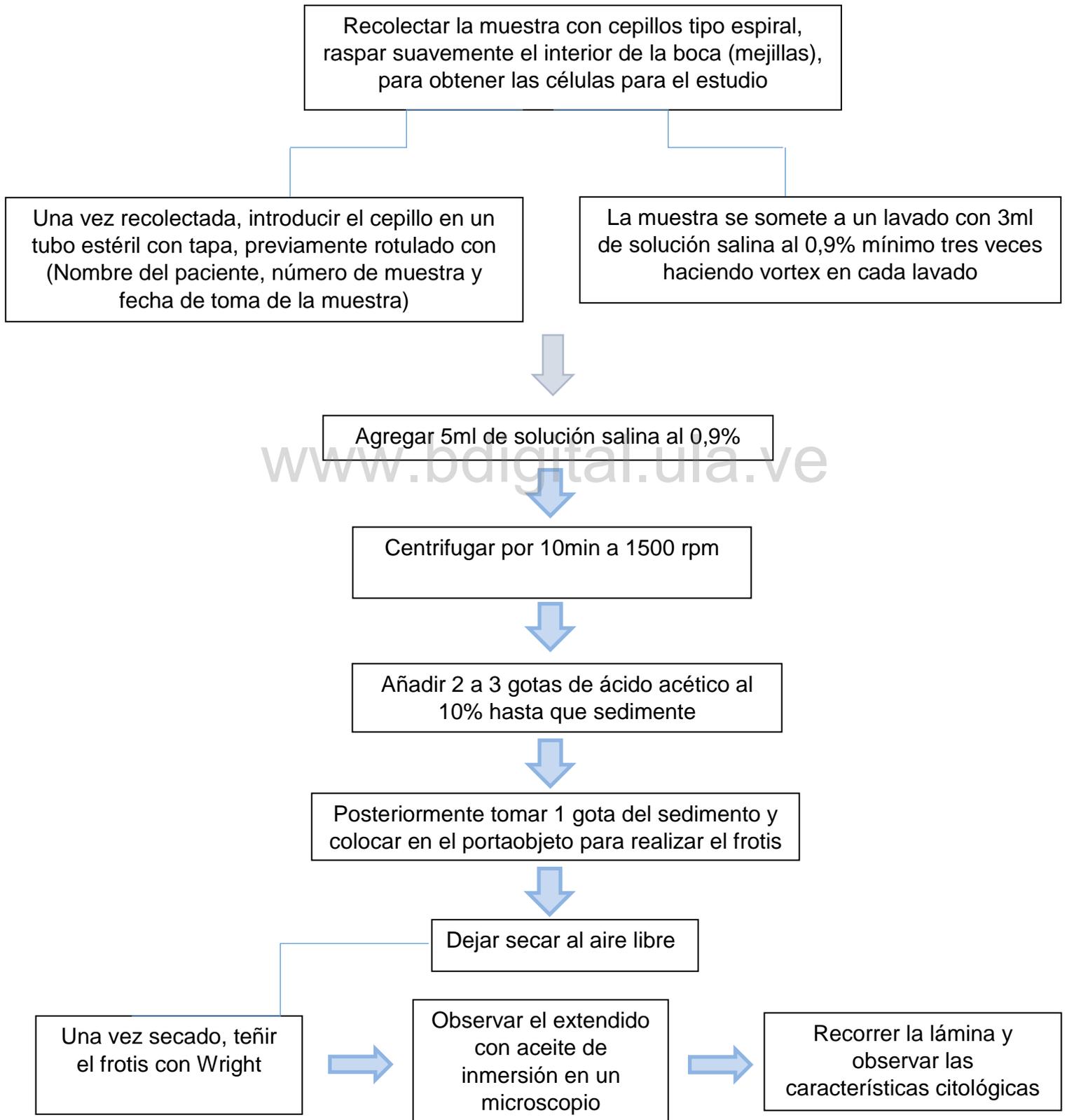
Tinción del Frotis: El objetivo de teñir los frotis es identificar las células y reconocer fácilmente la morfología a través del microscopio. Los métodos empleados para teñir las células de la sangre se basan en la utilización de colorantes como Wright. La cual, es una tinción policromática que consiste en una solución compuesta por el fijador de la muestra (metanol), el colorante ácido (eosina) y el colorante básico (azul de metileno), los cuales son sensibles a las variaciones de pH de las estructuras. Las propiedades de la

tinción dependen del enlace de los colorantes a las estructuras químicas celulares; de manera que los componentes celulares ácidos (como los ácidos nucleicos, proteínas de los núcleos celulares, y el citoplasma inmaduro reactivos) fijan los colorantes básicos (azul de metileno), mientras que las estructuras celulares básicas (como hemoglobina y proteínas básicas de ciertos gránulos) fijan los colorantes ácidos (eosina). (Mckenzie, 2000; Carr y Rodak, 2012).

www.bdigital.ula.ve

Esquema 1. Procedimiento de la investigación

Frotis Bucal



Esquema 2. Procedimiento de la investigación

Frotis sanguíneo



Diseño de análisis de datos

Los resultados de esta investigación serán analizados a través del enfoque semicuantitativo, mediante la descripción de la morfología celular de los frotis sanguíneo y bucal. Los datos se expresarán en gráficos de Excel versión 2016.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

En el grupo experimental se identificaron micronúcleos y otras alteraciones celulares, las cuales, pueden encontrarse normalmente o no (asociados a patologías) en los frotis sanguíneo y bucal. Estos hallazgos, se confrontaron con las fichas de recolección de datos de cada participante, así como con los datos epidemiológicos de los mismos y las condiciones bajo las cuales laboran estas personas en esos establecimientos.

Con respecto a los datos epidemiológicos, se encontró que el 81,25% (13/16) de las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas no presentan ningún tipo de patología y el resto de estos individuos presentan diabetes (6,25%) (1/16), hipertensión arterial (6,25%) (1/16) y alergia (6,25%) (1/16) (Tabla 4). Por otra parte, 60% (6/10) de las personas no expuestas no refirieron ninguna patología, el 20% (2/10) declararon tener alergias y el otro 20% (2/10) hipertensión arterial (Tabla 5).

Tabla 4. Características epidemiológicas de las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas

| Características Epidemiológicas | N=16 | % |
|--|-------------|----------|
| Diabetes | 1 | 6,25 |
| Alergias | 1 | 6,25 |
| Hipertensión Arterial | 1 | 6,25 |
| Cáncer | 0 | 0 |
| Transfusiones | 0 | 0 |
| Cardiopatías | 0 | 0 |
| Enf. Hematológicas | 0 | 0 |
| Anemia | 1 | 6,25 |
| Ninguna | 13 | 81,25 |

Tabla 5. Características epidemiológicas de las personas no expuesta ocupacionalmente a plaguicidas (grupo control)

| Características Epidemiológicas | N=10 | % |
|--|-------------|----------|
| Diabetes | 0 | 0 |
| Alergias | 2 | 20 |
| Hipertensión Arterial | 2 | 20 |
| Cáncer | 0 | 0 |
| Transfusiones | 0 | 0 |
| Cardiopatías | 0 | 0 |
| Enf. Hematológicas | 0 | 0 |
| Anemia | 0 | 0 |
| Ninguno | 6 | 60 |

En el caso de las manifestaciones clínicas o síntomas, el 18,75% (3/16) de las personas expuestas ocupacionalmente, refirieron tener cefalea mientras laboran en el establecimiento de trabajo, el 6,25% (1/16) declaró presentar mareos, el 6,25% (1/16) somnolencia, el 6,25% (1/16) fatiga, el

6,25% (1/16) picor en la piel, el 6,25% (1/16) asfixia y el 6,25% (1/16) rinitis a la hora de trabajar y manipular los agroquímicos (Tabla 6).

Tabla 6. Características relacionadas al tiempo de exposición de las personas expuestas ocupacionalmente y las manifestaciones clínicas presentadas por los mismos

| Características relacionadas al tiempo de exposición | N=16 | % |
|---|-------------|----------|
| 3-6 meses | 1 | 6,25 |
| 1-2 años | 7 | 43,75 |
| 3-5 años | 4 | 25 |
| 6-10 años | 2 | 12,5 |
| 11-20 años | 2 | 12,5 |
| Manifestaciones clínicas | | |
| Vómitos | 0 | 0 |
| Naúseas | 0 | 0 |
| Mareos | 1 | 6,25 |
| Cefalea | 3 | 18,75 |
| Somnolencia | 1 | 6,25 |
| Fatiga | 1 | 6,25 |
| Picor en la piel | 1 | 6,25 |
| Asfixia | 1 | 6,25 |
| Rinitis | 1 | 6,25 |

En cuanto al análisis del frotis bucal, se observó que el 56,25% (9/16) de las personas expuestas ocupacionalmente, presentaron micronúcleos (Imagen B y C) en las células epiteliales, el 56,25% (9/16) cariólisis, el 93,75% (15/16) aumento del tamaño nuclear, el 25% (4/16) binucleación (Imagen A), el 18,75% (3/16) picnosis y el 12,5% condensación de la cromatina (Tabla 7). Por otra parte, en las muestras del grupo control, no se observaron micronúcleos, solo se visualizaron algunas alteraciones celulares

como, aumento del tamaño nuclear 40% (4/10) (Imagen G), cromatina condensada 30% (3/10), cariolisis 20% (2/10) y picnosis el 10% (1/10) (Imagen F) (Tabla 8).

Tabla 7. Anormalidades celulares observadas en el frotis bucal de personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas

| Características | Expuestos | % |
|------------------------------|-----------|-------|
| Micronúcleos | 9 | 56,25 |
| Picnosis | 3 | 18,75 |
| Condensación de la cromatina | 2 | 12,5 |
| Cariolisis | 9 | 56,25 |
| Cariorrexis | 0 | 0 |
| Binucleación | 4 | 25 |
| Aumento del tamaño nuclear | 15 | 93,75 |

Tabla 8. Anormalidades celulares observadas en el frotis bucal de personas no expuestas ocupacionalmente a plaguicidas (grupo control)

| Características | No Expuestos | % |
|------------------------------|--------------|----|
| Micronúcleos | 0 | 0 |
| Picnosis | 1 | 10 |
| Condensación de la cromatina | 3 | 30 |
| Cariolisis | 2 | 20 |
| Cariorrexis | 0 | 0 |
| Binucleación | 2 | 20 |
| Aumento del tamaño nuclear | 4 | 40 |

En cuanto al análisis del frotis sanguíneo de los individuos ocupacionalmente expuestos, se observaron diferentes características las cuales se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 9. Características celulares de la línea roja en el frotis sanguíneo de personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas

| Características | Expuestos | % |
|-------------------------|------------------|----------|
| Anisocitosis | | |
| Macrociticos | 0 | 0 |
| Microciticos | 1 | 6,25 |
| Poiquilocitosis | | |
| Dacriocitos | 3 | 18,75 |
| Dianacitos | 2 | 12,5 |
| Eliptocitos | 5 | 31,25 |
| Acantocitos | 0 | 0 |
| Equinocitos | 10 | 62,5 |
| Drepanocitos | 7 | 43,75 |
| Estomatocitos | 5 | 31,25 |
| Queratocitos | 0 | 0 |
| Esquistocitos | 4 | 25 |
| Esferocitos | 3 | 18,75 |
| Color | | |
| Normocromico | 8 | 50 |
| Hipocromico | 8 | 50 |
| Inclusiones | | |
| Micronucleos | 14 | 87,5 |
| Punteado basofilo | 0 | 0 |
| Anillo de Cabot | 0 | 0 |
| Cuerpos de Heinz | 0 | 0 |
| Cuerpos de Pappenheimer | 0 | 0 |

En el frotis sanguíneo también se observó la morfología de las plaquetas y el 50% (8/16) de las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas

presentaban macroplaquetas, el resto de la población estudiada presentó una morfología plaquetaria normal.

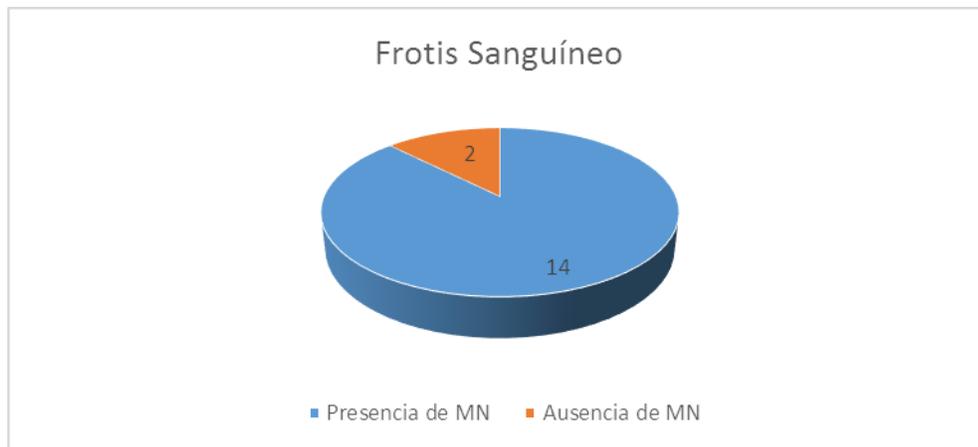
Por otra parte, se analizaron las características citológicas del grupo control (personas no expuestas ocupacionalmente a plaguicidas), encontrándolos siguientes resultados (Tabla 10):

Tabla 10. Características celulares de la línea roja en el frotis sanguíneo de personas no expuestas ocupacionalmente a plaguicidas (grupo control)

| Características | No expuestos | % |
|-------------------------|---------------------|----------|
| Anisocitosis | 0 | 0 |
| Macrociticos | | |
| Microciticos | | |
| Poiquilocitosis | | |
| Dacriocitos | 2 | 20 |
| Dianacitos | 0 | 0 |
| Eliptocitos | 1 | 10 |
| Acantocitos | 0 | 0 |
| Equinocitos | 3 | 30 |
| Drepanocitos | 2 | 20 |
| Estomatocitos | 0 | 0 |
| Queratocitos | 0 | 0 |
| Esquistocitos | 0 | 0 |
| Esferocitos | 0 | 0 |
| Color | | |
| Normocromico | 9 | 90 |
| Hipocromico | 1 | 10 |
| Inclusiones | | |
| Micronucleos | 0 | 0 |
| Punteado basofilo | 0 | 0 |
| Anillo de Cabot | 0 | 0 |
| Cuerpos de Heinz | 0 | 0 |
| Cuerpos de Pappenheimer | 0 | 0 |

En cuanto a la morfología plaquetaria, todas las personas que participaron como grupo control (10/10) presentaron una morfología plaquetaria normal.

Figura 1. Presencia de micronúcleos en frotis sanguíneo en relación a personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas



www.bdigital.ula.ve

Figura 2. Presencia de micronúcleos en frotis bucal en relación a personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas

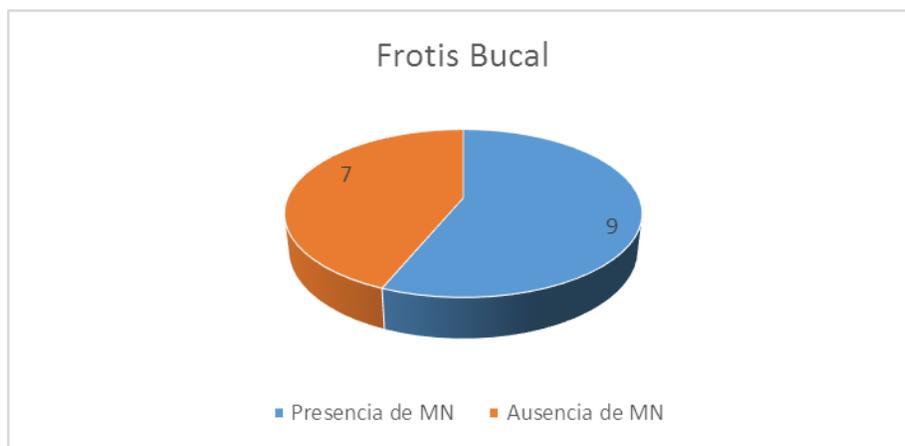
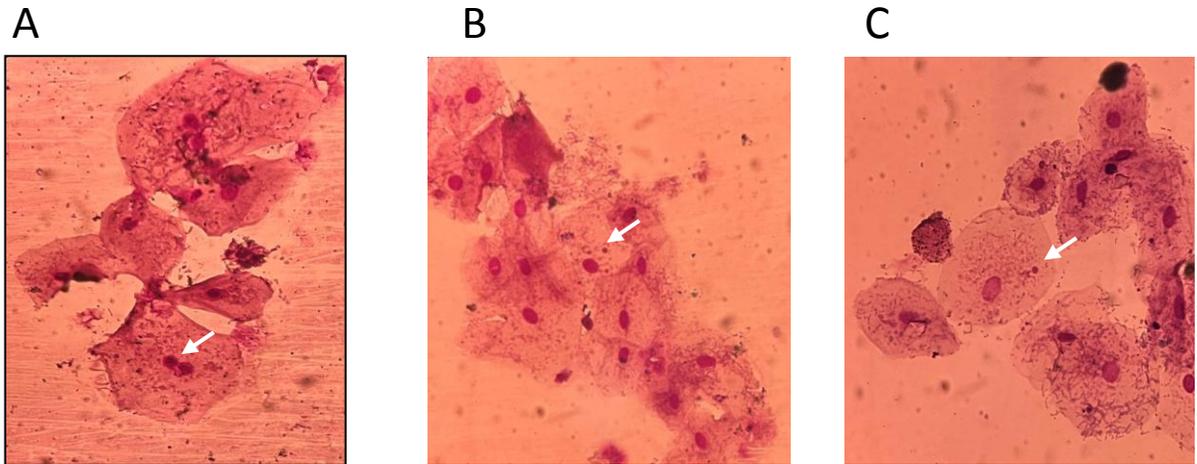


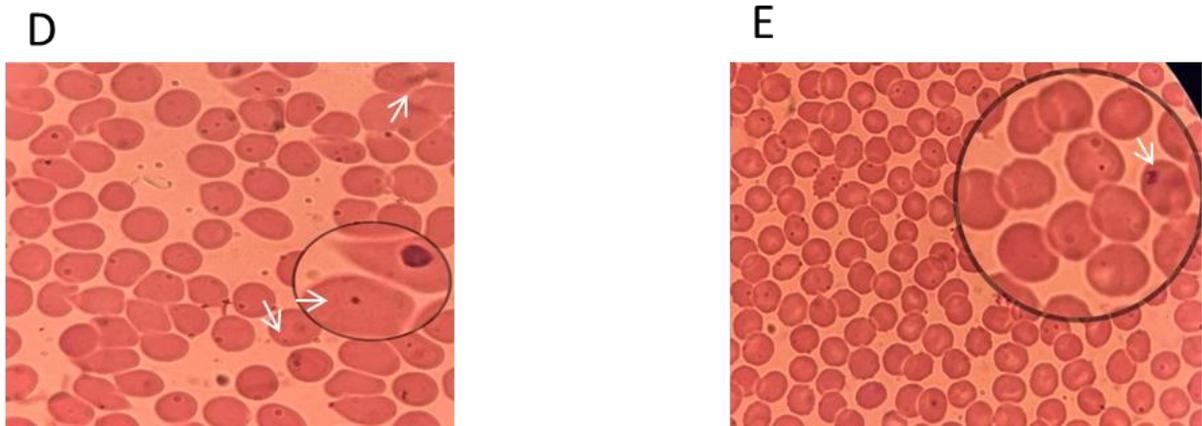
Figura 3. Frotis bucal de trabajadores expuestos ocupacionalmente a plaguicidas



Las imágenes corresponden a las muestras de frotis bucal grupo experimental. En la imagen A se observa una célula epitelial binucleada, en la imagen B se aprecia una célula epitelial con micronúcleos, en la imagen C se visualiza una célula epitelial con micronúcleos hacia la periferia.

www.bdigital.ula.ve

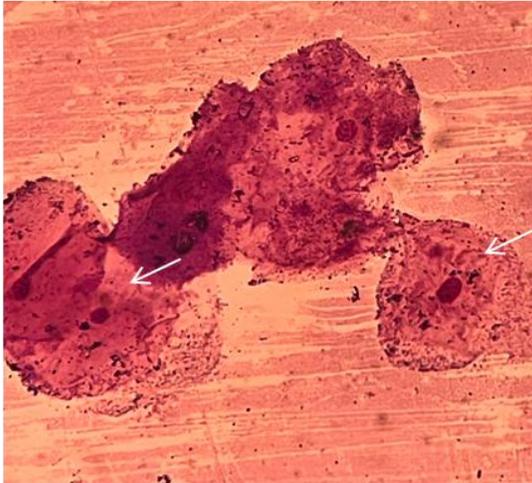
Figura 4. Frotis sanguíneo de trabajadores expuestos ocupacionalmente a plaguicidas



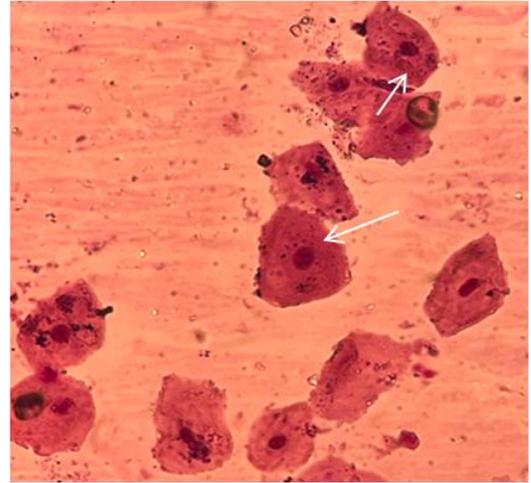
Las imágenes pertenecen a frotis sanguíneo del grupo experimental. En la imagen D y E se observan glóbulos rojos con micronúcleos (cuerpos de Howell Jolly).

Figura 5. Frotis bucal de personas no expuestas a plaguicidas (grupo control)

F



G

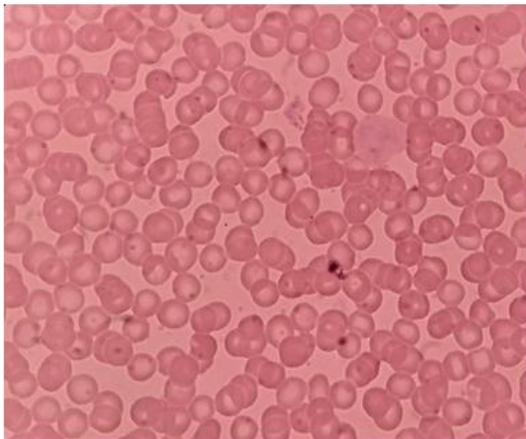


Las imágenes corresponden a frotis bucal del grupo control. En la imagen F se observa una célula epitelial con picnosis, en la imagen G se visualiza una célula epitelial con agrandamiento nuclear.

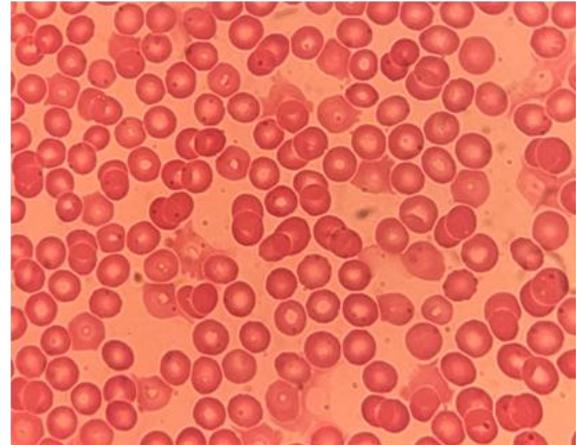
www.bdigital.ula.ve

Figura 6. Frotis Sanguíneo de personas no expuestas a plaguicidas (grupo control)

H



I



Las imágenes corresponden a frotis sanguíneo del grupo control. En las imágenes H e I, se visualizan los glóbulos rojos en condiciones normales.

Discusiones

En este estudio se examinaron las características citológicas de los frotis sanguíneo y bucal en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos. En relación a las características epidemiológicas, se encontró que la mayor parte de la población estudiada (81,25%) no presenta ninguna patología, el resto de los individuos refirieron padecer diabetes (6,25%), alergias (6,25%) e hipertensión (6,25%), lo cual nos hace inferir, que se estudió una población relativamente “sana”, dando mayor importancia al hallazgo de micronúcleos en los frotis de estas personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. Existen preocupaciones serias, sobre los riesgos a la salud humana, causados por la exposición ocupacional a residuos de plaguicidas en alimentos ó en el agua para consumo humano (Morales y Rodríguez, 2004; Flores y cols., 2011). A pesar de que se han realizado muchos estudios sobre la toxicidad de los plaguicidas y su destino en el ambiente, existe cierta incertidumbre sobre sus efectos a largo plazo, en particular sobre los efectos tóxicos de la exposición crónica a dosis bajas sobre la salud humana (Alavanja y cols., 2004; Payan y cols., 2012).

En cuanto a las manifestaciones clínicas, la más descrita por los trabajadores fue cefalea (18,75%), el resto de los trabajadores, manifestaron fatiga, somnolencia, picor en la piel, asfixia y rinitis, que pudieran estar asociadas a la exposición de estas sustancias. Algunas literaturas han sugerido, que uno de los mecanismos moleculares implicados en la toxicidad de los plaguicidas es, la peroxidación lipídica (Banergee, Seth y cols, 2019). La cual, no es mas que, un mecanismo de defensa del cuerpo frente a la presencia de radicales libres. Este mecanismo consiste, en la generación de productos superóxidos, tales como: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), entre otros, los cuales, ejercen un papel

protector frente a los efectos deletéreos de las especies reactivas del oxígeno, inducidos por plaguicidas (Matés, 2000).

Existen diferentes estudios, que relacionan a los plaguicidas con el estrés oxidativo y los daños causados sobre los sistemas de neurotransmisión (Slotkin y col., 2009; Torres-Altora y col., 2011). Uno de ellos, es el trabajo realizado por Drechsel y Patel en 2008, ellos establecieron que el estrés oxidativo juega un papel importante en la toxicidad de diversos compuestos químicos, como los plaguicidas, lo que puede contribuir a las manifestaciones tóxicas de estos compuestos. El daño tisular producido por los radicales libres, contribuye a la aparición de numerosos procesos patológicos de tipo crónico, lo que nos indica, que hay que darle una mayor importancia a este tipo de exposición, ya que se presenta de forma silenciosa.

En relación al tiempo de exposición, la mayor parte de los individuos estudiados (43,75%) indicaron estar trabajar en esos establecimientos de 1 a 2 años, los demás refirieron tener un tiempo de 3 a 5 años (25%), 6 a 10 años (12,5%), 11 a 20 años (12,5%) y de 3 a 6 meses (6,25%), todos los individuos tuvieron en común, un régimen de trabajo de 8 a 10 horas al día. De igual forma, expresaron no usar ningún tipo de implementos de protección a la hora de manipular estas sustancias, y coincidieron en que los productos que más manipulan en estos establecimientos son: Yaramila, Clorpirifós, Glifosol, Gramoxone (paraquat) y Metomil, las cuales, son sustancias pertenecientes a los grupos de organofosforados, bupiridilos y carbamatos respectivamente.

En la mayoría de las personas estudiadas, se observó la presencia de micronúcleos tanto en el frotis sanguíneo como en el frotis bucal, lo que sugiere que, sin importar el tiempo de exposición que tengan las personas, igual aparecen alteraciones en el material genético de estos individuos. Solo en el 12,5% de la población, no se observó la presencia de micronúcleos en

el frotis sanguíneo, lo cual, pudo deberse, a que 2 de las personas estudiadas, refirieron no tener contacto con estas sustancias, ya que laboran en el área administrativa de estos establecimientos.

También se observaron otras características y anormalidades en el frotis bucal de los individuos expuestos, las cuales coinciden con los referidos por, Kvitko y cols, (2012), Benedetti y cols (2013) y Carbajal y cols. (2016), quienes encontraron un incremento significativo en las frecuencias de células binucleadas, cromatina condensada y células cariolíticas en trabajadores expuestos en comparación con el grupo control, este incremento de alteraciones nucleares es principalmente resultado de la continua exposición a plaguicidas.

En relación a la observación microscópica de los frotis sanguíneos, se encontraron ciertas anormalidades, las cuales, concuerdan con Esparza y Forero (2018), quienes describieron que 18 agricultores que presentaron alteraciones morfológicas en los glóbulos rojos. Aproximadamente el 10% de la muestra, de las cuales 8 (4,3%) presentaron estomatocitosis, 9 (4,8%) hipercromía y 1 (0,5%) hipocromía.

En cuanto a la morfología de las plaquetas, el 50% (8/16) de las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas presentaban macroplaquetas, el resto de la población estudiada presentó una morfología plaquetaria normal. Esparza y Forero (2018) reportaron hallazgos similares en la provincia de Chimborazo, Ecuador, donde el 28% de los agricultores presentaron plaquetas grandes mientras que el 72% de la población presentaron plaquetas con morfología normal.

En este sentido, vale destacar que la presente investigación describe solo las características celulares de tipo cualitativa de un grupo de trabajadores pertenecientes a los establecimientos de venta de plaguicidas.

Finalmente, con respecto al análisis y valoración cualitativa de los frotis de sangre periférica y bucal de estos trabajadores, sugerimos correlacionar los valores cualitativos con parámetros hematológicos cuantitativos, de esta manera estaríamos corroborando con veracidad los cambios presentes en las alteraciones citológicas debido a la constante exposición con los plaguicidas.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO V

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

En el presente trabajo, se pudo evidenciar alteraciones en el 87,5% de los frotis sanguíneos y en el 56,25% de los frotis bucales, de las personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas, lo cual sugiere, que estas sustancias (plaguicidas) pueden ser capaces de producir alteraciones a nivel de las células epiteliales (anormalidades nucleares y presencia de micronúcleos) y de las células de la sangre, especialmente las de la línea roja, con la presencia de micronúcleos y alteraciones celulares. Así también como, la variación de la morfología plaquetaria.

Por otra parte, no se encontraron variaciones en la morfología de la serie blanca, de la muestra de sangre periférica evaluada, se observaron glóbulos blancos normales.

Este estudio representa una primera aproximación, a la problemática que representa la exposición crónica a plaguicidas, por parte de los trabajadores que manipulan y expenden este tipo de sustancias.

También se pudo determinar por medio de los resultados obtenidos, que la constante exposición a los plaguicidas, genera un mayor riesgo a desarrollar múltiples enfermedades.

El 100% de la población estudiada, no utiliza ningún tipo de protección a la hora de manipular estas sustancias y desconocen los posibles daños a la salud, que causa la exposición a estos tóxicos.

Recomendaciones

- ✓ Informar a la sociedad sobre la manipulación responsable de las sustancias químicas en los establecimientos agropecuarios.
- ✓ Educar a la población interesada sobre los efectos y diversas patologías que se pudieran desencadenarse por la exposición a estas sustancias de forma crónica.
- ✓ Concientizar tanto a los trabajadores como a los empleadores, sobre la implementación de medidas de seguridad en cada establecimiento, así como el uso de elementos de protección, tales como tapabocas de alta eficiencia, careta ocular sellada para productos químicos y guantes de nitrilo, neopreno o látex, con el fin de reducir el contacto directo con estos productos.
- ✓ Realizar exámenes de laboratorio como: niveles de colinesterasa, hemograma completo, examen de orina, pruebas de función renal: nitrógeno, creatinina y urea, pruebas de función hepática: tiempo de protrombina, transaminasas, fosfatasa alcalina y bilirrubina. Realizar estos exámenes de forma regular, para la monitorización de la salud de los trabajadores y la detección a tiempo de cualquier daño.
- ✓ Realizar otras pruebas paraclínicas (de ser necesario) como, radiografía de tórax para evidenciar cualquier afección pulmonar.
- ✓ Elaborar una historia clínica pre exposición como documento de referencia para los siguientes exámenes médicos periódicos durante la actividad laboral, cual permita además efectuar una vigilancia epidemiológica.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Agudelo, M. (2020). Efectos genotóxicos por exposición a mezclas de plaguicidas en la actividad agrícola: revisión de alcance de 2009 a 2019 (Trabajo de investigación). Universidad del Rosario, Bogotá.
- Alavanja C., Hoppin J. y Kamel, F. (2004). Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Health*, 25:155-197.
- Almiron M., Rosende R. Zamudio M. y Gili, M. (2011). Valoración de la citología exfoliativa como método diagnóstico a propósito de un Carcinoma escamoso de lengua. *Rev. Facultad de Odontología*, 1 (1), 1-8.
- Arias G. (2006). **El proyecto de la investigación**. Caracas: 6° edición.
- Banergee B., Seth V. Bhattacharya A. y Chakraborty, P. (2019). Biochemical effects of some pesticide on lipid peroxidation and free radical scavengers. *Toxicol Lett*, 107:33-47.
- Bedmar, F. (2011). Informe especial sobre plaguicidas agrícolas. **Universidad Nacional de mar de Plata**, 21 (122), 1-2.
- Beltran, O.; Moreno, M.; Acota, H., Tapia, M. (2019). Estudio sobre el uso de plaguicidas y su posible relación con daños a la salud. *Revista de Toxicología*, 36 (2), 149-162.
- Carr R. (2000). **Atlas hematología Editorial Panamericana**. Madrid – España. Editorial Medica Panamericana.
- Castillo, E., Guevara, M y Fujita, R. (2011). Optimización del test de micronucleos en linfocitos cultivados usando una metodología de gradiente y frotis. *Revista Peruana de Biología*, 18, 261-264. Doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v18i2.241>.
- Cedano, A., Martinez S. Escaladera F. y Salgado, S. (2012). La prueba de micronúcleos en sangre como bioindicador de genotoxicos. *AbanicoVeterinario*, 2 (2), 43-52.

- Cordoba D. (2006). Toxicología En Hoyos, L, *Genotoxicidad de los plaguicidas mutagenicidad, carcinogenicidad y teratogenicidad* (pp. 239-254). Bogotá D.C: Editorial El Manual Moderno.
- Córdoba, J.A (2008). *Epidemiología de las intoxicaciones agudas causadas por plaguicidas en el departamento de Jinotega en el período comprendido de enero del 2001 a diciembre del 2006* (Trabajo de Investigación). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León.
- Cortes, C. (2017). *Evaluación de los parámetros hematológicos: Cuadro hemático y frotis de sangre periférica, en trabajadores expuestos a pesticidas organofosforados, carbamatos y piretroides. Cundinamarca 2016-2017* (Trabajo de investigación). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Curtis, K y Watkins III, J. (2005). Efectos de los tóxicos sobre la sangre En Bloom, J y Brandt, J, *Fundamentos de la toxicología* (pp. 172-183). España: Mc Graw Hill.
- Curtis, K y Watkins III, J. (2005). Historia y alcance de la toxicología En Gallo, M, *Fundamentos de la toxicología* (pp. 1-6). España: Mc Graw Hill.
- Domínguez A., Rojas E. Romero L. y Perez, I. (2005). Lesiones citológicas bucoepiteliales en trabajadores expuestos a productos químicos. **Rev. Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social**, 43(3), 221- 227.
- Duvan S., Meléndez M. Villegas V. Sánchez M y Rondón, M. (2020). Daño celular y genético como determinantes de la toxicidad de los plaguicidas. **Rev. Ciencia en Desarrollo**, 11(2), 1-18.
- Drechsel D., y Patel, M. (2008) Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. **Free Rad Biol Med**, 44(11):1873-1886.
- Esparza, J., y Forero, F. (2018). “*Alteraciones cualitativas y cuantitativas de las células sanguíneas asociadas al uso de plaguicidas organofosforados en agricultores por exposición ocupacional en la*

- Comunidad de Guaslán, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo, junio 2018-octubre 2018*” (Trabajo de investigación). Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Espinoza, S. (2016). *El ensayo de micronucleos en células uroteliales como indicador diagnóstico/pronóstico de riesgo genotóxico/carcinogénico*. (Trabajo de investigación). Universidad Autónoma de Barcelona.
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. **Rev Anales del sistema sanitaria de navarra**, 26 (1), 2-18.
- Ferre, D.; Quero, M.; Hynes, V.; Saldeña, E.; Lentini, E.; Tornello, M.; Carracedo, R.; Gorla, N. (2018). Ensayo de micronúcleos de citoma bucal en trabajadores de fincas frutícolas que han aplicado plaguicidas alrededor de quince años. **Rev. Int. Contam. Ambie.** 34, 23-33.
Doi: 10.20937/RICA.2018.34.01.02
- Finklea, J.; Messite, J.; Coppée, G.; Sauter, S.; Hunt, V.; Spiegel, M.; Kraus, R.; Colin, S.; Wolfgang, L.; Benedetto, T.; Melvin, L. (1998). **Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo**. Madrid: Chantal Dufresne, BA.
- Flores M., Molina Y, Balza A, Benitez P. y Contreras, M. (2011). Residuos de plaguicidas en aguas para consumo humano en una comunidad agrícola del Estado Mérida. **Invest Clin**, 52(4):295-311.
- Gentile, N.; Bernardi, N.; Bosch, B.; Mañas, F., Aiassa, D. (2016). Estudios de genotoxicidad en trabajadores rurales y familias. **Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas**, 35(3), 228-239.
- Gómez S., López C. Calderón A. Villalobos M. y Waliszewski, R. (2013). Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en américa latina. **Rev. Internacional de Contaminación Ambiental**, 29 (1), 159-180.
- Gutierrez, W.; Cerda, P.; Plaza, J.; Mieres, J., Paris, E.; Rios, J. (2015). Caracterización de las exposiciones a plaguicidas entre los años 2006

- 2013 reportadas al Centro de Información. **Rev Med Chile** 143, 1306-1313.
- Karam, M; Ramirez, G; Bustamante, P; Galvan, J. (2004). Plaguicidas y salud de la población. **Ciencias de la salud humana**, 11 (3), 246-254.
- Hurtado J. (2010). **El proyecto de investigación, comprensión holística de la metodología y la investigación**. Bogotá-Caracas: Ediciones Quirón.
- Larrea M., Tirado N. y Ascarrunz, M. (2010). Daño genotóxico por exposición, a plaguicidas en agricultores del Municipio de Luribay. **Revistas Bolivianas**, 18 (2), 31-43.
- Ley N^o 5554. Ley sobre sustancias, materiales y desechos peligrosos (13 de Noviembre del 2001) Gaceta oficial de la República Bolivariana de Venezuela
- Mckenzie, B. (2000). **Hematología Clínica, El manual moderno**. México: Panamericana
- Maldonado, H. (1997). El uso de plaguicidas, la salud y la educación agrícola (Municipio) Junin. Edo. Táchira (Venezuela). **Rev. Geoenseñanza**, 2-1997(2), 62 – 75.
- Martinez, L.; Armendariz, B.; Waliszewski, S.; Arroyo, S.; Lara, M.; Cervantes, Marisol. (2019). Daño genético y citotóxico provocado por plaguicidas en jornaleros que laboran en invernaderos en atlixco, puebla, México. **Rev. Int. Contam. Ambie.** 35, 271-279, 2019 DOI: 10.20937/RICA.2019.35.02.01
- Matheus T., Bolaños, A. (2014). Micronucleos: Biomarcador de genotoxicidad en expuesto a plaguicidas. **Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud**, 18, (2), 18-24.
- Mendoza, J.H. (2004). *Introducción a la Patología* (Trabajo de Investigación) Universidad de las ciencias médicas de la Habana, Habana.

- Morales C. y Rodriguez, N. (2004). El Clorpirifos: posible disruptor endocrino en bovinos de leche. **Rev Col Ciene Pec**, 17(3):255-266.
- Ordoñez, V.; Moreno, M.; Parra, H.; Martínez, M.E. (2019). Estudio sobre el uso de plaguicidas y su posible relación con daños a la salud. **Revista de Toxicología**, 36, 1-16.
- Palella, S. S; Martins, F. (2012). **Metodología de la Investigación Cuantitativa**. Caracas: Fedupel.
- Payan R., Garibay C. Rangel A. Preciado M. Muñoz I. Beltran M. y Jave, S. (2013). Effect of chronic pesticide exposure in farm workers of a Mexico community. **Enviromental & occupational Health**, 67 (1): 22-30.
- Perez A. (2009). **Guia metodologica para anteproyectos de investigacion**. Caracas – Venezuela: FEDUPEL.
- Slotkin T., Levin E. y Seidler, FJ. (2009). Developmental neurotoxicity of parathion: progressive effects on serotonergic systems in adolescence and adulthood. **Neurotoxicol Teratol**, 31(1):11-17.
- Terry N. y Mendoza, C. (2017). Importancia del estudio del frotis de sangre periférica en ancianos. **Revista Electrónica Medi Sur**, 15 (3),362-382.
- Torres M., Mathur B. Drerup J. Thomas R. Lovinger D. O'Callaghan J. y Bibb. J.(2011). Organophosphates dysregulate dopamine signaling, glutamatergic neurotransmission, and induce neuronal injury markers in striatum. **Neurochem**, 119(2):303-13
- Torres, O., y Ramos, M. (2013). Utilidad de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. **Int. J. Morphol**, 31, 650-657. Doi: 10.4067/S0717-95022013000200050.
- Torres O., Ramos M., Carrillo C. y Zavala, J. (2016). El ensayo de micronúcleos y otras anomalías nucleares en células de mucosa bucal como biomarcadores de genotoxicidad y citotoxicidad en

personal expuesto a gases anestésicos. **Revista Colombiana de Salud Ocupacional**, 6. (1) ,3-8.

Vila J., Van Der R. y García, A. (2014). Evaluación de la exposición laboral a plaguicidas en España mediante una Matriz empleo-exposición (MatEmESp, 1996-2005). **Rev. Medicina y Seguridad del trabajo**, 60 (237), 645-659.

Villafranca D. (2002). **Metodología de la Investigación**. Caracas – Venezuela: Editorial Fundaca.

Zalacain M., Sierrasesumaga L. y Patiño, A. (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. **An. Sist. Santt. Navar**, 28 (2), 227-236.

www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

Anexo 1. Ficha de inclusión para el estudio



Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Escuela de Bioanálisis



Ficha de Inclusión para el Estudio

La siguiente lista de cotejo es para un estudio sobre Características citológicas de micronúcleos del frotis sanguíneo y bucal en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos. La participación en esta investigación es de carácter voluntario.

Datos Personales:

Edad: _____

Género: _____

Muestra N°: _____

Tipo de muestra hisopado bucal: _____ Frotis sanguíneo: _____

Fecha y hora de toma de muestra: _____

Tiempo de trabajo en el establecimiento: _____

Horario de trabajo: _____

Sustancias que más manipula (despacha): _____

¿Ha tenido algún riesgo laboral? : _____

¿Toma algún medicamento? _____ ¿Cuál? _____

Anticonceptivos orales: _____

¿Padece de alguna enfermedad? __ ¿Cuál? _____

Antecedentes familiares: _____

Observación: _____

Anexo 2. Lista de cotejo de los datos personales y epidemiológicos y de las condiciones laborales de las personas estudiadas



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
MÉRIDA- VENEZUELA



TRABAJO DE GRADO

Características citológicas de micronúcleos del frotis sanguíneo y bucal en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en establecimientos de venta de agroquímicos.

| | | | | | | | | |
|--|--------|--------------|-------------|-------------------|-------------|---|---------|--|
| N° DEL PACIENTE: | | | | | FECHA: | / | / | |
| NOMBRE Y APELLIDO: | | | | | | | | |
| EDAD: | SEXO | PROCEDENCIA: | | | | | | |
| DOMICILIO: | | | | | | | | |
| TELEF: | | | | EDO CIVIL: | | | | |
| OCUPACION : | | | | LUGAR DE TRABAJO: | | | | |
| GRADO DE INSTRUCCIÓN: | | | | | | | | |
| ANTECEDENTES PATOLÓGICOS HEREDITARIOS | | | | | | | | |
| | SI | NO | ESPECIFIQUE | | | | | |
| DIABETES | | | | | | | | |
| ALERGIAS | | | | | | | | |
| HTA | | | | | | | | |
| CANCER | | | | | | | | |
| TRANSFUSIONES | | | | | | | | |
| CARDIOPATIAS | | | | | | | | |
| ENFERMEDADES HEMATOLOGICAS | | | | | | | | |
| ANEMIA | | | | | | | | |
| HABITOS DE SALUD | | | | | | | | |
| | SI | NO | ESPECIFIQUE | | | | | |
| TABAQUISMO | | | | | | | | |
| ALCOHOLISMO | | | | | | | | |
| DROGAS | | | | | | | | |
| CHIMO | | | | | | | | |
| SE AUTOMEDICA | | | | | | | | |
| ACT. FISICA | | | | | | | | |
| | SI | NO | REGULAR | | MODERADA | | INTENSA | |
| DIETAS | | | | | | | | |
| | CARNES | | VEGETALES | | AMBAS | | | |
| SINTOMAS QUE PRESENTA EN EL LUGAR TRABAJO | | | | | | | | |
| MAREO | | | | | VOMITO | | | |
| NAUSEAS | | | | | SOMNOLENCIA | | | |
| DOLOR DE CABEZA | SI | | NO | | FRECUENCIA | | | |