Plaguicidas en la agricultura:

Implicaciones para la salud en comunidades agrícolas de Santa Cruz

EIU
UAGRM Editorial e Imprenta Universitaria

Investigadores

Gestión del proyecto:

Adriana Montero de Burela

Planificación y diseño metodológico:

Ana Rosa Angulo Arauz

Mercedes Nostas Ardaya

Luis Adolfo Mercado Roca

Noemí Sandra Tirado Bustillos

María Isabel Magne Salazar

Análisis cromatográfico:

María Isabel Magne Salazar

Adan Velasco Osinaga

Jaime Ernesto García García

Alejandra Nirha Bazán Mercado

Mario Eduardo Cors Machina

Erika Almanza Zambrana

Luis Adolfo Mercado Roca

Análisis clínicos

Maria Rosa Bautista Ferrufino

Jesús Callpa Camburey

Estudios de genotoxicidad

Noemí Sandra Tirado Bustillos

Josue Mamani Jarro

Análisis estadístico

Luis Adolfo Mercado Roca

Josue Mamani Jarro

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas de las cuatro zonas agroecológicas donde se realizó el estudio, por su confianza y excelente disposición a participar en la investigación.

A los estudiantes que se involucraron en el trabajo de campo, quienes contribuyeron significativamente al levantamiento de información epidemiológica y a la recolección de muestras.

A las Universidades Gabriel René Moreno (UAGRM) de Santa Cruz, con el Instituto de investigación de Humanidades (INIFH), la Carrera de Bioquímica y el Laboratorio Académico y de Investigación de Ingeniería Ambiental/DICiT, a la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA), de La Paz, mediante la Unidad de Genética Toxicológica del Instituto de Genética, y la Universidad Católica Boliviana, sede Santa Cruz, mediante la carrera y el Instituto de Investigación de Medicina, que permitieron realizar la investigación con la participación de sus investigadores, utilizando sus instalaciones, equipamiento y técnicas especializadas.

Al Dr. Christian Lindh de la Universidad de Lund (Division of Occupational and Environmental Medicine) – Suecia, por la realización de los análisis de determinación de los metabolitos de plaguicidas en orina con el financiamiento del proyecto Toxbol.

Contenido

Abreviatura y siglas 9
Presentación 11
1. Introducción y antecedentes 15
1.1 Contextualización sobre la problemática 15
1.2 Caracterización de zonas de estudio 17
1.3 Antecedentes 19
2. Aspectos conceptuales y metodológicos 22
2.1 Los plaguicidas 22
2.2 Aspectos metodológicos 24
2.2.1 Diseño del estudio 24
2.2.2 Reclutamiento de la población participante 25
2.2.3 Proceso de recolección de la información 26
2.2.4 Análisis estadístico de los datos 27
3. Principales resultados 28
3.1 Determinación de biomarcadores de exposición en matrices biológicas 28
3.1.1 Introducción 28
3.1.2 Métodos analíticos utilizados 31
3.1.3 Concentración de biomarcadores en muestras biológicas 35
3.2 Estudio de la afectación a la salud por la exposición a plaguicidas en comunidades agrícolas 45
3.2.1 Introducción 45
3.2.2 Caracterización de la población 47
3.2.3 Evaluación de biomarcadores de efecto 49
3.3 Evaluación de riesgo genotóxico 54
3.3.1 Introducción 54
3.3.2 Genética toxicológica 56
3.3.3 Biomonitorización de la población expuesta a agentes genotóxicos 57
3.3.4 Resultados 63

4. Conclusiones y propuestas 69
4.1 Proceso de Biomonitorización 70
4.2 Medición de los efectos en la salud 70
4.3 Evaluación de riesgo genotóxico 71
Referencias 73

Abreviatura y siglas

ABI	Agencia Boliviana de Información
AC	Aberraciones cromosómicas
ADN/DNA	Ácido Desoxirribonucleico
AMPA	Ácido Aminometil fosfonico
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
ERC	Enfermedad Renal Crónica
EPP	Equipo de Protección Personal
FCET	Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología
FG	Filtrado Glomerular
GC – MS	Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas
GTCC-J	Grupo de Trabajo Cambio Climático y Justicia
HCB	Hexaclorobenzeno
HCH	Hexaclorociclohexano
HPLC – MS/MS	Cromatografía Liquida de Alta Resolución – Espectrometría de Masas con Triple Cuadrupolo
IARC	Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer
IBCE	Instituto Boliviano de Comercio Exterior
IMC	Índice de Masa Corporal
INCADE	Instituto de Capacitación para el Desarrollo
INE	Instituto Nacional de Estadística
INIFH	Instituto de Investigación de la Facultad de Humanidades
MN	Micronúcleos

SENASAG	Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria
UAGRM	Universidad Autónoma Gabriel René Moreno
UMSA	Universidad Mayor de San Andrés

Presentación

Esta publicación constituye un documento de trabajo que tiene como principal finalidad responder a una preocupación compartida a nivel global, respecto a la creciente problemática sobre el uso y manejo de agroquímicos y sus efectos en el medio ambiente, la salud y la seguridad alimentaria. A dicha problemática se articula la necesidad de contar con conocimientos basados en evidencia respecto al uso y a la exposición a plaguicidas en las actividades agrícolas.

Desde ese marco, y a partir de reflexiones entre instituciones, pequeños productores, consumidores y organizaciones de la sociedad civil, se definió desarrollar procesos de investigación sobre estas temáticas en diversas zonas agroecológicas del Departamento de Santa Cruz.

Luego de una primera etapa, donde se tuvo como resultado la publicación de un estudio sobre el uso y manejo de agroquímicos en la producción agrícola en cuatro comunidades del Departamento de Santa Cruz, bajo coordinación de la Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, (UAGRM) y el Grupo de Trabajo de Cambio Climático y Justicia (GTCCJ), se definió desarrollar una segunda etapa de trabajo.

Es así como la presente publicación responde al compromiso interinstitucional establecido como una segunda fase, para la producción de conocimiento de relevancia académica y pertinencia social. En el proyecto participan la UAGRM de Santa Cruz, con el Instituto de Investigación de la Facultad de Humanidades (INIFH, gestión 2017-2020), la Carrera de Bioquímica y el Laboratorio Académico y de Investigación de Ingeniería Ambiental, la Dirección de Investigación Ciencia e Innovación Tecnológica,/DICiT, la UMSA, de la Paz, mediante la Unidad de Genética Toxicológica del Instituto

de Genética, y la Universidad Católica Boliviana, unidad de Santa Cruz, mediante la carrera y el Instituto de Investigación de Medicina.

Como resultado, se cuenta con este documento de trabajo que sistematiza y comparte los principales hallazgos obtenidos en el proceso de investigación, el mismo que implicó la realización de tres estudios integrados entre sí, consistentes en: 1) Biomonitorización de la exposición a plaguicidas, 2) Medición de los efectos en la salud, y 3) Estudios de genotoxicidad

El objetivo fundamental de este documento de trabajo es divulgar los principales resultados obtenidos, enfatizando que se trata de estudios iniciales. Los equipos a cargo se encuentran gestionando la publicación de sus correspondientes artículos científicos.

Para la presente publicación se comparte una síntesis de los trabajos realizados, en perspectiva de aportar a la sensibilización de la sociedad y público en general. En particular, para impulsar la incidencia política ante autoridades y tomadores/as de decisión, respecto a la atención y cuidado de la salud en el contexto de exposición a plaguicidas, y a la necesidad de desarrollar políticas y normativas.

En la primera y la segunda sección se plantea la contextualización sobre la problemática, la caracterización de las zonas de estudio, la metodología, los principales referentes conceptuales y los instrumentos y técnicas utilizadas.

La parte central, desarrollada en la tercera sección, presenta los principales resultados de los estudios. Cada uno de los textos contiene una descripción general sobre los métodos, ensayos y estudios realizados, así como los principales resultados y análisis de los datos.

Una primera parte contiene los resultados del estudio sobre biomonitorización de la exposición a plaguicidas, describiendo los métodos cromatográficos empleados y los resultados de las muestras tomadas en orina y suero sanguíneo. La siguiente sección, expone los estudios realizados para medir los efectos en la salud, los resultados del perfil renal, hepático, triglicéridos, colesterol, etc. La tercera describe los ensayos empleados para la evaluación de riesgo genotóxico y los resultados de los estudios de genotoxicidad.

Finalmente, en la última sección del documento, a manera de cierre, se plantea un conjunto de propuestas emergentes del proceso de trabajo.

1. Introducción y antecedentes

Mercedes Nostas Ardaya, Ana Rosa Angulo Arauz

1.1 Contextualización sobre la problemática

En los últimos años el Departamento de Santa Cruz ha tenido un considerable incremento de la superficie cultivada, sobre todo de productos relacionados con la agroindustria. En el Censo Nacional de Población y Vivienda de 2012 se registró la cantidad 1.677.251 hectáreas, que correspondía al 60,76% del total cultivado en Bolivia (INE, 2015). Condori[1], cita el dato expuesto por el IBCE en 2021, mencionando un área cultivada de 2,9 millones de hectáreas, la misma que contribuyó al volumen total producido en Bolivia con 100% de sorgo, 100% de girasol, 99% de soya, 92% de caña de azúcar, 75% de trigo, 72% de arroz, 66% de maíz y 31% de hortalizas. Este crecimiento es comentado por Fundación Tierra, en una nota periodística (El Deber, octubre de 2023), donde se sostiene que en los últimos 40 años la superficie cultivada en el Departamento de Santa Cruz se multiplicó 11 veces, es decir de 264.800 hectáreas a más de tres millones.

El incremento de la superficie cultivada se desarrolló mediante un sistema de producción extensivo, en términos de superficie ocupada, e intensivo, en cuanto al paquete tecnológico utilizado para lograr un mayor rendimiento y un control de “plagas”. En Santa Cruz, las condiciones climáticas en casi todas las zonas agroecológicas permiten la realización de una campaña de verano y otra de invierno. Se produce tanto los cultivos intercalados (soya-trigo; soya- sorgo; soya-girasol), como la siembra de soya en las dos campañas,

1 Condori, M. (21 de septiembre de 2022). Santa Cruz batió récord en producción de alimentos con 16,4 millones de toneladas en 2021. Obtenido de Noticias ABI: https://abi.bo/index.php

constituyéndose en un sistema de producción extractivista por el continuo manejo de monocultivos. El impacto en el ecosistema ha derivado en un incremento de problemas fitosanitarios en los cultivos, tales como la alta incidencia de afectación de insectos y plagas, la aparición de enfermedades, la resistencia de hierbas que compiten con los cultivos y el debilitamiento de los suelos.

En ese marco, los agroquímicos (herbicidas, insecticidas, fungicidas, otros), se han convertido en un componente central del sistema de producción agrícola descrito, que además se caracteriza por inducir a la incorporación de semillas resistentes a herbicidas, como por ejemplo semillas transgénicas de soya con resistencia al Glifosato. En el estudio sobre uso y manejo de los agroquímicos, realizado en 2018, en cuatro zonas agroecológicas de Santa Cruz, se identificó un total de 243 nombres de productos agroquímicos utilizados; el 42,1% no ofrecía mayor peligro (etiqueta verde), mientras que el 56,4% de agroquímicos tenía grados de peligrosidad, es decir, etiquetas azules, amarillas y rojas. De éstos, la mayoría son insecticidas (38%), le siguen fungicidas (24%), y el resto herbicidas y fertilizantes (Grupo de Trabajo Cambio Climático y Justicia GTCC-J & Instituto de Investigación de la Facultad de Humanidades INIFH, 2018).

Datos disponibles para Bolivia, divulgados en prensa, muestran que en el año 2000 “se empleaban, en promedio, 16,1 kilos de agroquímicos por hectárea (kg/ha), cantidad que casi se triplicó en 2020, año en el que se usó 44,8 kg/ha (+178,26%)”. El artículo señala que, de acuerdo a Probioma, “la importación de agroquímicos -fertilizantes, fungicidas, insecticidas, herbicidas y otros- casi se multiplicó por seis, de 30,4 millones de kilogramos brutos (peso del producto, incluyendo el peso del contenedor o empaque) a 173,9 millones, aunque esta cifra está lejos de reflejar la realidad”. Se afirma que los incrementos registrados no se reflejan en una mejora del rendimiento por hectárea en el mismo periodo, el cual

“calculado en toneladas por hectárea (t/ha), se elevó apenas de 4,9 a 5,7 (+16%)”. (Cámara Agropecuaria del Oriente, 2022)

Otros datos recientes, registrados por el Instituto Nacional de Estadística (INE, en IBCE, 2020), exponen que en los últimos años el sector agrícola demandó herbicidas por una cantidad cercana a los 29.2 millones de kilos por año. Según información del Comercio Exterior, los que registran mayor porcentaje de importación son el Glifosato, seguido del Paraquat, Atrazina, el 2,4-D, otros, etc.

La investigación de referencia, sobre uso y manejo de agroquímicos en la producción agrícola, correspondiente a una primera etapa de un proyecto de mayor alcance, se realizó en cuatro zonas diferentes, en las comunidades Yateirenda, Hardeman, Nuevo Palmar y Los Negros, correspondientes a cuatro municipios del Departamento de Santa Cruz, Bolivia.

Los resultados obtenidos indujeron al desarrollo de una segunda fase de trabajo, consistente en el estudio de la afectación a la salud por la exposición a plaguicidas, como parte del proyecto de investigación de Biomonitorización. En esta segunda etapa se incluye las mismas comunidades y se amplía el número de participantes, que corresponden a diferentes zonas agroecológicas del Departamento de Santa Cruz: ecosistema de Valles Mesotérmicos (comunidades Los Negros, Mataral y Santa Rosa, Municipio de Pampa Grande), ecosistema Chaco (comunidad Yateirenda, Municipio de Cabezas), ecosistema Norte Integrado (comunidades El Carmen, Litoral y Murillo, Municipio de San Pedro) y Zona Este (comunidad Nuevo Palmar, del Municipio Cuatro Cañadas).

1.2 Caracterización de zonas de estudio

Las comunidades participantes se definen como Unidades de producción agrícola, que corresponden fundamentalmente a la

pequeña agricultura, presente en las cuatro zonas agroecológicas donde se realizó el estudio:

Zona Valles Mesotérmicos

Las comunidades correspondientes al Municipio de Pampa Grande se encuentran mayormente situadas en las márgenes del Rio Los Negros. La región se caracteriza por desarrollar una producción de hortalizas con alta intensidad de uso de agroquímicos, destinada en su mayoría a los mercados de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra. Tiene un clima templado, a una altura entre 1200 a 1300 m.s.n.m.

Zona Chaco

La comunidad Yateirenda pertenece al Municipio de Cabezas y su población es principalmente de origen guaraní. Con un clima cálido y semihúmedo, su principal actividad es la producción de maíz. La región se encuentra rodeada y en presión constante por la expansión de la actividad agrícola agroindustrial.

Zona Norte Integrado

Las comunidades que corresponden al Municipio de San Pedro son parte de una zona de producción altamente agroindustrial, donde prevalece el cultivo de la caña de azúcar y de la soya. Localizada al norte de la ciudad de Santa Cruz, la región cuenta con un clima tropical seco (Clasificación climática de Köppen: Aw), a una altura de 210 m.s.n.m.

Zona Este

La comunidad Nuevo Palmar, pertenece al Municipio de Cuatro Cañadas, región que desde fines del siglo pasado registra una elevada expansión de la frontera agrícola. Presenta clima semi húmedo; el bosque seco templado que la caracterizaba prácticamente ha ido desapareciendo, dado que la mayor parte de las tierras están habilitadas sobre todo para la producción agrícola, y pecuaria en menor medida.

En las cuatro regiones productivas se identificaron 36 especies cultivadas, siendo la soya la principal, mencionada en un 35,6%, continuando el maíz en un 27,4%, el pimentón en un 22,2%, el tomate en un 19%, el arroz en un 17%, seguida de otros(Grupo de Trabajo Cambio Climático y Justicia GTCC-J & Instituto de Investigación de la Facultad de Humanidades INIFH, 2018).

1.3 Antecedentes

En 2018, al momento de realización del mencionado estudio sobre uso y manejo de agroquímicos, instituciones y comunidades con trabajos en las diversas zonas agroecológicas del Departamento de Santa Cruz "(…), en las reflexiones con comunidades rurales, pequeños productores, consumidores y organizaciones de la sociedad civil se percibía que el uso de agroquímicos estaba teniendo efectos en el medio ambiente y la salud, pero sin datos concretos (…)".

Los diálogos iniciales entre los actores participantes en el proceso evidenciaron la importancia de una alianza que permita realizar investigaciones rigurosas sobre experiencias de uso, manejo de agroquímicos, y su impacto en el desarrollo de estrategias e innovaciones futuras. El trabajo estuvo guiado por una perspectiva de derechos humanos relacionados con aspectos tales como bienestar e igualdad; salud; control de bienes comunes; relación sustentable, aprovechamiento responsable y conservación del ambiente; seguridad alimentaria y alimentación sana, los cuales se encuentran regulados en la legislación boliviana.

El compromiso interinstitucional para la producción de conocimiento de relevancia académica y pertinencia social permitió el desarrollo de alianzas entre universidades públicas y privadas, con la participación de docentes y estudiantes. Por las primeras la UAGRM de Santa Cruz, con el INIFH, la Carrera de Bioquímica

y el Laboratorio Académico y de Investigación de Ingeniería Ambiental (FCET), y la UMSA, de La Paz, mediante la Unidad de Genética Toxicológica del Instituto de Genética de la Facultad de Medicina, Enfermería, Nutrición y Tecnología Médica. En el caso de universidades privadas, participó la Universidad Católica Boliviana, unidad de Santa Cruz, mediante la carrera y el Instituto de Investigación de Medicina.

Fueron parte activa del proyecto, un conjunto de instituciones sin fines de lucro que forman parte del Grupo de Trabajo de Cambio Climático y Justicia, conformado a nivel nacional por 54 instituciones, y con 14 instituciones correspondientes a Santa Cruz, bajo la gestión y coordinación del Instituto de Capacitación para el Desarrollo (INCADE).

Entre los aspectos metodológicos más relevantes de dicho proyecto cabe destacar, precisamente, la puesta en marcha de una alianza innovadora entre la universidad y la sociedad. En este orden, es importante puntualizar sobre el desarrollo de un proceso de investigación colaborativa interinstitucional/multi-actores, entre quienes fueron parte activa en las diferentes etapas de trabajo, desde el diseño, levantamiento de datos, análisis, evaluación, y difusión. En ese marco, destacan los siguientes aspectos metodológicos:

- Interdisciplinariedad, con la intervención de profesionales agrónomos, antropólogos, sociólogos, ecólogos, bioquímicos, entre otros.
- Perspectiva holista, desde el abordaje a una complejidad temática y el propósito de aportar a acciones micro-macro, y a la incidencia para impulsar políticas públicas informadas
- Formación docente-estudiantil, como parte de investigaciones de asignaturas, tesis de pregrado y postgrado.

- Reflexión e intercambio de experiencias con productores, familias, comunidades (docentes, técnicos institucionales, estudiantes).
- Acción consensuada y registro de Consentimiento previo de las personas participantes

El proyecto de investigación se realizó considerando las dos fases referidas, con un trabajo enmarcado en los siguientes objetivos**:**

1ra Fase: Conocer el uso, manejo y exposición a los agroquímicos en actividades agrícolas en comunidades en el departamento de Santa Cruz.

2da. Fase: Identificar y analizar probables efectos de la exposición a plaguicidas en la salud humana, en comunidades agrícolas de Santa Cruz, Bolivia, mediante estudios de laboratorio (Biomonitoreo de la exposición a plaguicidas de comunidades agrícolas en Bolivia).

Como se advierte, en esta segunda etapa, el énfasis está centrado en el estudio de la afectación a la salud por la exposición a plaguicidas. De acuerdo con los agricultores, éstos son utilizados en la producción agrícola de frutas, verduras, hortalizas y de diferentes cultivos, para su protección frente a una variedad de organismos y plantas dañinos, buscando lograr una mayor productividad.

2. Aspectos conceptuales y metodológicos

Luis Adolfo Mercado Roca, María Isabel Magne Salazar

2.1 Los plaguicidas

Los plaguicidas, también llamados pesticidas, son compuestos químicos fabricados para producir efectos tóxicos en organismos vivos y generalmente liberados en el medioambiente de forma intencionada. Alrededor del mundo, más de mil principios activos son producidos, formulados y usados para aplicaciones industriales, agrícolas y de salud pública (Aprea et al., 2002). Por consiguiente, un gran segmento de población humana se encuentra expuesta de diversas formas a estos productos químicos, mediante exposición laboral, alimentaria y en el medioambiente en general. Su presencia y frecuencia en el ambiente supone un peligro para las especies vivientes, incluyendo el ser humano.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido criterios para la clasificación de los plaguicidas atendiendo a su peligrosidad para el ser humano (OMS, 1996). De acuerdo con dichos criterios, los plaguicidas se clasifican en cuatro categorías en función de su toxicidad aguda, oral y cutánea, y de su estado físico. Estas categorías son: clase 1A (extremadamente peligrosos), clase 1B (altamente peligrosos), clase II (moderadamente peligrosos) y clase III (ligeramente peligrosos).

En la agricultura moderna, los plaguicidas organoclorados (DDT, HCB, HCH, aldrín, dieldrín, entre otros) son los de mayor antigüedad. Su uso fue prohibido en muchos países por la alta persistencia en el medioambiente y sus efectos en mamíferos; además, se demostró que algunos actúan como disruptores

endocrinos. En Bolivia el DDT está prohibido desde 2005, según Resolución Administrativa SENASAG N° 021/2005.

Aunque la mayor parte de los plaguicidas organoclorados se encuentran prohibidos, y desde hace varias décadas oficialmente no son utilizados, circulan globalmente en el ambiente, y, pueden ser encontrados en agua de mar, aire, pescado, fauna silvestre, alimentos e incluso en humanos. Ellos o sus metabolitos se encuentran como residuos y, debido a sus características lipófilas, se bioacumulan en tejidos adiposos llegando al organismo humano a través de la dieta, especialmente alimentos de origen animal.

Los precursores de los modernos plaguicidas organofosforados se sintetizaron por primera vez en Alemania en 1937 y fueron empleados como agentes químicos en la segunda guerra mundial. Entre estos compuestos se tienen el sarín, somán y tabún. (Moreno Grau, 2003)Los organofosforados son derivados del ácido fosfórico y se consideran como los plaguicidas más tóxicos. (Okoli et al., 2017) En presencia de luz son inestables y se descomponen rápidamente, por tal razón los fosforados reemplazaron a los clorados, y en la actualidad constituyen los plaguicidas más utilizados. Son de acción rápida con corta residualidad (3 a 8 días), y resultan extremadamente tóxicos para mamíferos.

Los insecticidas piretroides son uno de los principales grupos de productos químicos utilizados para controlar las poblaciones de plagas. Además de su aplicación en la agricultura, también se emplean ampliamente para controlar insectos domésticos y en el cuidado de animales. Sin embargo, debido a su baja solubilidad en agua, estos compuestos tienden a acumularse en los alimentos consumidos tanto por humanos como por animales a lo largo del tiempo (Ahamad & Kumar, 2023).

El Glifosato[2], conocido también como fosfonato sintético, es considerado el producto no selectivo más utilizado en el mundo para eliminar vegetación no deseada en los cultivos agrícolas, y también en la jardinería. Es degradado en el suelo por mecanismos físicos, químicos y microbiológicos, generando varios metabolitos, siendo el mayoritario el ácido aminometil fosfónico (AMPA), que presenta una toxicidad similar a la molécula padre, constituyéndose de esta manera en una fuente de contaminación secundaria (Gomes et al., 2016)

2.2 Aspectos metodológicos

El objetivo del presente estudio plantea determinar la probable afectación a la salud por la exposición a plaguicidas, en comunidades agrícolas de cuatro zonas del Departamento de Santa Cruz. En tal sentido, se busca realizar una valoración de biomarcadores de exposición a los plaguicidas, midiendo concentraciones de compuestos padre y metabolitos en sangre y orina biomarcadores como creatinina sérica, urea y enzimas hepáticas y analizar efectos genotóxicos.

2.2.1 Diseño del estudio

Para llevar a cabo el cumplimiento de los objetivos planteados, se diseñó un estudio transversal descriptivo, sobre una muestra de población de ocho comunidades agrícolas, ubicadas en cuatro

2 En la década de 1970, el Glifosato fue comercializado por primera vez mediante la empresa estadounidense Monsanto, con el nombre comercial de Roundup, y la patente que poseía Monsanto pasó a dominio público en 2000; actualmente existen varias firmas que lo producen y se encuentra en el mercado con diferentes nombres comerciales. En 2015, la OMS, alerto sobre la vinculación del Glifosato y el cáncer en humanos y en animales de laboratorio; el análisis genotóxico reveló daño del ADN y en cromosomas en células humanas. Por su parte, el trabajo científico de la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC), detalla sobre la detección de presencia de Glifosato en agua, alimentos, sangre y orina de humanos.

municipios, correspondientes a cuatro provincias del Departamento de Santa Cruz. Como se explicó líneas arriba, cada comunidad se encuentra ubicada en una zona distinta y desarrolla una producción agrícola característica, cuadro 1. Se recogieron muestras de sangre y de orina para la determinación de biomarcadores de exposición. La información relacionada con las variables de exposición fue recogida mediante la aplicación de un cuestionario epidemiológico.

Cuadro 1. Principales cultivos en los municipios

Municipios	Comunidades	Principal cultivo
San Pedro	El Carmen	Caña de azúcar y soya
	Litoral	
	Murillo	
Cabezas	Yateirenda	Maíz
Pampagrande	Los Negros	Hortalizas y frutas
	Mataral	
	Santa Rosa	
Cuatro Cañadas	Nuevo Palmar	Soya, girasol y trigo

2.2.2 Reclutamiento de la población participante

Una vez contactadas las personas participantes, se llevaron a cabo reuniones en las cuales se brindó la información sobre los propósitos de la investigación, se compartió la invitación para participar de la misma. Las personas que aceptaron firmaron un documento de consentimiento informado, donde se garantiza el anonimato y se establece la confidencialidad sobre los datos recogidos y los resultados obtenidos.

Los criterios para la selección de la población participante fueron los siguientes:

- Por sexo: hombres y mujeres
- Por edad: mayor a los 18 años
- Por residencia en la zona de referencia: por un periodo superior a tres años.

De manera complementaria, se estableció como criterios de exclusión la negativa de personas participantes a firmar el consentimiento informado, o a quienes tuvieran impedimento para hacerlo. También la participación de personas con enfermedades crónico-degenerativas y neuropsiquiátricas, y con problemas de adicción alcohólica y uso de medicamentos.

2.2.3 Proceso de recolección de la información

Los instrumentos para recolectar la información fueron adecuados a la finalidad definida para realizar un estudio de Biomonitoreo a la exposición a plaguicidas.

Cuestionario epidemiológico

Un Cuestionario epidemiológico *ad hoc* fue diseñado para recoger información proporcionada por cada participante sobre posibles predictores de exposición. Se registraron datos relacionados con características sociodemográficas, incluyendo información sobre sexo, edad, índice de masa corporal (IMC), residencia, ocupación, fuentes y consumo de agua, factores relacionados a la exposición laboral.

Toma de muestras

La toma de muestras se desarrolló bajo previa aprobación del Protocolo del proyecto, el cual contemplaba el consentimiento previo informado y el llenado de un formulario para registro de cada participante.

Para la toma de muestras de suero sanguíneo, a cada participante se le extrajeron 5 mL de sangre y para las muestras de orina, cada participante donó aproximadamente 50 mL de orina. La colecta de muestras se realizó con la participación de asistentes técnicos bioquímicos, capacitados y guiados por profesionales médicos y bioquímicos de la Universidad Católica San Pablo-Santa Cruz y la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA, La Paz).

2.2.4 Análisis estadístico de los datos

Los datos sociodemográficos recogidos y los datos clínicos obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva. Para las asociaciones univariantes se utilizó la prueba Chi cuadrado en el caso de las variables cualitativas, mientras que para las variables cuantitativas se procedió con la prueba de Wilcoxon.

3. Principales resultados

María Isabel Magne Salazar, Luis Adolfo Mercado Roca, Noemi Sandra Tirado Bustillos, Josue Mamani Jarro.

De acuerdo con los objetivos y características definidas, el proyecto desarrollado implicó tres procesos de trabajo integrados entre sí. En las siguientes páginas se comparte las principales características y resultados de cada uno:

3.1 Determinación de biomarcadores de exposición en matrices biológicas[3]

3.1.1 Introducción

Los plaguicidas son compuestos químicos, por tanto, sufren biotransformaciones en el organismo para facilitar su excreción, las que además influyen en sus efectos tóxicos. Los productos de la biotransformación de un plaguicida en un sistema biológico (animal o planta) se denominan metabolitos (FAO & WHO, 2017). En la biomonitorización de la exposición a plaguicidas, la aplicación de métodos analíticos es fundamental para la determinación de la presencia de las moléculas padre y/o metabolitos, tanto en el medio ambiente como en muestras biológicas humanas. Entre dichos métodos sobresalen los cromatográficos, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), y la cromatografía de gases (GC), los cuales permiten la separación y cuantificación de los plaguicidas y sus metabolitos con alta sensibilidad y especificidad.

3 El equipo técnico de trabajo estuvo conformado por un grupo de tesistas investigadores/as del Laboratorio Académico y de Investigación de Ingeniería Ambiental de la UAGRM: Erika Almanza Zambrana, Nirha Alejandra Bazán Mercado, Jaime Ernesto García García, Adán Velasco Osinaga, Mario Eduardo Cors Machina. Asesores: Luis Adolfo Mercado Roca y María Isabel Magne Salazar.

En los estudios de biomonitorización del DDT, la presencia del metabolito DDE en suero sanguíneo indica una exposición antigua a la molécula del DDT, o exposición al DDE; mientras que la detección de DDT refleja una exposición reciente (Davies et al., 1969).

A comienzos de la década de 2010, en un estudio realizado en Santa Cruz, referido a la exposición de una población urbana a DDT, empleando una metodología analítica basada en GC-MS se encontró una correlación positiva y con significancia estadística entre las concentraciones de *p,p'*-DDE del tejido adiposo y la edad. Se señaló que las concentraciones séricas de *p,p´*-DDT y *p,p´*-DDE fueron 6.5 veces superiores en personas que realizan trabajos no manuales en relación a los que realizan trabajos manuales, destacando que entre los participantes de este estudio no hubo agricultores. Desde estos resultados, se puso énfasis en la necesidad de realizar estudios sistemáticos de biomonitoreo en América de Sur (Arrebola et al., 2012).

Otro estudio, realizado con una población de horticultores, donde se analizó la presencia de plaguicidas organoclorados en muestras de suero sanguíneo, mediante GC-MS, encontró niveles detectables de *p,p´*-DDE en el 100% de la población con una media de concentración de 19.7 ng/mL, mientras que el *o,p'*-DDT se detectó sólo en tres muestras (4.3%). Los altos niveles del primero pueden estar relacionadas a un entorno local muy contaminado y a una exposición ocupacional pasada (Mercado et al., 2013).

En los plaguicidas organofosforados, las moléculas padres sufren una biotransformación final en moléculas denominadas fosfatos de dialquilo, sus metabolitos. La presencia de fosfatos de dialquilo en orina reflejan una exposición reciente a plaguicidas organofosforados. Algunas veces los metabolitos de plaguicidas organofosforados están presentes en el medio ambiente debido a su descomposición en la fuente ambiental, por lo cual, cuando

se encuentran niveles elevados, es importante identificar cualquier posible fuente de exposición a toda la gama (METAMETRIX, 2012). Las metodologías analíticas empleadas en la determinación de metabolitos de plaguicidas organofosforados están basadas en GC-MS y HPLC-MS.

En un estudio realizado en nueve países, en el que se determinaron los perfiles urinarios de metabolitos de plaguicidas neonicotinoides y organofosforados, encontraron que las concentraciones diferían significativamente entre países, atribuyéndose estas diferencias a los patrones de uso de plaguicidas en cada país. La concentración de los metabolitos de organofosforados fue calculada como la suma de seis fosfatos de dialquilo (DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP, DEDTP), registrándose, para el total de la población de estudio, una mediana de 19 ng/mL. Los metabolitos identificados con mayor frecuencia fueron DMP (3.39 ng/mL) y DMTP (1.55 ng/mL), presentes en el 92% de las muestras (Li & Kannan, 2020)

En México, un estudio de exposición a plaguicidas organofosforados en niños/as y adolescentes residentes en una zona agrícola, mediante las concentraciones urinarias de los metabolitos de plaguicidas organofosforados, mostró que la proximidad de campos agrícolas a hogares y escuela es un factor de exposición importante. (Ramírez-Jiménez et al., 2014)

Sobre la biodegradación del herbicida glifosato (derivado fosfonometilo del aminoácido glicina) en el suelo, se han descrito dos vías: la primera, relacionada con la actividad enzimática liasa sobre los ligandos C-P que liberan sarcosina y fosfato; y la segunda es un proceso de oxidación a través de una enzima glifosato reductasa (GOx) que rompe el enlace C-N, formando el metabolito ácido aminometilfosfónico (AMPA). (Gomes et al., 2016) En los estudios de biomonitorización se debe investigar la presencia de ambos, glifosato y AMPA. Los métodos de análisis empleados en la

determinación de glifosato y AMPA están basados principalmente en HPLC-MS, existiendo menor cantidad de literatura que reporta el uso de GC-MS.

Estudios recientes han demostrado que solo alrededor de 1% de la dosis de glifosato se excretaba en la orina humana dentro de las 44 horas. (Faniband et al., 2021) Por tanto, la cuantificación precisa de la exposición, tanto interna como externa, es un importante problema de salud pública, ya que la evaluación de la toxicidad se basa en estimaciones de la dosis absorbida (IARC 2015). En Francia, un estudio de reciente data reportó detección de glifosato en la orina del 99,8 % de participantes, cuyo análisis mostró una contaminación generalizada, con una media de 1.19 ng/mL de glifosato, el límite de cuantificación del método analítico fue de 0.1 ng/mL. (Grau et al., 2022)

Como se señala en la primera parte, es evidente que en Bolivia la producción agrícola tiene una fuerte dependencia de plaguicidas. A esto se suma un serio problema, en términos de seguridad, respecto al control en el uso y aplicación en campo, reflejado en complicados escenarios de operatividad para la Autoridad Ambiental Competente Nacional (Ministerio de Medio Ambiente y Agua). Por tanto, se suscita preocupación sobre la vulnerabilidad que pueda existir en población rural involucrada en la producción agrícola, sobre procesos de afección en la salud asociados con la presencia de plaguicidas en el organismo humano. Por lo señalado, es necesario realizar estudios de biomonitorización de la exposición.

3.1.2 Métodos analíticos utilizados

La determinación analítica de los compuestos padre y/o metabolitos se llevó a cabo en dos laboratorios. En el laboratorio Académico y de Investigación de la carrera de Ingeniería Ambiental de la UAGRM se desarrollaron y validaron métodos analíticos basados

en GC-MS para la determinación de los siguientes compuestos: DDT y sus metabolitos en suero, fosfatos de dialquilo en orina, y glifosato (GLY) y AMPA en orina. En el laboratorio de la Universidad de Lund (Suecia) se emplearon métodos analíticos basados en HPLC-MS/MS para la determinación en orina de los siguientes metabolitos: hidroxitebucanozol (TEB-OH), metabolito del tebuconazol, hidroxipenconazol (P-OH), metabolito del penconazol, 5-hidroxiboscalid (BOS-OH), metabolito del boscalid, etilentiourea (ETU), metabolito del mancozeb, 3,5,6-Tricloro-2-piridinol (TCP), metabolito del clorpirifos, ácido 3-fenoxibenzoico (3-PBA), y ácidos cis/trans 3-(2,2-diclorovinil)2,2-dimetillciclopropano carboxílico (DCCA), metabolitos de insecticidas piretroides, ácido 4-fluoro-3-fenoxybenzoico (4F3PBA), metabolito del piretroide ciflutrina, ácido 2,4-diclorofenoxiacetico (2,4-D), y glifosato (GLY).

A continuación, se realiza un resumen de los métodos analíticos basados en GC-MS (de impacto electrónico), desarrollados y validados en el en el laboratorio académico y de investigación de Ingeniería Ambiental de la UAGRM.

Las matrices biológicas, como la sangre y la orina, son complejas. Para separar los analitos de interés, de manera tal que no contengan contaminantes que puedan interferir en su identificación y cuantificación, se emplean técnicas de extracción y de concentración hasta obtener un extracto final limpio y sin interferencias de matriz, el cual es inyectado al cromatógrafo para la separación cromatográfica, identificación y cuantificación. La eficiencia de este proceso es incluida en la recta de calibrado y los respectivos criterios de calidad del método desarrollado.

En la extracción de DDT y sus metabolitos del suero sanguíneo, se realizó mediante combinación de extracción en fase sólida (SPE) y micro extracción líquido - líquido dispersiva (MELLD); empleando como sorbente el C_{18} y como solventes metanol, dietiléter, *n*-hexano y agua con calidad HPLC.

La extracción de los metabolitos de plaguicidas organofosforados de la orina siguió un proceso extenso, iniciando con extracción líquido – sólido, empleando como soporte sólido una mezcla de cloruro de sodio y disulfito de sodio, y culminando con extracción liquido-liquido. Los solventes utilizados fueron acetonitrilo, dietiléter, éter de petróleo y agua con calidad HPLC. Para aumentar la volatilidad de los analitos, previo al análisis cromatográfico, fueron derivatizados con bromuro de pentafluorobencilo.

La extracción del glifosato y el AMPA se llevó a cabo mediante extracción líquido-líquido empleando hidróxido de amonio, acetonitrilo y acetato de etilo. Previo al análisis cromatógrafico fueron derivatizados con ahídrido trifluoroacético (TFAA) y trifluoroetanol (TFE).

Para la detección y cuantificación de cada uno de los metabolitos se validaron los métodos analíticos con base a cinco criterios: selectividad, linealidad, límite de Detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ) y exactitud. En las siguientes tablas se resumen los datos de calidad referidos.

Tabla 1. Parámetros de calidad de los métodos analíticos para la determinación de DDT y sus metabolitos

	DDT		Metabolitos de DDT		
	o,p' - DDT	*p,p'* - DDT	*o,p'* - DDE	*p,p'* - DDE	*o,p'* - DDD
Cuant. m/z	237	237	318	318	237
Calif. m/z	165, 235	165, 235	176, 212, 246	246, 248	165, 235
LOD µg/L	0.0184	0.0312	0.0184	0.0312	0.0155
LOQ µg/L	0.0612	0.1039	0.0612	0.1039	0.0517
Recta de calib.	y=4115.7x-182.6	y=1074x+53.4	y=8023.4x+290.7	y=5409.8x-303.6	y=2006.8x+1855.7
R^2	0.9999	0.9999	0.9998	0.9999	0.9993
Tr (min)	15.123	15.922	13.446	14.183	14.311
RSD	0.0576	0.0615	0.0590	0.0545	0.0172

LOD: Límite de detección, LOQ: Límite de cuantificación, Tr: Tiempo de retención, RSD: Desviación estándar relativa

Tabla 2. Parámetros de calidad de los métodos analíticos para la determinación de metabolitos de plaguicidas organofosforados

	Metabolitos de plaguicidas organofosforados		
	DEP	**DMDTP**	**DEDTP**
Cuant. m/z	334	338	366
Calif. m/z	258	157	185
LOD µg/L	0.016	0.029	0.027
LOQ µg/L	0.068	0.084	0.090
Recta de calib.	y=4720.4x-773.3	y=145.2x-6.5	y=270x+161.1
R^2	0.9991	0.9999	0.9999
Tr (min)	7.82	8.43	8.77
RSD	0.040	0.050	0.020

Tabla 3. Parámetros de calidad de los métodos analíticos para la determinación de glifosato y AMPA

	Glifosato	AMPA
Cuant. m/z	511	371
Calif. m/z	411, 384	302, 246
LOD μg/L	0.214	0.031
LOQ μg/L	0.234	0.144
Recta de calib.	y=2242x+210.3	y=874.7x+174.4
R^2	0.9999	0.9994
Tr (min)	8.920	5.359
RSD	0.010	0.081

3.1.3 Concentración de biomarcadores en muestras biológicas

DDT y metabolitos

La concentración de DDT en suero, se determinó como la concentración de los isómeros *o,p'*-DDT y *p,p'*-DDT; la concentración de sus metabolitos se determinó como la concentración de *o,p'*-DDE, *p,p'*-DDE y *o,p'*-DDD. En la tabla 4 se recogen las concentraciones de DDT y sus metabolitos en suero expresadas en ng/mL.

Tabla 4. Concentraciones de DDT y sus metabolitos en suero

Municipio Comunidad	**DDT**				**Metabolitos de DDT**			
	n (%)	Med. ppb	SD	Rang. ppb	n (%)	Med. ppb	SD	Rang. ppb
San Pedro	**136 (37)**	**2.75**	**3.66**	**0.36 - 35.92**	**136 (91)**	**31.7**	**6.14**	**0.51-93.96**
El Carmen	36 (58)	1.92	4.98	0.36 -21.29	36 (86)	34.47	19.20	2.82 -64.62
Litoral	49 (14)	2.74	1.43	0.83-4.72	49 (92)	8.43	24.00	0.51-93.96
Murillo	51 (43)	2.78	8.75	0.45-35.92	51 (94)	31.7	31.40	0.72-93.00
Cabezas	**51 (24)**	**1.69**	**5.47**	**0.18 - 19.32**	**51 (98)**	**3.21**	**19.22**	**0.57-94.7**
Yateirenda	51 (24)	1.69	5.47	0.18 - 19.33	51 (98)	3.21	19.22	0.57-94.7
Cuatro Cañadas	**82 (38)**	**2.14**	**1.21**	**1.15 - 5.96**	**82 (93)**	**15.57**	**23.35**	**0.12-97.53**
Nuevo Palmar	82 (38)	2.14	1.21	1.15 - 5.97	82 (93)	15.57	23.35	0.12-97.53
Pampa Grande	**122 (44)**	**2.14**	**10.69**	**0.18 – 75.00**	**122 (93)**	**12.67**	**6.43**	**0.14-83.26**
Los Negros	31 (65)	1.24	3.58	0.18-13.26	31 (81)	7.84	9.46	0.18-42.18
Mataral	23 (39)	6.59	24.90	0.62-75.00	23 (91)	23.81	13.36	2.5-47.70
Santa Rosa	68 (37)	1.58	15.80	0.76-66.65	68 (99)	12.67	22.01	0.14-83.26

Med.: mediana, SD: desviación estándar, Rang.: rango, ppb: partes por billón (ng/mL)

Como se puede advertir, el 38% de la población participante del estudio presenta concentraciones de DDT superiores al límite de detección, teniendo el porcentaje más alto el Municipio de Pampa Grande (44%). Dicho porcentaje refleja que las personas han estado expuestas a DDT, probablemente a través de fuentes

medioambientales y/o alimentarias. ya que el DDT en Bolivia tuvo una prohibición tardía y su vida media es de aproximadamente 15 años. Por otro lado, el 93% de la población de estudio presenta concentraciones de metabolitos del DDT superiores al límite de detección, las concentraciones promedio varían entre 3.21 ng/mL (Cabezas) y 31.7 ng/mL (San Pedro).

En la literatura se reporta una investigación realizada con población de agricultores de Bolivia, donde se encontró una concentración promedio de *p,p´*- DDE de 19.75 ng/mL. (Mercado et al., 2013) Las concentraciones de metabolitos del DDT encontradas en el presente estudio son coincidentes con la determinada en el estudio citado, y son superiores a la concentración de *p,p´*- DDE, 1,2 ng/mL, determinada en otra investigación desarrollada con población urbana de Bolivia. (Arrebola et al., 2012) La frecuencia y las concentraciones de metabolitos del DDT encontradas en el presente estudio, muestran una exposición antigua a DDT y una probable exposición a los metabolitos producidos durante la degradación del DDT en el medioambiente. Las regiones donde se encuentran ubicadas las comunidades son zonas endémicas de malaria y en décadas pasadas en campañas de salud pública fueron fumigadas con DDT.

Metabolitos de insecticidas organofosforados

La concentración de metabolitos de plaguicidas organofosforados en orina se determinó como la suma de las concentraciones de los metabolitos DEP, DMTP y DEDTP. En la tabla 5 se recogen las concentraciones de metabolitos de plaguicidas organofosforados por municipio/comunidad, expresadas en ng/mL. Como se puede ver, el 94% de la población participante del estudio presenta concentraciones superiores al límite de detección, encontrándose la concentración más alta en el Municipio de Pampa Grande. Este municipio se caracteriza por su actividad hortícola, lo que supone

un uso intensivo de plaguicidas, debido a la alta rotación de cultivos, teniendo como consecuencia mayores fuentes de exposición para la población.

En el laboratorio de la Universidad de Lund se analizaron las muestras para determinar la concentración urinaria de TCPy, un metabolito específico de clorpirifos y metilclorpirifos, encontrándose las siguientes concentraciones: San Pedro 3.49 ng/mL, Pampa Grande 6.70 ng/mL, Cabezas 2.94 ng/mL y Cuatro Cañadas 2.98 ng/mL, Estos valores son comparables con los reportados en la literatura, en estudios llevados a cabo con población adulta en Estados Unidos de Norteamérica. (Bouvier et al., 2005)

Tabla 5. Concentraciones de metabolitos de plaguicidas organofosforados en orina

Municipio/ Comunidad	**Metabolitos de organofosforados**			
	n (%)	Mediana (ng/mL)	SD	Rango (ng/mL)
San Pedro	**109 (94)**	**0.81**	**2.24**	**0.12-24.63**
El Carmen	25 (100)	0.809	3.52	0.12 -16.82
Litoral	36 (97)	0.654	3.28	0.20-17.50
Murillo	48 (90)	1.413	7.27	0.12-24.63
Cabezas	**51 (98)**	**0.93**	**2.77**	**0.14-18.48**
Yateirenda	51 (98)	0.93	2.77	0.14-18.48
Cuatro Cañadas	**79 (91)**	**0.67**	**1.18**	**0.15-5.99**
Nuevo Palmar	79 (91)	0.67	1.18	0.15-5.99
Pampa Grande	**105 (93)**	**3.00**	**10.57**	**0.11-76.39**
Los Negros	19 (95)	3.00	22.69	0.16-76.39
Mataral	19 (100)	2.11	1.94	0.11-6.50
Santa Rosa	67 (91)	3.05	8.85	0.15-66.80

La población de estudio está constituida por personas con distintas ocupaciones, y quienes se dedican a la actividad agrícola pueden tener una exposición ocupacional a los plaguicidas. Sin embargo, la presencia de concentraciones urinarias de metabolitos de los insecticidas organofosforados en 94% de la población participante, refleja la existencia de otras fuentes de exposición, como la alimentaria, el agua y el medioambiente, debido a la proximidad de los cultivos.

Metabolitos de insecticidas piretroides

En la tabla 6 se recoge los valores de la mediana de las concentraciones urinarias de metabolitos de piretroides. Como se puede ver, el 100% de las muestras presentan concentraciones superiores al límite de detección.

Tabla 6. Concentraciones de metabolitos de piretroides en orina

	n (%>LOD)	Mediana	P25-P75
3-PBA			
San Pedro	130 (100)	2.64 (0.78)	1.26-5.36 (0.46-1.30)
Pampa Grande	108 (100)	2.99 (0.98)	1.55-5.87 (0.62-1.64)
Cuatro Cañadas	27 (100)	6.24 (1.58)	3.13-8.94 (0.98-2.56)
Cabezas	27 (100)	2.92 (0.80)	1.85-5.10 (0.39-1.18)
4F-3-PBA			
San Pedro	130 (93.8)	0.03 (0.01)	0.02-0.12 (0.01-0.02)
Pampa Grande	108 (92.6)	0.03 (0.01)	0.02-0.06 (0.00-0.02)
Cuatro Cañadas	27 (85.2)	0.02 (0.01)	0.01-0.07 (0.00-0.01)
Cabezas	27 (100)	0.03 (0.01)	0.02-0.06 (0.00-0.02)
DCCA-CIS			
San Pedro	130 (100)	1.78 (0.46)	0.60-.63 (0.22-0.99)
Pampa Grande	108 (100)	1.52 (0.50)	0.63-3.80 (0.25-1.07)
Cuatro Cañadas	27 (100)	2.44 (0.79)	1.67-6.46 (0.45-1.45)
Cabezas	27 (100)	0.75 (0.21)	0.32-1.32 (0.11-0.36)

DCCA-TRANS			
San Pedro	130 (100)	1.51 (0.48)	0.69 -3.62 (0.23-0.94)
Pampa Grande	108 (100)	1.63 (0.53)	0.73 -3.76 (0.30-0.99)
Cuatro Cañadas	27 (100)	3.51 (0.98)	1.55 -5.27 (0.56-1.22)
Cabezas	27 (100)	1.58 (0.46)	1.04 -2.50 (0.31-0.63)

Nota aclaratoria: ajustado por densidad (fuera de paréntesis, ng/g) y por creatinina (entre paréntesis, ug/g de creatinina)[4]

Generalmente las fuentes de exposición a piretroides son mayores a las de otras familias de insecticidas, por ser los de mayor uso tanto en agricultura como el hogar. Un estudio realizado en Francia, con población general, encontró concentraciones urinarias entre 0.18 y 1.10 ng/mL, teniendo una mayor concentración el 3-PBA. (Tagne-Fotso et al., 2023) Otro estudio, llevado a cabo en Cataluña, no encontró diferencias significativas en las concentraciones urinarias de metabolitos de piretroides entre una población de agricultores y una población rural. (Bravo et al., 2022) En el presente estudio, el metabolito mayoritario es el 3-PBA (ácido 3-fenoxibenzoico), metabolito de piretroides como permetrina, cipermetrina, deltametrina, fenvalerato, lambda-cialotrina, fenotrina, fluvalinato y tralometrina, lo que probablemente explique su abundancia en relación a los otros metabolitos. En general, los valores identificados son superiores a los reportados en los estudios citados, habiéndose encontrado los valores más altos en el Municipio de Cuatro Cañadas.

Por tratarse de un estudio transversal, y por las características de las comunidades, que tienen una distinta vocación agrícola, es probable que la toma de muestras en Cuatro Cañadas hubiera coincidido con una reciente aplicación de insecticidas en los cultivos de la zona. Sin embargo, los resultados reflejan que en todas las comunidades existe una exposición diaria a insecticidas piretroides.

4 Se refiere a que la determinación se realiza en ng/mL pero utilizando la densidad se transforma a ng/g (son los valores fuera de paréntesis), y utilizando el valor de la creatinina medida en orina se transforma a µg/g de creatinina (son los valores entre paréntesis).

Metabolitos de fungicidas

En la tabla 7 se recogen los valores de la mediana de las concentraciones urinarias de metabolitos de fungicidas como mancozeb (ETU), boscalid (BOS-OH), penconazol (P-OH) y tebuconazol (TEB-OH). Como se puede ver, los porcentajes de muestras que presentan concentraciones superiores a los límites de detección son: 100% para ETU, 90% para P-OH, 91.4% para TEB-OH y solo EL 1% para BOS-OH.

Tabla 7. Concentraciones urinarias de metabolitos de fungicidas

	n (%>LOD)	Mediana	P25-P75
ETU			
San Pedro	130 (100)	2.00 (2.20)	1.22 -3.59 (1.38-4.60)
Pampa Grande	108 (100)	2.82 (3.64)	1.79 -4.36 (1.84-5.29)
Cuatro Cañadas	27 (100)	2.08 (2.04)	0.96 -3.67 (1.42-3.99)
Cabezas	27 (100)	0.72 (0.61)	0.47 -0.94 (0.41-1.14)
BOS-OH			
San Pedro	130 (2.3)	0.14 (0.03)	0.05-0.38 (0.01-0.06)
Pampa Grande	108 (0)	0.08 (0.02)	0.04-0.36 (0.01-0.07)
Cuatro Cañadas	27 (0)	0.04 (0.01)	0.02-0.08 (0.00-0.01)
Cabezas	27 (0)	0.06 (0.01)	0.03-0.11 (0.01-0.02)
P-OH			
San Pedro	130 (98.5)	0.32 (0.10)	0.16 -0.73 (0.05-0.22)
Pampa Grande	108 (84.3)	0.11 (0.03)	0.03 -0.31 (0.02-0.08)
Cuatro Cañadas	27 (88.9)	0.46 (0.10)	0.18 -0.60 (0.05-0.17)
Cabezas	27 (70.4)	0.04 (0.01)	0.03 -0.07 (0.01-0.02)
TEB-OH			
San Pedro	130 (89.2)	0.95 (0.17)	0.36 -2.18 (0.07-0.35)
Pampa Grande	108 (91.7)	0.80 (0.15)	0.37 -1.87 (0.08-0.39)
Cuatro Cañadas	27 (92.6)	1.39 (0.24)	0.77 -2.48 (0.16-0.35)
Cabezas	27 (96.3)	0.94 (0.24)	0.49 -1.86 (0.10-0.31)

Nota aclaratoria: ajustado por densidad (fuera de paréntesis, ng/g) y por creatinina (entre paréntesis, ug/g de creatinina)

Las frecuencias muestran que existe una exposición continua a los fungicidas. En la literatura se reporta estudios sobre exposición

dérmica a Mancozeb(Colosio et al., 2002) y a tebuconazol (Fustinoni et al., 2014), en ambos se tienen picos de concentraciones al cabo de 24 horas después de la exposición. Sin embargo, es importante anotar que dichos estudios son realizados entre trabajadores de viñedos; en contraste, el presente estudio muestra que existe una exposición diaria de la población general de las comunidades participantes, lo que indica la presencia de una variedad de fuentes de exposición.

Herbicidas: 2,4-D, Glifosato y su metabolito

En la tabla 8 se resumen los resultados del análisis de glifosato y 2,4-D en orina. Como se puede advertir, el 100% de las muestras tienen concentraciones de glifosato mayores al límite de detección, para el 2,4-D este porcentaje fue de 97%. Los resultados mencionados reflejan una exposición diaria a estos plaguicidas, la que se puede dar por diversas fuentes.

Los valores identificados en el presente estudio son superiores a los encontrados en un estudio transversal llevado a cabo en Alemania, en el cual se reporta una mediana de 0.11 ng/mL (Soukup et al., 2020), pero inferiores a otro estudio realizado en Francia. (Grau et al., 2022)

Los resultados encontrados para el 2,4-D muestran que existe una exposición generalizada, probablemente medioambiental. Esto es evidente por los valores bajos, pero detectables en 97% de la población estudiada, a pesar de que existe una buena proporción de personas que no realizan tareas agrícolas. En la literatura se reporta estudios en los que se ha encontrado concentraciones urinarias bajas de 2,4-D en personas que no tienen exposición directa. (Alexander et al., 2007)

Tabla 8. Concentraciones urinarias de glifosato y 2,4-D

	n (%>LOD)	Mediana	P25-P75
GLY			
San Pedro	130 (100)	0.30 (0.19)	0.17 - 0.50 (0.13-0.37)
Pampa Grande	108 (100)	0.22 (0.15)	0.13 -0.47 (0.09-0.39)
Cuatro Cañadas	27 (100)	0.16 (0.13)	0.13 -0.28 (0.08-0.19)
Cabezas	27 (100)	0.30 (0.14)	0.13 -0.51 (0.08-0.32)
2,4 -D			
San Pedro	130 (98.5)	0.76 (0.18)	0.34-2.96 (0.10- 0.74)
Pampa Grande	108 (95.4)	0.33 (0.10)	0.18-0.77 (0.06-0.18)
Cuatro Cañadas	27 (100)	0.63 (0.14)	0.27-1.02 (0.07-0.23)
Cabezas	27 (96.3)	0.83 (0.23)	0.34-5.82 (0.10-1.68)

Nota aclaratoria: ajustado por densidad (fuera de paréntesis, ng/g) y por creatinina (entre paréntesis, ug/g de creatinina)

En el laboratorio académico y de investigación de la UAGRM, para la determinación de la concentración urinaria de glifosato y AMPA se desarrollaron métodos de análisis basados en GC-MS. En la tabla 9 se muestra los resultados de estas determinaciones.

Tabla 9. Concentraciones urinarias de glifosato y AMPA determinadas por GC-MS

Municipio/ Comunidad	**Glifosato**				**AMPA**			
	n (%)	Med. ppb	SD	Rang. ppb	n (%)	Med. ppb	SD	Rang. ppb
San Pedro	**57 (35)**	**0.642**	**0.540**	**0.12-3.81**	**57 (98)**	**0.44**	**1.06**	**0.14-9.53**
El Carmen	18 (38)	0.651	1.070	0.15 -3.81	18 (100)	0.398	2.15	0.14-9.53
Litoral	25 (24)	0.642	0.574	0.12-1.74	25 (96)	0.440	0.36	0.18-1.52
Murillo	14 (5)	0.182	1.653	0.12-3.67	14 (100)	0.583	0.27	0.26-1.23
Cabezas	**20 (0)**	**--**	**--**	**--**	**20 (80)**	**0.375**	**0.19**	**0.19-0.88**
Yateirenda	20 (0)	--	--	--	20 (80)	0.375	0.19	0.19-0.88
Cuatro Cañadas	**22 (5)**	**0.71**	**--**	**--**	**22 100)**	**0.390**	**0.22**	**0.12-0.87**
Nuevo Palmar	22 (5)	0.71	--	--	22 (100)	0.385	0.22	0.12-0.87
Pampa Grande	**61 (34)**	**0.33**	**0.48**	**0.11-2.76**	**61 (98)**	**0.290**	**0.33**	**0.137-5.57**
Los Negros	19 (21)	0.13	0.12	0.11-0.35	19 (100)	0.290	0.77	0.16-3.37
Mataral	10 (10)	0.75	--	--	10 (90)	0.25	0.32	0.16-1.23
Santa Rosa	32 (50)	0.33	0.79	0.12-2.76	32 (100)	0.56	0.96	0.137-5.57

Med.: mediana, SD: desviación estándar, Rang.: rango, ppb: partes por billón (ng/mL)

Estas determinaciones fueron realizadas varios meses después de haber recolectado las muestras, las cuales permanecieron congeladas a -20 °C. Se puede advertir que la frecuencia de la presencia del glifosato es baja, comparada con los resultados

presentados en la tabla 8. Sin embargo, el AMPA está presente en más del 95% de las muestras, probablemente debido a dos razones, la sensibilidad del método para detectar glifosato y/o la biotransformación del glifosato en AMPA mientras las muestras estuvieron almacenadas. Los valores de la concentración urinaria de AMPA son comparables a los reportados en la literatura para otros estudios. (Faniband et al., 2021; Grau et al., 2022; Soukup et al., 2020)

3.2 Estudio de la afectación a la salud por la exposición a plaguicidas en comunidades agrícolas[5]

3.2.1 Introducción

La exposición a plaguicidas representa un riesgo potencial para los seres humanos, causando neuritis, trastornos hepáticos, renales, neurológicos, inmunológicos, metabólicos y endocrinos. En los últimos años ha originado alarma el incremento de personas con enfermedad renal crónica (ERC) no asociada con los factores de riesgo tradicionales, principalmente en población agrícola con exposición a plaguicidas (Chapman et al., 2020; García-Trabanino et al., 2017; Jayasumana et al., 2017; Torres et al., 2010). Si bien se presume que es asintomática, hasta que una elevación de creatinina sérica desencadena el diagnóstico de ERC, en la literatura se reporta que existen signos clínicos asociados con el proceso de la enfermedad (García-Trabanino et al., 2017) La exposición a plaguicidas entre agricultores también se ha relacionado con un aumento en la incidencia de leucemia y de carcinomas de vejiga, como producto de la acción de algunos plaguicidas con efectos genotóxicos. Los resultados de los estudios han llevado a muchos investigadores a

5 El equipo para el presente proceso de trabajo estuvo conformado por Luis Adolfo Mercado Roca y María Rosa Bautista Ferrufino.

evaluar el riesgo genético asociado con la exposición a plaguicidas. Varias investigaciones han reportado asociaciones positivas entre la exposición ocupacional a plaguicidas y la muerte fetal (aborto espontáneo o bebés muertos). (Ávila-Vázquez et al., 2018)

Estudios de biomonitorización sobre la exposición a insecticidas organoclorados, muestran que el DDT y su metabolito DDD aumentan el metabolismo del cortisol, produciendo 6-P-hidrocortisol. Las transformaciones metabólicas del DDT pueden ocurrir en el hígado y otros tejidos, donde el DDT y sus metabolitos pueden inducir enzimas hepáticas que participan en la biotransformación de fármacos y otras sustancias. (De Fernícola, 1985)

Los herbicidas a base de glifosato afectan la salud y la inmunidad, producen efectos citotóxicos y genotóxicos, aumentan el estrés oxidativo, perturban la vía del estrógeno y pueden afectar algunas funciones cerebrales. En el sistema inmunológico, se observa que alteran la cascada del complemento, la función fagocítica y las respuestas linfocitarias, y aumentan la producción de citoquinas proinflamatorias en peces. En mamíferos, incluidos los humanos, el glifosato principalmente tiene efectos citotóxicos y genotóxicos, causa inflamación y afecta las funciones linfocitarias y las interacciones entre microorganismos y el sistema inmunológico. (Peillex & Pelletier, 2020). Si bien un estudio sobre el uso de glifosato y la incidencia de cáncer no encontró asociaciones estadísticamente significativas, en general existe una posible asociación entre el uso de glifosato y el riesgo de leucemia mieloide agua (AML). (Andreotti et al., 2018)

En Bolivia, la Unidad de Genética Toxicológica del Instituto de Genética de la Facultad de Medicina de la UMSA ha realizado varios trabajos de monitoreo e investigación en agricultores expuestos a plaguicidas, en diferentes lugares de los departamentos de La Paz y Cochabamba. Estos han reportado manejo inadecuado de

los agroquímicos y efectos genotóxicos con valores altamente significativos con relación a los controles. (Barrón Cuenca et al., 2020; Hansen et al., 2017; Tirado et al.2012; Jørs et al., 2007)

3.2.2 Caracterización de la población

La tabla 10 muestra de manera resumida las características sociodemográficas de la población, así como los resultados de los análisis realizados. La población de estudio está compuesta por 39% de mujeres y 61% de hombres y la edad promedio es de 45 años. Respecto a la actividad u ocupación, el 44% de las personas participantes tiene una exposición directa a los plaguicidas debido a que realiza una actividad agrícola, mientras que el 56% no tiene una exposición directa. En el caso de la población que no participa en tareas y actividades agrícolas, pero que reside en la zona, tiene una exposición indirecta que puede darse por diferentes vías, principalmente aire, por los aerosoles generados durante las fumigaciones, y por un eventual consumo de agua y alimentos con residuos de plaguicidas.

Como variables de exposición sustanciales también fueron consideradas las fuentes de agua de consumo y los años de residencia en la zona. Una característica importante de la población es su estado nutricional. En tal sentido, se advierte que solo el 19,35% de la población tiene un estado nutricional normal, el 33,33% registra sobrepeso, el 27,96% tiene obesidad y el 18,01% presenta obesidad mórbida.

Para la valoración de una posible afectación renal se determinaron la creatinina y urea en sangre, el filtrado glomerular fue calculado mediante la ecuación CKD-EPI. (Inker et al., 2012)

Tabla 10. Características demográficas y de estado de salud de la población

	Total	Agricultor	Otra ocupación	p
	n=372	n=164	n=208	
Edad años	45 (17-89)	47 (17-89)	41 (17-83)	0,003
Sexo				
Mujeres	144 (39%)	46 (20,2%)	182 (79%)	
Hombres	228 (61%)	118 (81,9%)	26 (18,1%)	0,000
Residencia (años)	25 (1-80)	28,5 (1-79)	20 (1-80)	0,000
Agua				
Pozo	305 (82%)	123(60%)	182 (40%)	0.001
vertiente	67 (18%)	41 (61%)	26 (39%)	
IMC kg/m²	29,2 (18,2-88,7)	28.8(19.1-88.6)	29.7(18.7-46,1)	0.206
Desnutrido	5 (1,34%)	2 (1.2%)	3 (1,4%)	
Normal	72 (19,35%)	34 (20.7%)	38 (18.3%)	0.366
Sobrepeso	124 (33,33%)	48 (29,3%)	56 (26.9%)	
Obesidad	104 (27,96%)	22 (13,4%)	45 (21,6%)	
O. mórbida	67 (18,01%)	58 (35.4)	66 (31.8%)	
Creat. mg/dl				
Mujeres	0,62 (0.55-0.73)	0,66 (0.62-0.75)	0,62 (0.55-0.72)	0.023
Hombres	0,76 (0.70-0.82)	0,77 (0.70-0.82)	0,73 (0.67-0.80)	0.153
Urea mg/dl				
Mujeres	25.2 (19.6- 29.6)	26,5 (24.5-30.2)	24,8(17.8- 28.8)	0.024
Hombres	30,3 (25.2 -33.2)	30,9 (26.4-33.7)	27,9(19.0- 32.4)	0.032
FG ml/min				
Mujeres	108.4(87.1-123.8)	97.4 (84.4-108.0)	111.7 (89.8-126.2)	0.005
Hombres	109.8(99.7-123.8)	109.1 (99.1-122.5)	114.9 (104.1-130.1)	0.312
A.Ur. mg/dl				
Mujeres	3,7 (3.1-4.5)	3.9 (2.9-4.8)	3.6 (3.1-4.5)	0.382
Hombres	4,7(3.6-5.6)	4,7 (3.7-5.6)	4,6 (3.5-5.5)	0.813
Colest. mg/dl				
Mujeres	199,9 (154.6-242.5)	234.1(174.6-282.1)	196.2(143.9-233.1)	0.002
Hombres	202,1 (153.7-234.6)	205,9 (164.9-239.5)	155,2(113.8-209.7)	0.008
HDL mg/dl				
Mujeres	46,2(39.5-52.1)	46.3(38.4-52.3)	45.2(40.0-51.9)	0.827
Hombres	43,2(38.5- 47.2)	43,2 (38.4-47.2)	45,3 (39.2-51.4)	0.400

Triglic. mg/dl				
Mujeres	157,4(106.8-233.5)	185.9(122.5-254.3)	152.0 (104.8-227.2)	0.106
Hombres	150,1(104.0-213.8)	152,1(107.4-212.0)	133,6 (99.9-227.3)	0.586
TGO mg/dl				
Mujeres	35,2 (25.9-58.2)	35.9 (27.2-60.3)	35.2(25.5-56.2)	0.909
Hombres	35,5(28.0-52.8)	36,6 (28.0-52.4)	33,4 (28.0-55.0)	0.698
TGP mg/dl				
Mujeres	28,3 (20.9-41.8)	30.2 (24.5-42.3)	27.6 (19.9-41.4)	0.192
Hombres	30,3(22.4-43.7)	31,2 (23.1-42.9)	26,1(18.4-45.5)	0.145

a Pearson's Chi-squared test, para variables cualitativas, sexo, fuente de agua $p<0.05$ *
Wilcoxon para variables cuantitativas, uso de medianas significancia $p<0.05$ *, $p<0.01$ **, $p<0.001$ ***

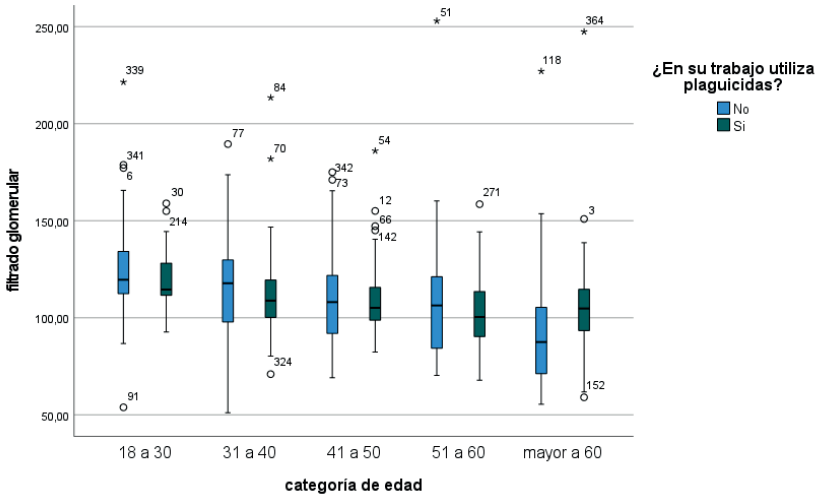
3.2.3 Evaluación de biomarcadores de efecto

En general, los riñones constituyen la principal vía excretora de la mayoría de los plaguicidas. Por lo tanto, una alteración en la función renal se convierte en un indicador potencial de un problema de salud adverso y grave tras la exposición a plaguicidas. El nivel de creatinina sérica (sCr) es la herramienta sustitutiva más utilizada para investigación de la función renal y la medición de lesiones en diagnóstico clínico. (Ferguson & Waikar, 2012) Sin embargo, numerosas variables como la edad, el sexo, la masa muscular y el estado de deshidratación interfieren con el nivel de sCr. (Verhave et al., 2005)El filtrado glomerular (FG) es un indicador clave de la función renal y está estrechamente asociado con las diferentes etapas de la enfermedad renal crónica (ERC). Las etapas de la ERC se clasifican según el nivel de filtración glomerular, que mide la tasa a la que los riñones filtran los desechos y el exceso de líquido de la sangre. (Hill et al., 2016)

En la población de estudio se han encontrado los siguientes valores de FG (mL/min/1,73 m^2): hombres 109,8±26,6 y mujeres 108,4 ± 37,3. Sobre estos resultados, llama la atención y pone en evidencia que el 20% de la población participante tiene valores inferiores

a los valores normales de FG (FG > 90 mL/min/1,73 m^2). En la figura 1 se representa el filtrado glomerular categorizado por edad y diferenciado entre los participantes que tienen exposición directa e indirecta, según su ocupación.

Figura 1. Filtrado glomerular categorizado por edad

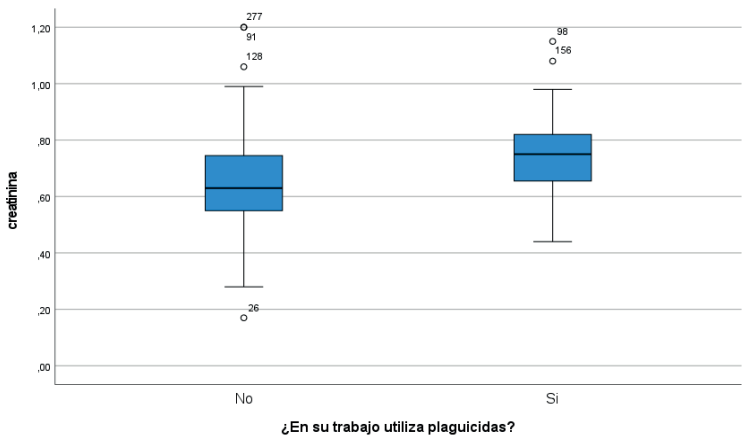


Como se puede observar, existe una disminución del FG con la edad, comportamiento natural y coincidente con reportes de la literatura. (O'Donnell et al., 2011)Sin embargo, para la misma categoría de edad, excepto para mayores de 60 años, se advierte que las personas con exposición directa tienen valores ligeramente inferiores de FG. Por otro lado, el FG presenta correlación negativa con la concentración de DDT y sus metabolitos en sangre, y con la concentración de metabolitos de insecticidas (piretroides y clorpirifos) determinadas en orina, ambas con significancia estadística, asociaciones que son indicios de probables efectos y que deben ser estudiados con mayor atención.

En general, los valores de FG obtenidos en cada categoría de edad, determinados como la mediana, son valores que están dentro del rango considerado como normal. Sin embargo, las tendencias y asociaciones identificadas deben ser consideradas para el diseño de un estudio longitudinal, ya que se ha encontrado valores mínimos de FG < 60 mL/min/1.73 m^2, lo que supone un diagnóstico de ERC y un incremento de riesgo de resultados adversos, que, no obstante, debe ser diagnosticado conforme al protocolo médico (Inker et al., 2012).

Para un mejor análisis de los resultados de la sCr, se realizó la comparación de los niveles de sCr en función a la exposición directa e indirecta a plaguicidas y según la ocupación de los participantes. En la figura 2 se puede apreciar que la población de exposición directa tiene un nivel de creatinina sérica mayor, siendo que la diferencia observada tiene significancia estadística.

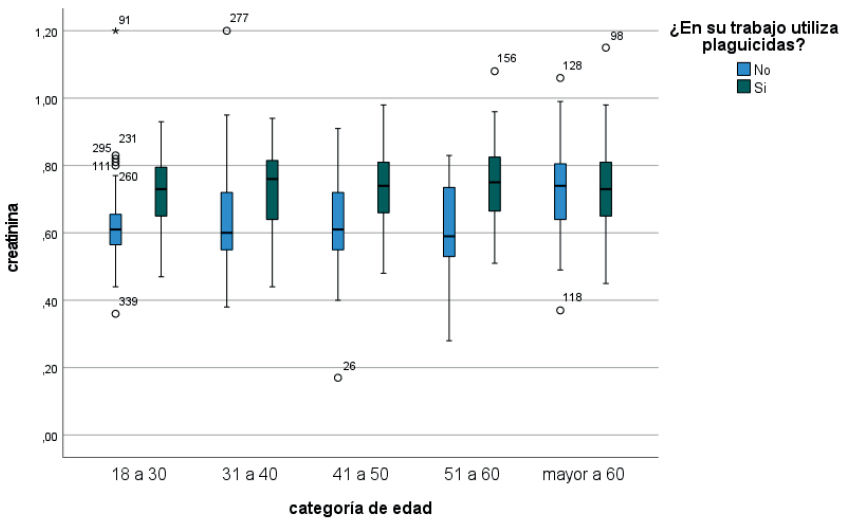
Figura 2. Niveles de sCr según el tipo de exposición determinada por la ocupación de los participantes



En la figura 3 se muestran los niveles de sCr categorizados por edad y diferenciados por exposición directa e indirecta de los participantes.

Como se puede observar, en todas las categorías de edad, las personas con exposición directa tienen mayores niveles de sCr. Como ya se explicó, la población participante en el estudio proviene de cuatro zonas agroecológicas del departamento, y cada zona muestra condiciones climáticas diferentes, con diferentes tipos de cultivos, por lo cual su población se encuentra expuesta a una amplia variedad de plaguicidas, que se aplican en tiempos y frecuencias diferentes.

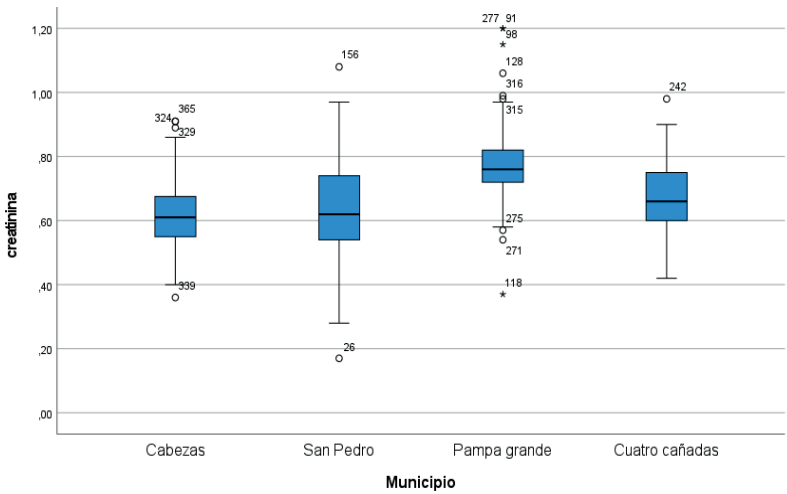
Figura 3. Niveles de sCr categorizadas por edad, según el tipo de exposición



En la figura 4, se muestran los niveles de creatinina por municipio. Se puede apreciar que los pobladores de Pampa Grande registran niveles superiores a los encontrados en otros municipios. Es

importante destacar que Pampa Grande se caracteriza por la actividad hortícola, por lo cual existe una mayor rotación de cultivos, lo que implica que sus pobladores tengan mayor contacto con plaguicidas.

Figura 4. Niveles de sCr por municipio



Mediante análisis bivariado se encontraron correlaciones positivas con significancia estadística de la sCr con las siguientes variables: edad, exposición directa, concentración de metabolitos de insecticidas en orina (piretroides y clorpirifos), concentración de DDT y sus metabolitos en sangre, y la concentración total de metabolitos de insecticidas, fungicidas y herbicidas en orina. Otros estudios también han indicado que trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas muestran un aumento significativo de la concentración de sCr. (Ritu et al., 2013)No obstante, no es posible utilizar los niveles de sCr para detectar enfermedad renal en las fases iniciales de la lesión renal aguda. (Khan et al., 2008; Laws et al., 2016)

Los resultados encontrados aportan indicios respecto a que la exposición a plaguicidas puede suponer alteraciones en la función renal. Sin embargo, es recomendable realizar un estudio longitudinal con comunidades agrícolas, que incluyan las diferentes etapas de la actividad agrícola. Se debe considerar que el estado nutricional de la población de estudio y los valores encontrados en los análisis clínicos, referidos a colesterol, triglicéridos, ácido úrico, en general muestran que la población no tiene hábitos alimenticios saludables.

El trabajo que realizan de forma habitual suele desarrollarse a cielo abierto, y frecuentemente están sometidos a estrés debido a la deshidratación. Es importante puntualizar que todos estos son factores que también afectan a la función renal y que podrían contribuir a que existan mayores valores de creatinina sérica.

Es necesario señalar, sobre la base de estudios realizados anteriormente, que en general los trabajadores agrícolas no suelen utilizar EPP para realizar sus actividades, lo cual constituye una variable de exposición importante.

3.3 Evaluación de riesgo genotóxico[6]

3.3.1 Introducción

La exposición a plaguicidas sea durante su formulación, producción o utilización, puede tener efectos adversos en la salud y en el medio ambiente. Tales efectos no siempre están relacionados con lesiones inmediatas y aparentes, sino que pueden tardar incluso años en manifestarse. (Hagmar et al., 2001) Aunque la población en general se encuentra expuesta a este tipo de compuestos, los agricultores

6 Equipo a cargo: Noemi Sandra Tirado Bustillos y Josué Mamani Jarro; personal técnico: Marina Cuti Anti y Tania Gina Torres Aldunate; tesista de postgrado: Abel Jafet Luna Choque. Instituto de Genética, Facultad de Medicina, Enfermería, Nutrición y tecnología Médica - Universidad Mayor de San Andrés, UMSA.

constituyen el grupo de mayor riesgo y requiere de estudios de biomonitorización para evaluar enfermedades agudas y crónicas ocasionadas por la exposición a plaguicidas.

La importancia de la biomonitorización de riesgo genotóxico reside en que permite la identificación de biomarcadores de genotoxicidad que puede definir un estado de prepatogénesis y dar las pautas para la prevención de la enfermedad. Entre los biomarcadores de efecto[7] que han sido utilizados ampliamente, se tienen: la frecuencia de intercambio entre cromátidas hermanas, micronúcleos, aberraciones cromosómicas y ensayo del cometa. (Bolognesi & Barale, 1997; Holsapple, 2002; Pastor Benito et al., 2003)

Entre los diversos daños que sufre el material genético, como consecuencia de condiciones ambientales perjudiciales, están las mutaciones puntuales y cromosómicas que pueden propiciar la transformación celular. Si tales alteraciones ocurren en proto-oncogenes o genes supresores de tumores, los cuales están involucrados en el crecimiento y diferenciación celular, pueden propiciar el desarrollo de un cáncer en el órgano comprometido, contribuir al envejecimiento prematuro y producir enfermedades vasculares, autoinmunes o degenerativas. (Ascarrunz et al., 2005) Si ocurren en la línea germinal, pueden originar problemas reproductivos (infertilidad), tanto a la gestante como a su descendencia, aumentando las enfermedades genéticas, tanto monogénicas como poligénicas.

La exposición a plaguicidas puede ocasionar neuritis, manifestaciones psiquiátricas, trastornos hepatorrenales, problemas neurológicos, inmunológicos, metabólicos y endocrinos. Asimismo, ha sido relacionada con un aumento en la incidencia de leucemia y

7 Un Biomarcador de Efecto evalúa la alteración bioquímica, fisiológica o de comportamiento producida en el organismo que puede ser asociada con una enfermedad.

cáncer de vejiga en agricultores, como consecuencia de los efectos genotóxicos de algunos plaguicidas. (Márquez Fernandez et al., 2003)

En general, las pruebas de micronúcleos y ensayo del cometa son de gran utilidad en esta evaluación por su sensibilidad para detectar daño en el DNA, o ADN, por la rapidez con que se realizan y por su utilidad potencial para evaluar cualquier población celular eucariótica. (Albertini et al., 2000; Ramírez & Cuenca, 2002)

Se han publicado numerosos estudios sobre la correlación entre la exposición a pesticidas y el potencial de daño genotóxico en diferentes poblaciones bolivianas. La mayoría de los estudios informan niveles de rotura de cadenas de ADN (mediante el ensayo Comet) y/o formación de micronúcleos (mediante el ensayo de micronúcleos) en linfocitos de sangre periférica y/o mucosa oral (Barrón et al. 2024).

3.3.2 Genética toxicológica

La Genética Toxicológica es la disciplina que se ocupa del estudio del efecto mutagénico de los agentes químicos, físicos y/o biológicos, así como de las consecuencias que provoca la exposición a los mismos sobre los ecosistemas, el ambiente, los seres vivos y la salud humana, en pocas palabras, esta disciplina se encarga de detectar las genotoxinas, agentes capaces de actuar directa o indirectamente sobre el DNA o sobre moléculas asociadas (proteínas que intervienen en la reparación del DNA o en la segregación cromosómica) y que producen alteraciones (mutaciones) en el material genético a concentraciones no tóxicas o sub tóxicas. (Mudry M. & Carballo A., 2006)

3.3.3 Biomonitorización de la población expuesta a agentes genotóxicos

Los estudios de biomonitorización intentan establecer la relación entre factores ambientales y enfermedad, detectando alteraciones iniciales en fases todavía no malignas. Los estudios de biomonitoreo deben basarse en el análisis de los compuestos químicos o de sus metabolitos en muestra de sangre, orina, pelo, etc. También pueden evaluar el riesgo de exposición mediante la determinación de las posibles alteraciones, tanto físicas como químicas, inducidas en los individuos. (Albertini, 1994)

En el caso de los compuestos genotóxicos, la biomonitorización se amplía al uso de los ensayos de genotoxicidad y mutagenicidad, para poder realizar una evaluación del daño a nivel del material genético. El objetivo, como parte del proceso de evaluación del riesgo genético, es detectar la exposición a genotoxinas ambientales y determinar sus efectos genotóxicos *in vivo*.

Como ya se explicó en la metodología, en cuanto al diseño, se realizó un estudio de corte transversal, descriptivo y analítico en personas residentes en unidades de producción agrícola de cuatro zonas agroecológicas del Departamento de Santa Cruz.

Las muestras de sangre y orina fueron tomadas a los participantes del estudio, siendo almacenadas adecuadamente y trasladadas para su correspondiente análisis al laboratorio de la unidad de Genética toxicológica del Instituto de Genética de la Universidad Mayor de San Andrés, UMSA, en la ciudad de La Paz. Las muestras de orina para realizar los análisis de determinación de metabolitos de plaguicidas se enviaron al laboratorio de la División de Medicina del Trabajo y Ambiental de la Universidad de Lund- Suecia en el marco de la colaboración por el proyecto Toxbol con financiamiento del Swedish Research Council de Suecia.

Biomarcadores de exposición

Localizan la presencia de agentes mutagénicos y/o carcinogénicos (o sus metabolitos) en tejidos y secreciones corporales (por ejemplo, sangre, orina, heces). Si el compuesto ha penetrado y ha interactuado con el material genético (mutágenos/carcinógenos electrofílicos), se puede detectar por la aparición de aductos en proteínas (albúmina y hemoglobina) y en DNA (células de la línea blanca, orina, tejidos). Un resultado positivo a este nivel no indica necesariamente consecuencias adversas, ya que parte del daño genotóxico primario puede ser reversible. (Mora et al., 2001) El objetivo es detectar si el agente genotóxico ha penetrado en el organismo a diferentes niveles.

Para detectar la exposición a plaguicidas se ha utilizado diferentes biomarcadores tales como: disminución de los niveles de colinesterasa, metabolitos de los plaguicidas en orina y detección de aductos de hemoglobina entre otros. (Anwar, 1997)

En la tabla 11 se encuentran los metabolitos encontrados en los análisis, su nombre químico y el plaguicida del cual proviene el metabolito

Tabla 11. Metabolito, nombre químico y plaguicida parental

Metabolito	Nombre químico	Plaguicida parental
TCP	3,5,6-tricloro-2-piridinol	clorpirifos
2,4 D	Ácido 2,4- diclorofenoxiacético	2,4-D
3-PBA	Ácido 3-fenoxibenzoico	Varios insecticidas piretroides
4F3-PBA	Ácido 4-fluoro-3-fenoxibenzoico	Varios insecticidas piretroides
DCCA	Ácidos cis y trans 3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetil-ciclopropano carboxílico	Varios insecticidas piretroides

MCPA	Ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético	MCPA
CFCA	Ácido (cloro-3,3,3-trifluoro-1-propen-1-il)-2,2-dimetilciclopropano carboxílico	Bifentrin
OH-T	5-hidroxitiabendazol	Tiabendazol
OH-PYM	4- hidroxipirimetanil	Pirimetanil
OH-TEB	hidroxitebuconazol	Tebuconazol
ETU	Etilentiourea	Mancozeb

Para la determinación de los biomarcadores de exposición, se colectaron muestras de orina en recipientes especiales para la determinación de metabolitos de los plaguicidas, se conservaron a -20 ° C, posteriormente a -80° C y se enviaron a Lund (Suecia), en triple empaque con hielo seco, para los análisis correspondientes. Los análisis se realizaron utilizando un sistema de cromatografía líquida (UFLCRX; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón) junto con un espectrómetro de masas con trampa de iones lineal de triple cuadrupolo equipado con una fuente TurboIonSpray. (Norén et al., 2020)

Biomarcadores de efecto

El DNA puede ser alterado de manera espontánea o por acción de diversos agentes. Muchas de estas alteraciones se traducen en roturas del DNA y en pérdida de material genético. Estas anomalías pueden detectarse mediante distintas técnicas moleculares y/o citogenéticas. Entre las técnicas citogenéticas más utilizadas están las que permiten detectar los cambios cromosómicos, tanto estructurales como numéricos. Así, para evaluar el riesgo genético de poblaciones humanas expuestas a mutágenos, las técnicas empleadas con mayor frecuencia son: el de ensayo del cometa (AC) y micronúcleos (MN).

a) Prueba de micronúcleos en células binucleadas

El ensayo de MN es uno de los ensayos de genotoxicidad más utilizado en la biomonitorización de poblaciones humanas expuestas a agentes genotóxicos, como es el caso de los plaguicidas. (Bolognesi, 2003; Garaj-Vrhovac & Zeljezic, 2000; Joksic et al., 1997)

El ensayo de MN permite la determinación de la actividad genotóxica en diferentes sustancias detectando retraso, roturas cromosómicas, pérdida cromosómica y apoptosis, posibilita evaluar el daño a nivel genético y es considerado un biomarcador de efecto. Además, es uno de los ensayos de genotoxicidad más frecuentemente utilizado en mamíferos. Actualmente se está empleando en la evaluación de las consecuencias genotóxicas de las exposiciones ambientales y laborales a mutágenos. (Venegas et al., 1998)

El ensayo de MN ha sido muy usado en la evaluación genotóxica *in vitro* de una gran diversidad de mutágenos químicos, en diversos tipos celulares. El uso de cultivos de linfocitos humanos que iniciaron Heddle y otros estudiosos, en 1976, permitió, por su parte, biomonitorizar una población *in vivo* y llevar a cabo el estudio citogenético de cada individuo, pudiendo correlacionar las alteraciones citogenéticas sufridas con la exposición a las substancias o agentes cuyos efectos adversos se pretende evaluar.

Los MN pueden corresponder tanto a cromosomas enteros como a fragmentos acéntricos que, al no orientarse correctamente durante la división celular, quedan fuera de ambos núcleos hijos. Los MN tienen un aspecto similar al del núcleo principal y se ven como pequeños núcleos en el citoplasma de las células interfásicas. Entonces, los MN pueden ser indicativos de daño clastogénico o aneugénico.

La clastogenicidad ha sido relacionada con procesos de envejecimiento prematuro, alteraciones vasculares e inducción de diversos tipos de cáncer. (Ames & Gold, 2000) Un aumento significativo de la frecuencia de MN que contengan cromosomas enteros puede tener consecuencias negativas para la salud humana, dado que las aneuploidías, sean somáticas o germinales, se han correlacionado con abortos espontáneos, discapacidad y carcinogénesis, entre otras alteraciones. (Hagmar et al., 2001) El ensayo de MN es uno de los pocos disponibles para analizar alteraciones citogenéticas tempranas en tejidos epiteliales, antes de que ocurran cambios malignos.

Entre las ventajas del ensayo de MN se puede mencionar que es una técnica simple, de fácil recuento y de costo reducido. Tiene la habilidad de valorar exposiciones prolongadas, se puede analizar un gran número de células en poco tiempo, y posibilita el menor uso de animales de experimentación. Entre las desventajas se identifica la existencia de factores de confusión que modulan la frecuencia de MN, como son la edad, el sexo, etnia, técnicas de tinción, etc. (Fenech & Morley, 1986; Surralles et al., 1995), los cuales deben ser considerados en el momento del análisis. En los estudios de biomonitorización a veces es difícil interpretar los datos debido a la gran variabilidad intra e interindividual que puede llegar a ser de hasta un 67%, atribuible a un error experimental (Fenech & Neville, 1992), y otras veces debido a la tinción.

En el ensayo de micronúcleos llevado a cabo en linfocitos de sangre periférica se puede realizar dos tipos de cultivos diferentes. Por un lado, pueden utilizarse linfocitos aislados, que representan un sistema de evaluación muy sensible para el análisis del potencial genotóxico (Elhajouji et al., 1994; Surralles et al., 1995), con la desventaja de que se necesitan mayores volúmenes de muestra. Por otra parte, los cultivos de sangre completa tienen la ventaja de que, al conservar los componentes del plasma, reflejan más

fielmente la situación in vivo. Esto se debe a que los eritrocitos y demás componentes del plasma tienen un papel muy importante en la activación metabólica de los promutágenos y también en la degradación de potenciales agentes genotóxicos. (Stocker & Amest, 1987)

b) Ensayo del cometa.

El ensayo de electroforesis en gel de células individuales o ensayo del Cometa permite la evaluación de la fragmentación del ADN resultante de una variedad de daños en el ADN (roturas de cadena simple y doble y sitios lábiles a los álcalis, incluidos los sitios abásicos). El ensayo Cometa se ha vuelto cada vez más popular en los últimos 10 años porque es rápido, económico y requiere poco material biológico. Se ha desarrollado de manera empírica, con dos protocolos básicamente diferentes. (Singh et al., 1988)

A medida que el ensayo del Cometa ha ganado popularidad como una técnica de laboratorio estándar para evaluar el daño y/o la reparación del ADN, la cuestión de cómo se puede aplicar dentro de la estrategia regulatoria actual de pruebas de genotoxicidad se ha convertido en un tema de debate. (Burlinson et al., 2007) Esto es especialmente importante ahora que la aceptación del ensayo del Cometa *in vivo* por parte de las agencias reguladoras en varios países está creciendo, y algunas ya lo citan como una segunda prueba aceptable.

Se desarrollaron algunos estudios utilizando el ensayo Comet en aplicadores de pesticidas y trabajadores de producción de plaguicidas (Garaj-Vrhovac & Zeljezic, 2000), que mostraron aumentos en el nivel de daño al ADN.

En general, ambas pruebas fueron preparadas y procesadas de acuerdo con protocolos estandarizados.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo e inferencial a través de un diseño de corte transversal entre los grupos de Aplica y No aplica plaguicidas. Para realizar el análisis estadístico de los datos obtenidos en el presente estudio, primero se confeccionó una base de datos completa, incluyendo tanto los datos obtenidos a través de la encuesta, como los resultados de los análisis de las muestras procesadas en el laboratorio. La base de datos se confeccionó recurriendo al paquete estadístico SPSS versión 25, y el paquete RStudio 2023.09.1 se utilizó para la elaboración del análisis estadístico.

3.3.4 Resultados

La población estudiada por el Instituto de Genética de la Universidad Mayor de San Andrés estuvo compuesta por 244 personas de las comunidades participantes en el proyecto.

Esta población participante en el estudio fue dividida en dos grupos. Por una parte, el grupo de “aplica”, constituido por personas agricultoras que utilizan o trabajan aplicando plaguicidas, y, por otro, el grupo de “no aplica”, conformado por personas que viven en las comunidades de estudio, pero no aplican plaguicidas ni trabajan con estos productos.

En la tabla 12 se puede observar que, a nivel de edad de la población total, la media fue de 45 años, no registrando diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. La participación de mujeres en el estudio se presentó en mayor porcentaje en el grupo de no aplica plaguicidas (89%), con relación al grupo que aplica plaguicidas (25,6%).

Respecto a la fuente de agua para consumo de la comunidad, en ambos grupos, aplica y no aplica, la mayoría consume agua de pozo.

Tabla 12. Características de los grupos expuestos y no expuestos

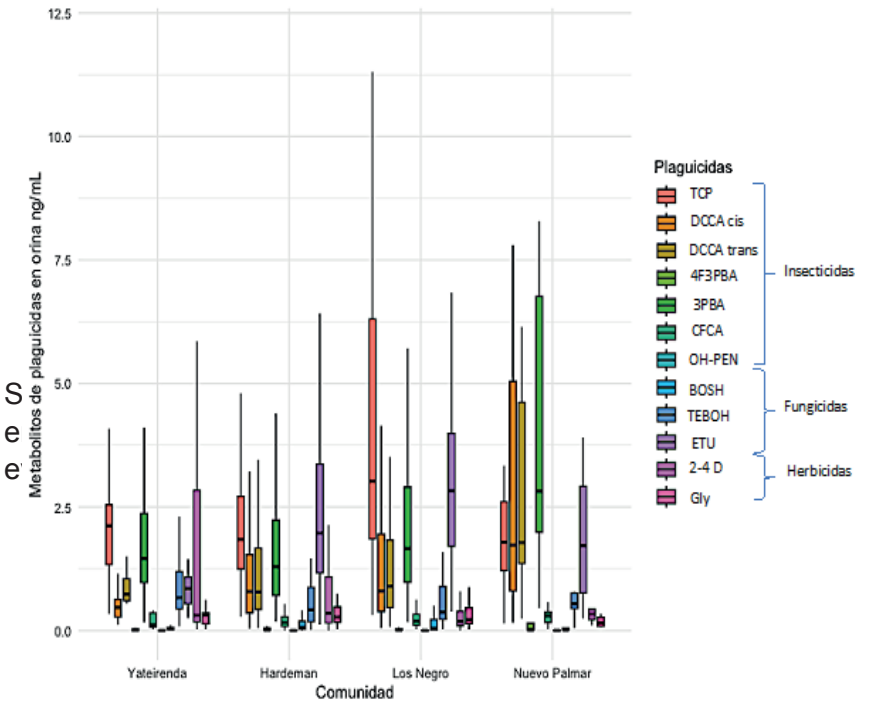
	Total	Aplica plaguicidas	No aplica plaguicidas	p
	n=244	n=117	n=127	0.5204 [a]
Edad (mediana, min-max)	45 (17-89)	49 (18-89)	41 (17-83)	0,0016[b]
Género **femenino** **masculino**	143 (58,6) 101 (41,4)	30 (25,6) 87 (74,4)	113 (89) 14 (11)	< 2.2e-16[c]
IMC kg/m^2 mediana (min-max) (Q25-Q75)	29,1 (19,1-88,7) (25.7-32,7)	28.4 (19.1-88.6) (25.03-32.34)	29,8 (19,6-46,1) (26,8-46,1)	0.085
EPP **Medidas de protección** **Si/no**	NA	40/77 (34,2/65,8)	NA	NA
Consumo de agua **Agua de pozo** **Agua de manantial**	185 (75,8) 59 (24,2)	80 (68.4) 37 (31,6)	105 (82,7) 22 (17,3)	0.009
Tiempo de exposición (en años, media ± SD) (rango) n=115	NA	20,05 ±12,4 (1-58)	NA	NA

Biomarcadores de exposición

Todas las muestras de orina fueron analizadas en el laboratorio de la División de Medicina Ambiental y Ocupacional en Lund, Suecia. Se realizó la determinación de 15 metabolitos, de los cuales se excluyeron el OHT, el OHPEN y el IMPY porque se encontraban por debajo del límite de detección. Por tanto, en los análisis realizados se tomaron en cuenta los 12 metabolitos restantes.

En la figura 5, se puede observar la distribución de los 12 metabolitos detectados en orina por comunidad estudiada (Yateirenda, Hardeman, Los Negros y Nuevo Palmar). Se advierte que en la comunidad de Yateirenda se encontró los metabolitos de los plaguicidas Clorpirifos (TCP), de otros insecticidas piretroides (3BPA) y de herbicidas como el 2,4-D (2,4-D) con mayor proporción, mientras que en la comunidad de Hardeman se encontró con mayor frecuencia el Mancozeb (ETU). En Los Negros, por su parte, existe mayor proporción de Clorpirifos (TCP) y Mancozeb (ETU), con relación a las otras comunidades, y de varios insecticidas piretroides (DCCA Cis y 3PBA) se encontraron en mayor proporción en Nuevo Palmar en relación a los otros metabolitos.

Figura 5. Metabolitos de plaguicidas por comunidad



presencia del plaguicida clorpirifos (TCP) y de varios insecticidas piretroides (DCCA cis y DCCA trans), con un valor de $p<0,001$, seguidos por los metabolitos 3PBA y 4F3PBA, con un valor de $p<0,01$ entre los que aplican y los que no aplican plaguicidas; finalmente, el metabolito ETU con un valor de $p< 0,05$.

Biomarcadores de efecto o daño genotóxico

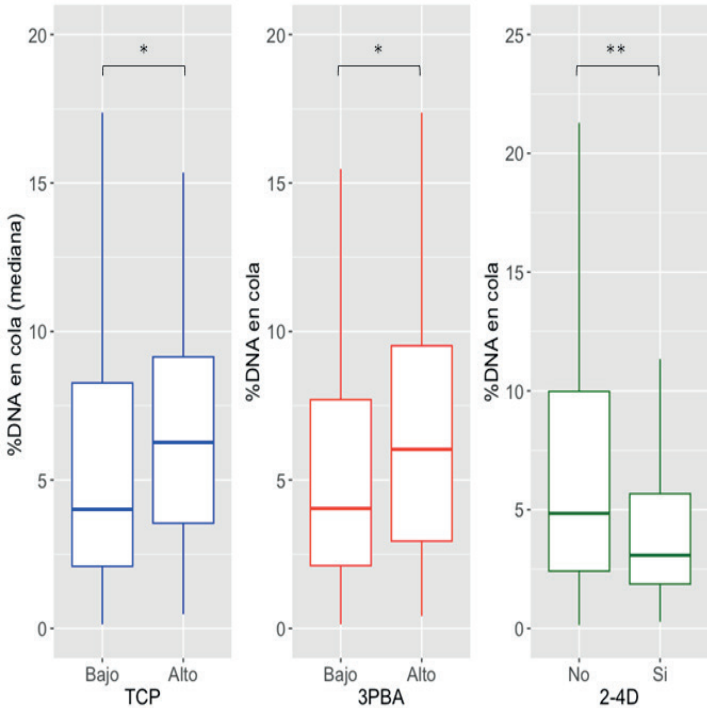
En la tabla 13 se registran los resultados del ensayo de micronúcleos. Se puede apreciar que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de aplica y no aplica plaguicidas, así como tampoco entre hombres y mujeres.

Tabla 13. Genotoxicidad micronúcleos en células binucleadas (MNBN)

Grupo	MN
No aplica	3 (0-26)
Hombre (16)	3,5 (0-7)
Mujer (119)	3 (0-26)
Aplica	3 (0-21)
Hombre (97)	3.0 (0-17)
Mujer (34)	3 (0-21)

En la figura 6 se muestran los resultados del análisis de correlación de los tres plaguicidas más frecuentes encontrados con el daño genotóxico medido por el parámetro del ensayo del cometa (% de DNA en la cola). Se puede observar una correlación positiva significativa ($p<0,05$) con el Clorpirifos TCP y el 3PBA, mientras que con el ácido 2,4 Diclorofenoxacético, presenta una correlación negativa estadísticamente significativa ($p<0,01$).

Figura 6. Porcentaje de DNA en la cola con relación a los metabolitos más frecuentes encontrados en orina



A modo de conclusiones, y como resultados del proceso, se puede mencionar los siguientes aspectos relevantes:

- Se detectaron niveles elevados de 12 de los 15 metabolitos analizados en las muestras de orina de los participantes, correspondientes a las comunidades en estudio.
- La exposición a plaguicidas ha inducido niveles de daño genético detectables mediante la técnica de Ensayo del cometa. Por el contrario, no se detectaron niveles de daño con las pruebas de Micronúcleos en células binucleadas.

- Se encontró una correlación con los biomarcadores de exposición asociados entre los grupos de aplica y no aplica plaguicidas: Permetrina, cipermetrina, y ciflutrin (DCCA Cis, DCCA trans); mancozeb (ETU), tiabendazol (OHPEN), clorpirifos (TCP), (3PBA) y ciflutrin y bifentrin (4F3PBA).
- El incremento en los parámetros del Ensayo del cometa mostró relación con los metabolitos TCP (Clorpirifos) y 3PBA (permetrina cipermetrina, ciflutrin) y el 2-4D.

4. Conclusiones y propuestas

Tomando en cuenta que en las secciones centrales de la presente publicación se desarrollan los procedimientos y los diferentes exámenes y estudios realizados, incluyendo el análisis de los principales resultados, en esta parte final se retoma algunas conclusiones. Se plantea, por otra parte, algunas recomendaciones y propuestas emergentes del proceso de trabajo, así como también la identificación de futuras investigaciones.

A nivel general, como ya se ha mencionado, cabe subrayar que este trabajo forma parte de un proyecto mayor, y constituye una segunda fase de trabajo. Fue llevado a cabo conjuntamente entre dos universidades públicas (UAGRM y UMSA) y una universidad privada (Universidad Católica Boliviana “San Pablo”, sede Santa Cruz), con sus respectivas carreras e institutos de investigaciones, y con la activa participación de docentes y estudiantes.

De otro lado, participó de forma comprometida el Grupo de Trabajo en Cambio Climático y Justicia (GTCCJ), como espacio interinstitucional de la sociedad civil organizada y articulada para promover y coordinar procesos y acciones en torno al cambio climático desde la perspectiva de justicia, mediante el Instituto de Capacitación para el Desarrollo (INCADE).

Este proceso de trabajo, como una segunda etapa, es un ejemplo destacado sobre las potencialidades que presenta la realización de trabajos de investigación interuniversidades y con la participación de organizaciones externas.

A nivel general, cabe destacar que la definición de la problemática, y los ejes de trabajo establecidos, articularon una metodología apropiada a los objetivos y a los criterios de relevancia científica y académica, y de pertinencia social. En ese marco, los resultados y

aportes producidos constituyen evidencia y contribuyen a sustentar acciones de incidencia para la formulación de políticas públicas en beneficio de la población.

4.1 Proceso de Biomonitorización

En lo que respecta al proceso de Biomonitorización de la exposición a plaguicidas, el equipo propone un conjunto de conclusiones y recomendaciones, tanto a nivel de los procedimientos y métodos empleados, como en lo referente a los resultados de la determinación de la concentración de compuestos en orina y suero sanguíneo:

- Desarrollar y validar métodos analíticos para la determinación de un mayor número de metabolitos.
- Implementar técnicas de tratamiento de muestras y de separación de analitos de mayor eficiencia.
- Implementar técnicas analíticas de mayor sensibilidad para determinar concentraciones más bajas, como HPLC- MS de triple cuadrupolo y GC -MS de triple cuadrupolo.
- En el campo de futuras investigaciones, se recomienda realizar estudio de biomonitorización a grupo etario cuya presencia de metabolitos de plaguicidas es significativa, con la finalidad de certificar las conclusiones emitidas en el presente estudio.
- De igual manera, se debe considerar al sector de niñez, especialmente entre familias dedicadas a la agricultura, para realizar un estudio de biomonitorización con el propósito de evaluar la existencia de riesgo asociado e incidencia.

4.2 Medición de los efectos en la salud

En lo que se refiere a la temática de medición de los efectos en la salud, se plantea las siguientes propuestas:

- En una siguiente etapa o proceso de trabajo, sería recomendable el diseño y desarrollo de un estudio longitudinal con las comunidades agrícolas, lo cual implica realizar el análisis en diferentes etapas de la actividad agrícola.
- El proyecto ha demostrado la importancia de profundizar en estudios relacionados a enfermedades asociadas con la exposición a plaguicidas, tales como cáncer y disrupción endocrina, entre otras.
- Considerando enfoques preventivos, las instancias de salud de los gobiernos locales, departamental y nacional, deben desarrollar esfuerzos para implementar campañas de comunicación y de educación en salud, trabajando principalmente sobre factores sociales de la salud.
- El proceso de trabajo conjunto de los equipos, valida la importancia de realizar nuevas investigaciones transdisciplinares con las comunidades.

4.3 Evaluación de riesgo genotóxico

En cuanto a las conclusiones y recomendaciones del estudio de evaluación de riesgo genotóxico:

- Los hallazgos logrados muestran que en las comunidades de estudio existe un alarmante uso de plaguicidas prohibidos o restringidos.
- En el marco, y a pesar de las regulaciones vigentes en el país, es evidente que persiste un uso incontrolado de plaguicidas, lo que genera efectos nocivos para la salud de la población y una creciente contaminación de la tierra y el agua.

- Por lo señalado, desde los resultados del presente estudio se recomienda sobre la necesidad de desarrollar acciones orientadas a lograr una aplicación estricta de las regulaciones y normativas que existen sobre la materia.
- Se propone la necesidad de seguir impulsando esfuerzos sostenidos y continuos para la investigación, lo cual proporciona una base científica para la toma de decisiones por parte de las autoridades pertinentes.

Referencias

Ahamad, A., & Kumar, J. (2023). Pyrethroid pesticides: An overview on classification, toxicological assessment and monitoring. En *Journal of Hazardous Materials Advances* (Vol. 10). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100284

Albertini, R. J. (1994). Why Use Somatic Mutations for Human Biomonitoring? En *Environmental and Molecular Mutagenesis* (Vol. 23).

Albertini, R. J., Anderson, D., Douglas, G. R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A. T., Norppa, H., Shuker, D. E. G., Tice, R., Waters, M. D., & Aitio, A. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. En *Mutation Research* (Vol. 463). www.elsevier.comrlocaterreviewsmrCommunityaddress:www.elsevier.comrlocatermutres

Alexander, B. H., Mandel, J. S., Baker, B. A., Burns, C. J., Bartels, M. J., Acquavella, J. F., & Gustin, C. (2007). Biomonitoring of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid exposure and dose in farm families. *Environmental Health Perspectives*, *115*(3), 370-376. https://doi.org/10.1289/ehp.8869

Ames, B. N., & Gold, L. S. (2000). Paracelsus to parascience: the environmental cancer distraction. En *Mutation Research* (Vol. 447). www.elsevier.comrlocatermolmutCommunityaddress:www.elsevier.comrlocatermutres

Andreotti, G., Koutros, S., Hofmann, J. N., Sandler, D. P., Lubin, J. H., Lynch, C. F., Lerro, C. C., De Roos, A. J., Parks, C. G., Alavanja, M. C., Silverman, D. T., & Beane Freeman, L. E. (2018). Glyphosate Use and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study. *Journal of the National Cancer Institute*, *110*(5), 509-516. https://doi.org/10.1093/jnci/djx233

Anwar, W. A. (1997). Biomarkers of Human Exposure to Pesticides. En *Environ Health Perspect* (Vol. 1).

Aprea, C., Colosio, C., Mammone, T., Minoia, C., & Maroni, M. (2002). Biological monitoring of pesticide exposure: A review of analytical methods. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, *769*(2), 191-219. https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00044-2

Arrebola, J. P., Cuellar, M., Claure, E., Quevedo, M., Antelo, S. R., Mutch, E., Ramirez, E., Fernandez, M. F., Olea, N., & Mercado, L. A. (2012). Concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human serum and adipose tissue from Bolivia. *Environmental Research*, *112*. https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.10.006

Ascarrunz, M. E., Tirado, N., Gonzales, A. R., Cuti, M., Cervantes, R., Huisi, O., & Jors, E. (2005). Evalucion de riesgo genotoxico: biomonitorizacion de trabajadores agrícolas de Caranavi, Guanay, Palca, y Mecapaca, expuestos a plaguicidas. *Cuadernos del Hospital de Clínicas*, *50*(2), 29-31.

Avila-Vazquez, M., Difilippo, F. S., Lean, B. Mac, Maturano, E., & Etchegoyen, A. (2018). Environmental Exposure to Glyphosate and Reproductive Health Impacts in Agricultural Population of Argentina. *Journal of Environmental Protection*, *09*(03), 241-253. https://doi.org/10.4236/jep.2018.93016

Barrón Cuenca, J., Tirado, N., Vikström, M., Lindh, C. H., Stenius, U., Leander, K., Berglund, M., & Dreij, K. (2020). Pesticide exposure among Bolivian farmers: associations between worker protection and exposure biomarkers. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, *30*(4), 730-742. https://doi.org/10.1038/s41370-019-0128-3

Bolognesi, C. (2003). Genotoxicity of pesticides: A review of human biomonitoring studies. En *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (Vol. 543, Número 3, pp. 251-272). Elsevier. https://doi.org/10.1016/S1383-5742(03)00015-2

Bolognesi, C., & Barale, R. (1997). Age-related increase of baseline frequencies of sister chromatid exchanges, chromosome aberrations, and micronuclei in human lymphocytes. *Cancer Epidemiol, Biomarkers & Prevention*, *6*, 249-256. https://www.researchgate.net/publication/14111211

Bouvier, G., Seta, N., Vigouroux-Villard, A., Blanchard, O., & Momas, I. (2005). Insecticide urinary metabolites in nonoccupationally exposed populations. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews*, *8*(6), 485-512. https://doi.org/10.1080/10937400591007284

Bravo, N., Garí, M., & Grimalt, J. O. (2022). Occupational and residential exposures to organophosphate and pyrethroid pesticides in a rural setting. *Environmental Research*, *214*. https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114186

Burlinson, B., Tice, R. R., Speit, G., Agurell, E., Brendler-Schwaab, S. Y., Collins, A. R., Escobar, P., Honma, M., Kumaravel, T. S., Nakajima, M., Sasaki, Y. F., Thybaud, V., Uno, Y., Vasquez, M., & Hartmann, A. (2007). Fourth International Workgroup on Genotoxicity testing: Results of the in vivo Comet assay workgroup. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *627*(1), 31-35. https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2006.08.011

Cámara Agropecuaria del Oriente. (2022, mayo 9). *En 20 años se aplicaron 2.110 millones de kilos de agroquímicos en Bolivia*. https://cao.org.bo/2022/05/09/en-20-anos-se-aplicaron-2-110-millones-de-kilos-de-agroquimicos-en-bolivia/

Chapman, E., Haby, M. M., Illanes, E., Sanchez-Viamonte, J., Elias, V., & Reveiz, L. (2020). Risk factors for chronic kidney disease of non-traditional causes: A systematic review. *Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health*, *43*, 1-12. https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.35

Colosio, C., Fustinoni, S., Birindelli, S., Bonomi, I., De Paschale, G., Mammone, T., Tiramani, M., Vercelli, F., Visentin, S., & Maroni, M. (2002). Ethylenethiourea in urine as an indicator of exposure to mancozeb in vineyard workers. En *Toxicology Letters* (Vol. 134). www.elsevier.com/locate/toxlet

Davies, J. E., Edmundson, W. F., Maceo, A., Barquet, A., & Cassady, J. (1969). An epidemiologic application of the study of DDE levels in whole blood. *American journal of public health and the nation's health*, *59*(3). https://doi.org/10.2105/AJPH.59.3.435

De Fernícola, N. A. (1985). Toxicología de los insecticidas organoclorados. *Boletín de la oficina sanitaria panamericana*, *98*(1). https://iris.paho.org/handle/10665.2/16966

Elhajouji, A., Santos, A. P., Van Hummelen, P., & Kirsch-Volders, M. (1994). Metabolic differences between whole blood and isolated lymphocyte cultures for micronucleus (MN) induction by cyclophosphamide and benzo[a]pyrene. *Mutagenesis*, *9*(4), 307-313. http://mutage.oxfordjournals.org/

Faniband, M. H., Norén, E., Littorin, M., & Lindh, C. H. (2021). Human experimental exposure to glyphosate and biomonitoring of young Swedish adults. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, *231*(October 2020), 1-6. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113657

FAO, & WHO. (2017). Codex Alimentarius. En *DIRECTRICES SOBRE CRITERIOS DE RENDIMIENTO PARA MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN LOS ALIMENTOS Y LOS PIENSOS*. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B90-2017%252FCXG_090s.pdf

Fenech, M., & Morley, A. A. (1986). Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: effect of in vivo ageing and low dose X-irradiation. En *Mutanon Research* (Vol. 161).

Fenech, M., & Neville, S. (1992). Conversion of Excision-Repairable DNA Lesions to Micronuclei Within One Cell Cycle in Human Lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, *19*, 27-36.

Ferguson, M. A., & Waikar, S. S. (2012). Established and emerging markers of kidney function. En *Clinical Chemistry* (Vol. 58, Número 4, pp. 680-689). https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.167494

Fustinoni, S., Mercadante, R., Polledri, E., Rubino, F. M., Mandic-Rajcevic, S., Vianello, G., Colosio, C., & Moretto, A. (2014). Biological monitoring of exposure to tebuconazole in winegrowers. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, *24*(6), 643-649. https://doi.org/10.1038/jes.2014.14

Garaj-Vrhovac, V., & Zeljezic, D. (2000). Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay Pesticide genotoxicity revealed by comet assay. En *Mutation Research* (Vol. 469).

García-Trabanino, R., Cerdas, M., Madero, M., Jakobsson, K., Barnoya, J., Crowe, J., Jarquín, E., Guzmán-Quilo, C., & Correa-Rotter, R. (2017). Nefropatía mesoamericana: revisión breve basada en el segundo taller del Consorcio para el estudio de la Epidemia de Nefropatía en Centroamérica y México (CENCAM). *Nefrología Latinoamericana*, *14*(1), 39-45. https://doi.org/10.1016/j.nefrol.2016.11.001

Gomes, M. P., Le Manac'h, S. G., Maccario, S., Labrecque, M., Lucotte, M., & Juneau, P. (2016). Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *130*. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.11.010

Grau, D., Grau, N., Gascuel, Q., Paroissin, C., Stratonovitch, C., Lairon, D., Devault, D. A., & Di Cristofaro, J. (2022). Quantifiable urine glyphosate levels detected in 99% of the French population, with higher values in men, in younger people, and in farmers. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(22), 32882-32893. https://doi.org/10.1007/s11356-021-18110-0

Grupo de Trabajo Cambio Climático y Justicia GTCC-J, R. S. C., & Instituto de Investigación de la Facultad de Humanidades INIFH, U. (2018). *Uso y manejo de agroquímicos en la producción agrícola*.

Hagmar, L., Strömberg, U., Kan Tinnerberg, H. Ê., & Mikoczy, Z. (2001). The usefulness of cytogenetic biomarkers as intermediate endpoints in carcinogenesis. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, *204*, 43-47. http://www.urbanfischer.de/journals/intjhyg

Hansen, M. R. H., Jørs, E., Lander, F., Condarco, G., Debes, F., Tirado Bustillos, N., & Schlünssen, V. (2017). Neurological Deficits After Long-term Pyrethroid Exposure. *Environmental Health Insights*, *11*. https://doi.org/10.1177/1178630217700628

Hill, N. R., Fatoba, S. T., Oke, J. L., Hirst, J. A., O'Callaghan, C. A., Lasserson, D. S., & Hobbs, F. D. R. (2016). Global prevalence of chronic kidney disease - A systematic review and meta-analysis. En *PLoS ONE* (Vol. 11, Número 7). Public Library of Science. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158765

Holsapple, M. P. (2002). Autoimmunity by pesticides: a critical review of the state of the science. En *Toxicology Letters* (Vol. 127). www.elsevier.com/locate/toxlet

Inker, L. A., Schmid, C. H., Tighiouart, H., Eckfeldt, J. H., Feldman, H. I., Greene, T., Kusek, J. W., Manzi, J., Van Lente, F., Zhang, Y. L., Coresh, J., & Levey, A. S. (2012). Estimating Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine and Cystatin C. *New England Journal of Medicine*, *367*(1), 20-29. https://doi.org/10.1056/nejmoa1114248

Jayasumana, C., Orantes, C., Herrera, R., Almaguer, M., Lopez, L., Silva, L. C., Ordunez, P., Siribaddana, S., Gunatilake, S., & De Broe, M. E. (2017). Chronic interstitial nephritis in agricultural communities: A worldwide epidemic with social, occupational and environmental determinants. *Nephrology Dialysis Transplantation*, *32*(2), 234-241. https://doi.org/10.1093/ndt/gfw346

Joksic, G., Vidakovic, A., & Spasojevic, V. (1997). *Cytogenetic Monitoring of Pesticide Sprayers*.

Jørs, E., Gonzáles, A. R., Ascarrunz, M. E., Tirado, N., Takahashi, C.-R., Lafuente, E., Santos, R. A. Dos, Bailon, N., Cervantes, R., Baelum, J., & Lander, F. (2007). Genetic Alterations in Pesticide Exposed Bolivian Farmers An evaluation by analysis of chromosomal aberrations and the comet assay. En *Biomarker Insights* (Vol. 2). http://free.of.pl/c/

Khan, D. A., Bhatti, M. M., Khan, F. A., Naqvi, S. T., & Karam, A. (2008). Adverse effects of pesticides residues on biochemical markers in pakistani tobacco farmers. *International journal of clinical and experimental medicine*, *1*(3).

Laws, R. L., Brooks, D. R., Amador, J. J., Weiner, D. E., Kaufman, J. S., Ramírez-Rubio, O., Riefkohl, A., Scammell, M. K., López-Pilarte, D., Sánchez, J. M., Parikh, C. R., & McClean, M. D. (2016). Biomarkers of Kidney Injury among Nicaraguan Sugarcane Workers. *American Journal of Kidney Diseases*, *67*(2), 209-217. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.08.022

Li, A. J., & Kannan, K. (2020). Profiles of urinary neonicotinoids and dialkylphosphates in populations in nine countries. *Environment International*, *145*. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106120

Márquez Fernandez, M. E., López Ortíz, J. B., Correa Londoño, G., Pareja López, A., & Giraldo Solano, N. A. (2003). Detección del daño genotóxico agudo y crónico en una población de laboratoristas ocupacionalmente expuestos. *Iatreia*, *16*(4), 275-282.

Mercado, L. A., Freille, S. M., Vaca-Pereira, J. S., Cuellar, M., Flores, L., Mutch, E., Olea, N., & Arrebola, J. P. (2013). Serum concentrations of p,p'-dichlorodiphenyltrichloroethane (p,p'-DDE) in a sample of agricultural workers from Bolivia. *Chemosphere*, *91*(10), 1381-1385. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.023

METAMETRIX, C. L. (2012). *Organophosphates profile guide*. https://cdn.shopify.com/s/files/1/1987/8605/files/Interpretative_Guide_-Organophosphates.pdf

Mora, M. A., Papoulias, D., Nava, I., & Buckler, D. R. (2001). A comparative assessment of contaminants in fish from four resacas of the Texas, USA- Tamaulipas, Mexico border region, Mora. *Environment International*, *27*, 15-20.

Moreno Grau, M.-D. (2003). *Toxicología Ambiental. Evaluación de riesgo para la salud humana* (A. García-Brage, Ed.). McGraw-Hill Interamericana.

Mudry M., & Carballo A. (2006). *Genética Toxicologica* (1a ed.). Editorial Buenos Aires.

Norén, E., Lindh, C., Rylander, L., Glynn, A., Axelsson, J., Littorin, M., Faniband, M., Larsson, E., & Nielsen, C. (2020). Concentrations and temporal trends in pesticide biomarkers in urine of Swedish adolescents, 2000–2017. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, *30*(4), 756-767. https://doi.org/10.1038/s41370-020-0212-8

O'Donnell, J. K., Tobey, M., Weiner, D. E., Stevens, L. A., Johnson, S., Stringham, P., Cohen, B., & Brooks, D. R. (2011). Prevalence of and risk factors for chronic kidney disease in rural Nicaragua. *Nephrology Dialysis Transplantation*, *26*(9), 2798-2805. https://doi.org/10.1093/ndt/gfq385

Okoli, U., Nubila, N., & Okafor, M. (2017). Organophosphorous Pesticide: An Environmental Pollutant Perspective. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, *9*(9).

Pastor Benito, S., Creus Capdevila, A., & Marcos Dauder, R. (2003). *Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas, expuestas a plaguicidas, mediante el ensayo de micronúcleos - Dipòsit Digital de Documents de la UAB*. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona, Facultat de Ciències. https://ddd.uab.cat/record/38401/export/ht

Peillex, C., & Pelletier, M. (2020). The impact and toxicity of glyphosate and glyphosate-based herbicides on health and immunity. *Journal of Immunotoxicology*, *17*(1), 163-174. https://doi.org/10.1080/1547691X.2020.1804492

Ramírez, V., & Cuenca, P. (2002). [DNA damage in female workers exposed to pesticides in banana plantations at Limón, Costa Rica]. *Revista de biologia tropical*, *50*(2).

Ramírez-Jiménez, R., Mejía-Saucedo, R., Calderón-Hernández, J., Montero-Montoya, R., & Yáñez-Estrada, L. (2014). Concentraciones urinarias de metabolitos de plaguicidas organofosforados en niños y adolescentes de una zona agrícola de México. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, *1*(4), 88-97. http://www.reibci.org/publicados/2014/septiembre/3300123.pdf

Ritu, A., Nidhi, T., Anjali, C., & Shiva, A. (2013). Biochemical alterations among spray farmers due to chronic exposure to Chlorpyrifos, an organophosphate pesticides. En *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* (Vol. 2, Número 11). http://www.ijcmas.com

Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., & Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, *175*(1), 184-191. https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0

Soukup, S. T., Merz, B., Bub, A., Hoffmann, I., Watzl, B., Steinberg, P., & Kulling, S. E. (2020). Glyphosate and AMPA levels in human urine samples and their correlation with food consumption: results of the cross-sectional KarMeN study in Germany. *Archives of Toxicology*, *94*(5), 1575-1584. https://doi.org/10.1007/s00204-020-02704-7

Stocker, R., & Amest, B. N. (1987). Potential role of conjugated bilirubin and copper in the metabolism of lipid peroxides in bile (xenobiotics detoxification/reactive oxygen species/biiverdin). En *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* (Vol. 84). https://www.pnas.org

Surralles, J., Catalan, J., Creus, A., Norppa, H., Xamena, N., & Marcos, R. (1995). Micronuclei induced by alachlor, mitomycin-C and vinblastine in human lymphocytes: presence of centromeres and kinetochores and influence of staining technique. En *Mutagenesis* (Vol. 10, Número 5). http://mutage.oxfordjournals.org/

Tagne-Fotso, R., Zeghnoun, A., Saoudi, A., Balestier, A., Pecheux, M., Chaperon, L., Oleko, A., Marchand, P., Le Bizec, B., Vattier, L., Bouchart, V., Limon, G., Le Gléau, F., Denys, S., & Fillol, C. (2023). Exposure of the general French population to herbicides, pyrethroids, organophosphates, organochlorines, and carbamate pesticides in 2014–2016: Results from the Esteban study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, *254*. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2023.114265

Torres, C., Aragón, A., González, M., López, I., Jakobsson, K., Elinder, C. G., Lundberg, I., & Wesseling, C. (2010). Decreased Kidney Function of Unknown Cause in Nicaragua: A Community-Based Survey. *American Journal of Kidney Diseases*, *55*(3), 485-496. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.12.012

Venegas, W., Zapata, I., Carbonell, E., & Marcos, R. (1998). Micronuclei Analysis in Lymphocytes of Pesticide Sprayers from Concepción, Chile. En *Teratogenesis Carcinog. Mutagen* (Vol. 18).

Verhave, J. C., Fesler, P., Ribstein, J., Du Cailar, G., & Mimran, A. (2005). Estimation of renal function in subjects with normal serum creatinine levels: Influence of age and body mass index. *American Journal of Kidney Diseases*, *46*(2), 233-241. https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2005.05.011