

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación del daño en el ADN y vigilancia biológica de la exposición laboral a solventes orgánicos, 2006

Carlos Humberto Torres¹, Marcela E. Varona², Angélica Lancheros², Rosa Isabel Patiño³, Helena Groot⁴

¹ División de Investigaciones, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

² Laboratorio Salud Ambiental, Subdirección de Investigación, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

³ Grupo de Investigación Salud y Ambiente, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Laboratorio de Genética Humana, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. La exposición a solventes es uno de los mayores riesgos potenciales para millones de trabajadores en el mundo; los solventes generan contaminación ambiental y desencadenan problemas de salud pública.

Objetivo. Determinar los niveles de los metabolitos benceno, tolueno y xileno, los polimorfismos de las enzimas CYP2E1, GSTM1, GSTT1 y el daño del ADN mediante el ensayo del cometa.

Materiales y métodos. Se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte transversal para la determinación de polimorfismos genéticos y prueba del cometa en 90 trabajadores pertenecientes a cinco empresas. Se aplicó una encuesta, se tomaron muestras de sangre y de orina, se midieron las concentraciones de fenol, ácido hipúrico orto y meta-metilhipúrico. Se hizo el análisis estadístico y se exploraron posibles asociaciones.

Resultados. El 34,4% eran trabajadores con exposición directa a solventes. En este grupo se evidenciaron concentraciones superiores a los límites permisibles en 3,3% para fenol, en 6,6% para ácido hipúrico, en 3,3% para ácido orto-metilhipúrico y en 36,7% para ácido meta-metilhipúrico, mayor longitud promedio de la cola del cometa (19,5 μm) y un incremento del porcentaje de células con daño medio (19,0%) ($p=0,0007$). El porcentaje de individuos expuestos con genotipos ausentes para las enzimas GSTT1 y GSTM1 fue de 46,7% y de 56,8%, respectivamente.

Conclusión. El uso de biomarcadores de exposición, efecto y susceptibilidad, se ha convertido en una herramienta fundamental para la evaluación del riesgo asociado con la exposición a agentes tóxicos.

Palabras clave: daño del ADN/genética, exposición profesional, solventes/toxicidad, salud pública

DNA damage assessment and biological monitoring of occupational exposure to organic solvents, 2006

Introduction. Exposure to solvents is one of the highest potential risks for millions of workers in the world; they can generate substantial environmental pollution leading to outbreaks of public health problems.

Objective. Blood levels were determined for metabolites of benzene, toluene and xylene, and polymorphisms for enzymes CYP2E1, GSTM1, GSTT1 were characterized. Damage to DNA was assessed by the comet assay for exposure to organic solvents.

Materials and methods. A cross-sectional study was undertaken in 90 employees from 5 different companies. A survey form was administered; blood was sampled to detect the genetic polymorphisms and to apply the comet assay (single cell gel electrophoresis) to detect DNA fragmentation. The concentrations of phenol, ortho and meta methylhippuric acids were measured in urine. Statistical analyses explored the possible associations.

Results. The percentage of workers directly exposed to solvents was 34.4%. In this group, the evidence indicated concentrations higher than the permitted limits: 3.3% for phenol, 6.6% for

hippuric acid, 3.3% for ortho-methylhippuric acid and 36.7% for metamethylhippuric acid. In the Comet assay, the length of the comet's tail was greater than average (19.5 μ m) in exposed subjects, and the percentage of cells with mild damage (19.0%) ($p=0.0007$) was higher. The percentage of exposed individuals with absent genotypes for enzymes GSTT1 and GSTM1 was 46.7% and 56.8% respectively.

Conclusion. Exposure biomarkers have become fundamental tools for the evaluation of risk associated with exposure to toxic agents.

Key words: DNA damage/genetics, occupational exposure, solvents/toxicity, public health.

Los solventes orgánicos, especialmente el benceno, tolueno y xileno, son hidrocarburos aromáticos que se obtienen de la destilación de la hulla y del petróleo crudo (1). El benceno es el principal representante de los hidrocarburos aromáticos; en la industria, se encuentra mezclado con sus homólogos, el metilbenceno o tolueno y el dimetilbenceno o xileno (1,2).

Son compuestos químicos ampliamente utilizados y se observa un consumo elevado en la industria en general y en múltiples actividades en el hogar, de tal forma que sus efectos sobre la salud ocurren tanto por accidente como por exposición laboral. El manejo y la disposición inadecuada de muchos productos químicos volátiles, como los solventes, generan contaminación ambiental y desencadenan problemas de salud pública (1-3).

La exposición a solventes se considera uno de los mayores riesgos potenciales para millones de trabajadores en el mundo; la prevalencia de exposición puede variar según la actividad económica a la que se dedique la empresa donde laboran (4). En relación con la exposición a los hidrocarburos aromáticos, a nivel mundial la atención se ha centrado en el benceno, el cual se considera peligroso para la salud, inclusive a bajas concentraciones (5,6).

En Colombia la exposición ocupacional a solventes orgánicos ha sido tema de algunos estudios. En una investigación realizada por el Instituto Nacional de Salud y cofinanciada por el

Instituto de Seguro Social, de una muestra de 190 trabajadores de fábricas de pinturas y pegantes en Bogotá, se encontraron niveles elevados de fenol (8,3%), ácido hipúrico (25,4%) y ácido metilhipúrico (35,3%) en los participantes en el estudio; también, se demostró el uso inadecuado e infrecuente de los elementos de protección personal. Estos hallazgos advierten sobre lo que puede estar pasando en el resto de empresas relacionadas en el país (7).

En otro estudio realizado por el Instituto de Seguros Sociales con la cooperación del Centro de Neurociencias de Cuba, se evaluaron los efectos sobre el sistema nervioso de la exposición a solventes orgánicos, en trabajadores potencialmente expuestos en industrias del Valle del Cauca; en una muestra de 157 sujetos, la evaluación neuroconductual reveló que las principales diferencias entre los grupos se encuentran en los procesos de atención, percepción o codificación y memoria (8).

El Instituto Nacional de Salud, en conjunto con la Aseguradora de Riesgos Profesionales BBVA Seguros Ganadero, llevó a cabo otro estudio en 353 trabajadores pertenecientes a empresas de Bogotá, cuyas actividades económicas eran de tipo manufacturero, químico, metalmeccánico y laboratorios analíticos. Se encontró que 12,1% de los trabajadores presentaba niveles de fenol y 6,7% de ácido hipúrico superiores a los valores límite permisibles, y en 4,8% de los lugares de trabajo muestreados se encontraron valores de benceno muy por encima de los límites aceptados (9).

En otro estudio realizado por la Universidad de los Andes, la Universidad El Bosque y el Instituto Nacional de Salud, en el que participaron 33 trabajadores expuestos a solventes orgánicos y 28 sin exposición, se determinó que 3,3% de los

Correspondencia:

Carlos Humberto Torres, calle 134 No. 9-78/83, piso 11, Edificio El Bosque, Bogotá, D.C.
Teléfax: (051) 6489006.
carlostorresrey@gmail.com

Recibido: 27/02/07; aceptado: 14/11/07

trabajadores presentaban niveles de fenol por encima de los valores de referencia y en una empresa se encontraron concentraciones de benceno en el aire por encima de los límites aceptados.

Este estudio incluyó el ensayo del cometa y la determinación de micronúcleos, como pruebas para la evaluación del daño en el ADN; se encontró que 60% de los trabajadores en más de 80% de sus células no presentaban ningún tipo de daño y en el resto de trabajadores se observaron leves daños en sus células. En relación con la longitud de la cola del cometa, en los expuestos se encontró una longitud promedio de 34,9 μm y, en los no expuestos, de 33,4 μm . En la prueba de micronúcleos, 49,2% de los trabajadores presentaron de 1 a 7 micronúcleos por cada 1.000 células binucleadas analizadas (expuestos=1 a 7 y no expuestos=1 a 4/1.000 células) (Cárdenas O, Varona M, Patiño R, Groot H, Sicard D, Torres M, *et al*. Evaluación de la exposición a solventes orgánicos y efectos genotóxicos en trabajadores de fábricas de pinturas en Bogotá. En proceso de publicación).

En Colombia, las cantidades de estos hidrocarburos utilizadas provienen tanto de la producción nacional, a cargo de la planta de aromáticos de Ecopetrol, como de su importación (1,10,11) y no se tienen datos precisos sobre la exposición a solventes, ya que son productos fáciles de obtener, muy baratos y están al alcance de la población en general, pues existen miles de productos comerciales disponibles en el mercado.

Por sus propiedades de volatilidad y liposolubilidad, los solventes tienen un especial tropismo por el sistema nervioso central y periférico, producen cuadros clínicos de neurotoxicidad aguda y crónica, y se consideran mielinotóxicos directos, lo cual se refleja en alteraciones clínicas serias que pueden llegar a ser irreversibles; también, tienen la propiedad de interactuar con los ácidos nucleicos y producir efectos a largo plazo, como mutagénesis o carcinogénesis (4,12-18).

Por todo lo anterior, es importante contar con indicadores que permitan determinar los efectos genotóxicos en poblaciones expuestas a estos

tóxicos ambientales (19,20). Una de las técnicas utilizadas para esta vigilancia es el ensayo del cometa o la electroforesis alcalina de células individuales, que permite evaluar el daño causado en el material genético por diferentes agentes químicos y físicos (21-23). Tiene amplias aplicaciones en toxicología genética, en ensayos de genotoxicidad *in vitro* (24-29) e *in vivo* (30-32), en vigilancia biológica ambiental y en vigilancia de poblaciones humanas expuestas a diversas sustancias químicas mutagénicas (33-40).

El metabolismo de muchos xenobióticos es catalizado por enzimas codificadoras de las familias supergénicas de la fase I, citocromo P450 (CYP), y de la fase II, glutatión S-transferasas (GST). Estas familias están involucradas en la respuesta adaptativa a las agresiones de los productos químicos ambientales. Se cree que la coordinación de la expresión de estas dos familias enzimáticas es necesaria para garantizar la eficiencia en la desintoxicación de mutágenos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, las nitrosaminas, los fenoles, el cloroformo, el nitrocloroetileno, el benceno, el tolueno y otros disolventes orgánicos. Por lo tanto, con su determinación estas enzimas se convierten en biomarcadores de susceptibilidad (41-45).

El presente estudio se desarrolló con el propósito de establecer el comportamiento de los biomarcadores de exposición, efecto y susceptibilidad en los trabajadores expuestos a solventes orgánicos. Sus objetivos fueron establecer los niveles de los metabolitos que se excretan en orina por exposición a benceno, tolueno y xileno (fenol, ácido hipúrico, orto y meta-metilhipúrico), determinar los polimorfismos de las enzimas CYP2E1, GSTM1 y GSTT1, y evaluar el daño del ADN en células sanguíneas de los individuos de la muestra expuestos y no expuestos a disolventes orgánicos, mediante el ensayo del cometa.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte transversal durante los años 2005 y 2006 en cinco empresas que en alguna de las etapas del proceso productivo utilizan solventes orgánicos. Tres se encuentran ubicadas en Bogotá y dos en el

municipio de Cota. La población muestra estuvo conformada por 90 trabajadores, 30 de ellos con exposición directa y 60 sin exposición ocupacional a solventes orgánicos.

Los criterios utilizados para la inclusión de los trabajadores con exposición directa fueron haber trabajado en la empresa como mínimo por seis meses, estar laborando con solventes orgánicos, no tener antecedentes de exposición a radiaciones, no haber recibido radioterapia ni tratamiento con medicamentos quimioterapéuticos y no presentar enfermedades infecciosas en los últimos seis meses. Para los individuos sin exposición directa, se emplearon los mismos criterios anteriores, excepto no tener contacto con solventes orgánicos.

Con el objeto de hacer los ajustes necesarios, tanto de instrumentos como de tiempos y movimientos, se llevó a cabo un estudio piloto en trabajadores de una empresa dedicada a la producción de flores de exportación. Dichos trabajadores no formaron parte de la población muestra del estudio.

Antes de iniciar el trabajo de campo, un ingeniero químico e higienista industrial y un médico especialista en salud ocupacional visitaron las instalaciones de cada una de las empresas que conformaron la muestra. Los objetivos de esta visita fueron informar a los trabajadores y directivos de las empresas sobre el estudio y seleccionar los trabajadores que cumplieran con los criterios de inclusión.

A los trabajadores que aceptaron participar voluntariamente y firmaron el consentimiento escrito, se les realizó una encuesta, la cual fue conducida por profesionales del área de salud previamente entrenados. La información de la encuesta incluyó, entre otros, descripción demográfica, antecedentes ocupacionales, clínicos, toxicológicos y hábitos alimentarios. Luego se procedió a la toma de las muestras biológicas de sangre y de orina en cada una de las empresas.

Para el estudio de los metabolitos de benceno, tolueno y xileno (fenol, ácido hipúrico y orto y meta-metilhipúrico, respectivamente), se recolectaron dos muestras de orina: una muestra antes de la

exposición, la cual se tomó asegurándose que hubiera 48 horas sin exposición laboral a solventes por lo que se realizaron el primer día hábil de la semana (lunes) y una muestra después de la exposición, la que se recolectó al finalizar la semana laboral (viernes). Cada muestra contenía 50 ml (orina de una micción) y se mantuvieron refrigeradas hasta el momento del análisis en el Laboratorio de Salud Ambiental de la Subdirección de Investigación del Instituto Nacional de Salud. Para su análisis se utilizó el método del *National Institute of Occupational Safety and Health* (NIOSH) mediante técnicas cromatográficas (cromatografía de gases con detector de ionización por llama de hidrógeno, GC-FID y cromatografía líquida HPLC-UV) (46,47). Los límites permisibles de los metabolitos en orina se describen a continuación: fenol hasta 80 mg/l, ácido hipúrico hasta 1400 mg/l y no se deben detectar en la orina ácidos orto-metilhipúrico y meta-metilhipúrico (48,49).

Para el estudio de los efectos genotóxicos se tomaron muestras de sangre periférica recolectadas en tubos con anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetracético) y se determinó el daño del ADN mediante la prueba del cometa empleando la técnica introducida por Singh *et al.* (43). Para cada célula se determinó la morfología según las siguientes categorías: A) sin daño en el ADN, B) daño bajo, C) daño medio, D) daño alto y E) daño total (23). Además, se determinó la longitud de la migración del ADN (longitud de la cola) desde el centro del núcleo hasta el último punto de fluorescencia observado.

Para la determinación de los polimorfismos genéticos de las enzimas CYP2E1, se utilizó un método que involucra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), seguida por detección del polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (*restriction fragment length polymorphism*, RFLP). Para el análisis de los polimorfismos del gen *GSTM1* y *GSTT1*, se obtuvieron los fragmentos de ADN de interés por medio de una reacción enzimática múltiple (PCR múltiple) en la que se amplifican ambos segmentos en una sola reacción. Los polimorfismos de los genes *GSTM1* y *GSTT1* se determinaron como presencia o ausencia de los

fragmentos analizados por electroforesis en geles de agarosa al 2%. Estas muestras fueron procesadas y analizadas en el Laboratorio de Genética Humana de la Universidad de los Andes.

Para el procesamiento de la información se creó una base de datos a partir de las preguntas del cuestionario aplicado a cada trabajador participante y, luego, se procesó usando el programa Stata, versión 8, 2003. Inicialmente se obtuvieron distribuciones de frecuencia simples para cada variable. Aquellas variables de tipo continuo se describieron usando promedio, mediana y desviación estándar. Se construyeron tablas de contingencia para explorar posibles tendencias y asociaciones mediante el uso de la prueba χ^2 (χ^2). En la comparación de grupos en los cuales la variable de interés fue de tipo continuo, se utilizó la prueba T de Student para comparación de grupos independientes.

Teniendo en cuenta la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud que establece las normas académicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, en el título II, capítulo I, artículo 11, sobre los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, esta investigación fue clasificada como de riesgo mínimo y fue aprobada por los comités de investigaciones y de ética de las instituciones participantes.

Resultados

De las 90 personas entrevistadas, 30 (33,4%) correspondían a trabajadores con exposición directa a solventes orgánicos en la ejecución de sus actividades manipulan estas sustancias y 60 (66,6%) fueron considerados como no expuestos. La edad promedio del grupo evaluado fue de 32,5 años (rango: 19 a 56, DE=8); la de los trabajadores expuestos era de 31,5 años (DE=8,3) y la de los no expuestos de 33 años (DE=7,8). Del total de participantes, 65 (72,2%) correspondió al sexo masculino (27 expuestos y 38 no expuestos) y 25 (27,8%) al femenino (3 expuestos y 22 no expuestos). El peso promedio de la población total fue de 67 kg (rango: 47 a 100, DE=10,1); en promedio para los expuestos de 67,3 y para los no expuestos de 66,9. La talla del total de las personas entrevistadas fue de 1,66 m, (rango: 1,47 a 1,92, DE=0,08). No se encontraron diferencias

estadísticamente significativas para la edad, el peso ($p=0,03847$ y $p=0,8586$, respectivamente) pero sí entre la condición de exposición, el sexo y la talla ($p<0,005$).

En relación al lugar de nacimiento, 85,5% de la población objeto del estudio era natural del altiplano cundiboyacense, 3,3% de Santander, 2,2% de Tolima y de Huila, respectivamente, y 6,8% se distribuyó entre los departamentos de Antioquia, Valle del Cauca, Bolívar, Atlántico, Norte de Santander y Chocó. La distribución por lugar de nacimiento de los padres fue similar a la de los participantes en el estudio.

El rango de antigüedad en las empresas fue de 6 a 408 meses, con un promedio para los expuestos de 36 meses (rango: 6 a 108, DE=33,6) y para los no expuestos 74 (rango: 6 a 408, DE=84,4).

Los oficios desempeñados por los trabajadores se agruparon en cinco categorías: producción, empaque y despacho, analista de laboratorio, personal administrativo y servicios generales.

Los solventes que refirieron utilizar los trabajadores expuestos fueron: varsol (86,7%), *thinner* (63,3%), xileno (33,3%), tolueno y acetona (23,0%) y benceno (3,3%). Otras sustancias que manifestaron emplear el grupo de expuestos incluyen pegantes, gasolina, desengrasantes y limpiadores (un trabajador puede estar expuesto a más de un solvente o sustancia). Además, 29 (96,7%) de los trabajadores expuestos tenían antecedentes de exposición previa a solventes en empresas de pintura (13,3%) y mecánica (6,7%).

Veintiocho (93,3%) de los expuestos utilizan uniforme de trabajo, el cual 2 (6,7%) lo cambian diariamente y 14 (46,7%) una vez a la semana. En este grupo, 28 (93,3%) trabajadores lavan esta ropa de trabajo en la casa y 2 (6,7%) lo hacen mezclándola con el resto de ropa de la familia. En los cuadros 1 y 2 se describen los aspectos relacionados con las medidas de higiene industrial y el uso de elementos de protección personal.

Los síntomas de mayor frecuencia referidos por los trabajadores objeto del estudio fueron: resequedad de la piel (48,9%), dolores o molestias en la espalda que no cedían al descanso nocturno (35,6%), cefalea (34,4%), alteraciones en el humor

Cuadro 1. Medidas de higiene industrial de los trabajadores participantes, 2006.

Descripción	Característica	Expuestos		No expuestos		P
		n	%	n	%	
Tipo de ropa	Uniforme	28	31,1	53	58,9	0,0164
	Ropa de calle	1	1,1	7	7,8	
	Otra	1	1,1	0	0,0	
Frecuencia de cambio de ropa	Diario	2	2,2	46	51,0	<0,005
	Una vez por semana	14	15,6	7	7,8	
	Otra	14	15,6	7	7,8	
Dónde lava la ropa	Empresa	2	2,2	41	45,6	<0,005
	Casa	28	31,1	19	21,1	
Lava la ropa de trabajo con otras prendas	Sí	2	2,2	11	12,2	0,138
	No	28	31,1	49	54,5	
Ingiere alimentos en el sitio de trabajo	Sí	18	20,1	11	12,2	<0,005
	No	12	13,3	49	54,4	
Se ducha al finalizar la jornada laboral	Sí	8	8,9	22	24,4	0,343
	No	22	24,4	38	42,3	

Cuadro 2. Uso de elementos de protección personal de los trabajadores participantes, 2006.

Descripción	Característica	Expuestos		No expuestos		P
		n	%	n	%	
Uso de guantes	Sí	29	32,2	47	52,3	0,024
	No	1	1,1	13	14,4	
Frecuencia del uso de guantes	Siempre	20	26,3	28	36,8	0,410
	Ocasionalmente	9	11,8	19	25,1	
Tipo de guantes*	Cuero/Vaqueta	29	38,2	14	18,4	<0,005
	Tela	0	0,0	3	3,9	
	Caucho	20	2,6	29	38,2	
	Carnaza	3	3,9	7	9,2	
	Nitrilo	1	1,3	5	6,6	
Uso de algún tipo de protección respiratoria	Sí	25	27,8	31	34,4	<0,005
	No	5	5,6	29	32,2	
Frecuencia de algún tipo de protección respiratoria	Siempre	10	17,9	11	19,6	0,729
	Ocasionalmente	15	26,8	20	35,7	
Tipo de protección respiratoria*	Con filtro para vapores	14	25,0	17	30,4	0,931
	Con filtro para Polvo	9	16,1	22	39,3	
	Tapaboca desechables	10	17,9	3	5,4	
Tipo de calzado	Bota de caucho	0	0,0	1	1,1	0,047
	Bota de cuero	27	30,1	37	41,1	
	Tenis	0	0,0	1	1,1	
	Otro	3	3,3	21	23,3	

* Debe considerarse que los trabajadores manifiestan utilizar más de un tipo de estos elementos de protección personal.

(32,2%), irritación ocular (27,8%), lagrimeo (25,6%), sensación de mareo (22,2%), sensación de hormigueo en manos (20,0%), debilidad (20,0%) y depresión (16,7%). No se observaron diferencias significativas al analizar cada uno de los síntomas referidos por el grupo de expuestos y los no expuestos.

Entre los antecedentes patológicos referidos por los trabajadores, 17 (18,9%) manifestaron antecedentes de infecciones virales (4 expuestos, 13 no expuestos), 12 (13,3%) tenían antecedentes de infecciones bacterianas (3 expuestos, 9 no expuestos) y 9 (10,0%) reportaron haber padecido hepatitis (4 expuestos, 5 no expuestos). No se

reportaron antecedentes de enfermedades crónicas como diabetes, cardiopatías ni cáncer, ni antecedentes de tratamientos de radioterapia o quimioterapia.

En relación a los antecedentes toxicológicos, del total de trabajadores participantes en el estudio, 6 (6,7%) reportaron haber laborado con plomo, 5 (5,6%) con plaguicidas, 2 (2,2%) con cromo y el 1 (1,1%) con cadmio. De los trabajadores expuestos 2 (6,6%) manifestaron haberse intoxicado alguna vez con solventes, 26 (28,9%) reportaron haber fumado alguna vez en su vida (12 expuestos, 14 no expuestos) de los cuales el 11,5% (3) manifestaron realizarlo en el sitio de trabajo (2 expuestos). El 56,7% (51) consumen algún tipo de bebida alcohólica y 28 trabajadores (8 expuestos, 20 no expuestos) manifestaron haber consumido licor la semana previa a la toma de la primera muestra biológica. El cuadro 3 presenta información relacionada con los hábitos alimentarios de la población estudiada.

Así mismo, el 34,4% (31) reportó haber consumido algún tipo de suplemento vitamínico durante el año inmediatamente anterior a la aplicación de la encuesta y sólo un trabajador manifestó utilizar edulcorantes artificiales.

Una descripción de los resultados de los metabolitos de solventes en orina después de la exposición se presenta en el cuadro 4. En el grupo de expuestos, se evidenciaron valores de metabolitos por encima del límite permisible para fenol en un trabajador (3,3%), para ácido hipúrico en dos (6,6%), para ácido orto-metilhipúrico en dos (6,6%) y para meta-metilhipúrico en 11 (36,7%) trabajadores.

En relación con la evaluación del daño en el ADN, de acuerdo con los resultados obtenidos según la morfología nuclear en el ensayo del cometa, se observó que la mayor cantidad de células, tanto para los individuos expuestos como para los no expuestos, corresponde a células con daño bajo en el ADN (62,0% y 70,0%, respectivamente). Existe un aumento del porcentaje de células con daño considerable en el ADN en los individuos expuestos (7,0%) comparado con los no expuestos (4,0%) ($p=0,1192$, IC95%: -0,2695-2,3195) y de células con daño medio en los

trabajadores expuestos (19,0%) comparado con los no expuestos (8,0%) el cual es estadísticamente significativo ($p=0,0007$, IC95%: 1,2512-4,5154) (figura 1).

En los resultados obtenidos para la longitud de la cola del cometa, los expuestos presentaron una longitud promedio de 19,5 μm mientras que la de los no expuestos fue 18,6 μm ($p=0,6244$).

Respecto a los polimorfismos genéticos CYP2E1, GSTT1 y GSTM1, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados (cuadro 5).

Al cruzar los datos entre los valores de metabolitos en orina reportados con niveles superiores a los límites de referencia y los diferentes polimorfismos tampoco se encontraron diferencias significativas.

Discusión

El presente estudio describe la exposición ocupacional a benceno, tolueno y xileno en empresas que laboran con solventes orgánicos en diferentes actividades económicas.

En el grupo estudiado se observó que, en su mayoría, la fuerza laboral pertenecía al sexo masculino con una edad promedio 32,5 años, que se ajusta a la establecida para la población laboralmente activa. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados en relación con las variables edad y peso, de manera que los individuos clasificados como expuestos fueron adecuadamente seleccionados ya que eran similares al grupo de los no expuestos para estas variables. Así mismo, los trabajadores no reportaron antecedentes de enfermedades crónicas, ni de tratamientos de radioterapia o quimioterapia que pudieran interferir en los resultados de citogenética.

El 85,5% de la población objeto del estudio era natural del altiplano cundiboyacense. Similar distribución se observó en relación al lugar de nacimiento de los padres de los trabajadores evaluados, por lo que los resultados del presente estudio en relación a los polimorfismos genéticos sólo aplican para este grupo de población.

El promedio de antigüedad laboral para el grupo de expuestos fue de 36 meses lo que unido a que

el 96,7% de los trabajadores expuestos tenían antecedentes de manipulación de solventes y de sustancias como plomo, cromo cadmio y plaguicidas en trabajos anteriores, revela una exposición crónica a diferentes sustancias químicas que pueden producir a largo plazo efectos sobre la salud.

Los solventes que reportaron los trabajadores emplear con mayor frecuencia fueron varsol, *thinner*, tolueno y xileno. Tanto el varsol como el disolvente son sustancias químicas que en su composición contienen tolueno y xileno, compuestos cuyos metabolitos en orina fueron evaluados dentro del marco del presente estudio.

Cuadro 3. Hábitos alimentarios de los trabajadores participantes, 2006.

Descripción	Característica	Expuestos		No expuestos		P
		n	%	n	%	
Consumo de alimentos enlatados	Sí	17	18,9	32	35,6	0,765
	No	13	14,4	28	31,1	
Consumo de verduras	1 vez por semana	8	8,9	10	11,1	0,257
	2 veces por semana	12	13,3	20	22,2	
	Quincenalmente	0	0,0	6	6,8	
	Mensualmente	0	0,0	2	2,2	
	Otro	10	11,1	22	24,4	
Consumo de frutas	1 vez por semana	8	8,9	9	10,0	0,624
	2 veces por semana	6	6,8	15	16,7	
	Quincenalmente	4	4,4	4	4,4	
	Mensualmente	1	1,1	2	2,2	
	Otro	11	12,2	30	33,3	
Consumo de cítricos	1 vez por semana	8	8,9	13	14,4	0,219
	2 veces por semana	5	5,6	17	18,9	
	Quincenalmente	5	5,6	4	4,4	
	Mensualmente	1	1,1	2	2,2	
	Otro	11	12,2	24	26,7	
Consumo de carnes rojas	1 vez por semana	4	4,4	8	8,9	0,845
	2 veces por semana	12	13,3	25	27,9	
	Quincenalmente	1	1,1	2	2,2	
	Mensualmente	0	0,0	1	1,1	
	Otro	13	14,4	24	26,7	
Consumo de carnes blancas	1 vez por semana	5	5,6	10	11,1	0,392
	2 veces por semana	22	24,4	36	40,1	
	Quincenalmente	0	0,0	4	4,4	
	Mensualmente	0	0,0	0	0,0	
	Otro	3	3,3	10	11,1	
Consumo de café	1 vez por semana	4	4,4	5	5,6	0,421
	2 veces por semana	2	2,2	13	14,4	
	Quincenalmente	0	0,0	1	1,1	
	Mensualmente	0	0,0	1	1,1	
	Otro	24	26,7	40	44,5	

Cuadro 4. Descripción de los resultados de los metabolitos de solventes en orina postexposición.

Metabolito	No detectable	Promedio (mg/l)	Rango (mg/l)	DE
Fenol	10	13,5	11,1-163,4	17,8
Ácido hipúrico	0	154,3	37,3-4007,1	484,2
Ácido orto-metilhipúrico	28	10,5	0,63-179,6	18,1
Ácido meta-metilhipúrico	19	10,0	0,99-71,5	7,9

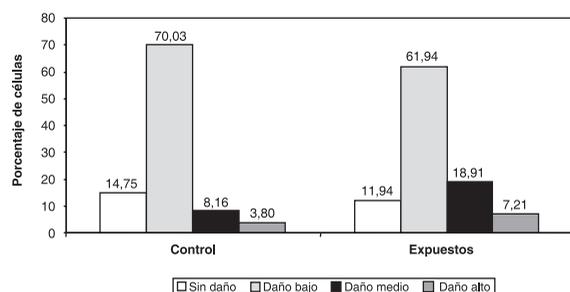


Figura 1. Distribución según morfología celular observada en el ensayo del cometa para individuos control y expuestos a solventes orgánicos.

En el análisis de las variables relacionadas con las medidas de higiene y seguridad industrial se evidencia que los guantes de vaqueta son los que con mayor frecuencia usan los trabajadores expuestos a solventes. Sin embargo, el uso de guantes de cuero, vaqueta, carnaza y caucho así como de botas de cuero, se consideran como inadecuadas para la manipulación de solventes, ya que el material recomendado por las hojas de seguridad de estos productos, corresponden a guantes de nitrilo o neopreno y botas de material no absorbente. Igualmente, se observaron fallas en las medidas de higiene, al encontrar que de los trabajadores expuestos, el 13,3% reportó consumir alimentos y el 11,5% fumar en el sitio de trabajo. También se encontró que solamente el 26,7% de los expuestos manifestaron ducharse al finalizar la jornada laboral, lo que asociado con el hecho que el 93,3% de los expuestos lavan la ropa de trabajo en la casa y, de éstos, el 6,7% lo hace mezclándola con el resto de ropa de la familia, puede conllevar a contaminación del grupo familiar del trabajador.

En relación con la morbilidad sentida se encontró que la resequedad de piel, la cefalea, las alteraciones en el humor, la irritación ocular y el lagrimeo corresponden a las manifestaciones clínicas que con frecuencia reportaron los dos grupos evaluados. Si bien estas manifestaciones han sido descritas como asociadas a la exposición a solventes, no se encontraron en el estudio diferencias entre las referidas por el grupo de expuestos y las de los no expuestos. Dos (6,6%) de los trabajadores expuestos refirieron entre los

antecedentes médicos haber presentado intoxicación con solventes.

Con relación a los metabolitos de fenol en orina después de la exposición, sólo un trabajador presentó valores superiores a los límites permisibles, dado que para este caso, no se encontraron otros factores que pudieran generar fenol en orina como fumar, el resultado obtenido puede asociarse a una baja exposición a benceno. Así mismo, en el grupo de trabajadores expuestos, 11 presentaron valores detectables para ácido meta-metilhipúrico y, de éstos, a dos se les encontraron valores positivos para ácido orto-metilhipúrico lo que indica que tuvieron exposición a xileno.

Para el ácido hipúrico dos trabajadores presentaron valores en orina por encima de 1.400 mg/l; si bien estos resultados pueden verse afectados por el consumo de enlatados, ya que para la preservación de este tipo de alimentos se utiliza el ácido benzoico el cual es metabolizado como ácido hipúrico en orina (47), se encontró que los dos trabajadores informaron no consumir habitualmente este tipo de alimentos en su dieta.

El ensayo del cometa, o electroforesis alcalina de células individuales, detecta el daño a nivel celular basado en la migración electroforética de fragmentos de ADN. Las ventajas de la utilización de esta técnica radican en que presenta una alta sensibilidad para detectar bajos niveles de daño en el ADN, requiere un bajo número de células por muestra y se obtienen resultados en un periodo relativamente corto y son costo-efectivos. Con relación a esta prueba se encontró un incremento en el porcentaje de células con daño medio y alto en el grupo de expuestos en relación con el grupo no expuesto, de las cuales, es estadísticamente significativo el incremento del porcentaje de número de células con daño medio lo cual puede asociarse a la exposición crónica a solventes.

Los polimorfismos genéticos de las enzimas GSTT1 y GSTM1 involucradas en el metabolismo de xenobióticos han sido considerados como un factor de riesgo importante en la susceptibilidad de algunos tipos de cáncer. En el presente estudio el porcentaje de individuos expuestos con genotipos ausentes para las enzimas fue de 46,7% y 56,8%, respectivamente, lo que indica que la

Cuadro 5. Distribución de los polimorfismos genéticos del CYP2E1, GSTT1 y GSTM1 en la población evaluada, 2006.

Polimorfismos genético			Expuestos		No Expuestos		P	
			n	%	n	%		
CYP2e1	Pst I/Rsa I	c1c1	23	25,5	52	57,8	0,185	
		c1c2	2	2,2	5	5,6		
		c2c2	5	5,6	3	3,3		
	Dra I	DD	16	17,9	40	44,4		0,359
		CD	13	14,4	17	18,9		
	CC	1	1,1	3	3,3			
GSTT1	Presente	16	17,9	40	44,4	0,219		
	Ausente	14	15,5	20	22,2			
GSTM1	Presente	13	14,4	30	33,3	0,551		
	Ausente	17	18,9	30	33,3			

población objeto del estudio en relación a estas enzimas no presenta un mayor riesgo (50). En cuanto a los genotipos de la enzima CYP2E1, se encontró que con la enzima de restricción PstI/RsaI el porcentaje de personas expuestas con el genotipo c2/c2 era de 16,7% y para la enzima DraI las personas con el genotipo C/C es de 3,3%. Los genotipos ausentes están asociados con fallas de la actividad enzimática ya sea por alteración en la biosíntesis de la proteína o por la expresión de una proteína no funcional.

Estudios como el presente son de interés puesto que los efectos se relacionan con un metabolismo alterado del xenobiótico, los cuales dependen de la actividad relativa de las enzimas de fase I (CYP2E1) y fase II (GST). De manera que la actividad elevada en la fase I junto a un metabolismo reducido en la fase II, puede tener repercusiones importantes en la exposición a las altas cantidades de una sustancia tóxica (51).

Entre las limitaciones del estudio está la forma de recolección de los datos, específicamente respecto al nombre de los solventes, ya que se basó en la información de los trabajadores lo que implica un posible sesgo de memoria. Otra de las limitaciones de este tipo de estudios en los que se emplean biomarcadores de exposición y de efecto radica en el costo de los análisis y el tiempo requerido para el procesamiento de las muestras lo que dificulta contar con muestras más grandes de trabajadores participantes.

Los resultados obtenidos permiten establecer que los trabajadores evaluados manifestaron

exposiciones previas a solventes y en el cargo en cual se desempeñan en la actualidad utilizan gran variedad de este tipo de sustancias; por lo tanto, es necesario que las empresas refuercen las medidas de higiene y seguridad industrial en lo relacionado con implementar programas tendientes a minimizar la exposición laboral, entre las cuales se incluyen:

1. Actividades de vigilancia ambiental para la determinación de la concentración de contaminantes en cada puesto de trabajo.
2. Establecimiento de un programa para el seguimiento de los elementos de protección personal que incluya: criterios de selección, uso, mantenimiento y reposición acordes con el riesgo y con lo establecido en las hojas de seguridad de los productos, registros de la entrega y uso de estos elementos.
3. Cumplimiento de las normas que garanticen el control de conductas inadecuadas, como fumar y consumir alimentos en el puesto de trabajo, y se refuerce el seguimiento a actividades consideradas como buenas prácticas, entre las cuales están: ducharse al finalizar la jornada laboral, cambiarse diariamente de ropa de trabajo y que la ropa utilizada durante la jornada laboral se lave en la empresa.
4. Realizar seguimiento médico a los trabajadores de manera que se puedan identificar precozmente los efectos que en la salud se generen por la exposición crónica a solventes o mezclas de los mismos.

5. Establecer programas de capacitación dirigidos a los trabajadores con el objeto que sean informados sobre los riesgos por exposición a solventes y sobre las prácticas de manejo seguro de estas sustancias.

El uso de biomarcadores de exposición, efecto y susceptibilidad se ha convertido en una herramienta fundamental para la evaluación del riesgo asociado con la exposición de agentes tóxicos, lo cual permite identificar los grupos de mayor riesgo así como establecer acciones de prevención y control; de manera tal que se hace necesario incluirlos dentro de los programas de vigilancia epidemiológica que se diseñen para el seguimiento de poblaciones expuestas. Dentro de éstas, las pruebas que evalúan el daño en el ADN, así como las pruebas que permiten realizar vigilancia citogenética, tienen amplias aplicaciones en toxicología genética y en el control de poblaciones expuestas a diversas sustancias químicas (52).

Agradecimientos

Expresamos nuestros agradecimientos a los trabajadores, gerentes y propietarios de las empresas participantes. A Sonia Díaz, Álix Murcia, Rocío Morato y Andrés Monroy del Instituto Nacional de Salud por su colaboración en el trabajo de campo, procesamiento de muestras y análisis de la información de solventes orgánicos; a Diana Narváez, Sandra Ortiz y Andrés Rodríguez de la Universidad de Los Andes, por su apoyo en el trabajo de campo, procesamiento y análisis de pruebas citogenéticas; a Nelsy Rodríguez por el soporte en el análisis estadístico y a Allan Cárdenas Patiño de la Universidad El Bosque por su apoyo en la revisión bibliográfica y el trabajo de campo.

Igualmente, agradecemos a Aventis/Academia Nacional de Medicina que en el año 2000 le otorgó al protocolo de este trabajo el premio al mejor proyecto de investigación biomédica.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Financiación

Este proyecto fue financiado por la Universidad El Bosque, la Universidad de Los Andes y el

Instituto Nacional de Salud y cofinanciado por el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología Francisco José de Caldas (Colciencias), código 1308-04-16519, contrato No. 426-2004.

Referencias

1. **Vallejo MC.** Riesgos y medidas de seguridad en el manejo de solventes industriales. Bogotá: Editorial Consejo Colombiano de Seguridad; 1991. p.1-84.
2. **Organización Mundial de la Salud.** Límites recomendados por razones de salud en la exposición profesional a determinados solventes orgánicos. Serie de informes técnicos 664. Ginebra: Editorial Gráficas Unidas S.A.; 1982. p.28-43.
3. **Seedorf L, Olsen E.** Exposure to organics solvents. A survey on the use of solvents. *An Occup Hyg.* 1990;34:371-8.
4. **Córdoba D.** Toxicología. Cuarta edición. Bogotá: Editorial El Manual Moderno; 2000. p.601-10.
5. **Medinsky MA, Kenyon EM, Seaton MJ, Schlosser PM.** Mechanistic considerations in benzene physiological model development. *Environ Health Perspect.* 1996;104(Suppl.6):1399-404.
6. **D'Azevedo PA, Tannhauser M, Tannhauser SL, Barros HM.** Hematological alterations in rats from xylene and benzene. *Vet Human Toxicol.* 1996;38:340-4.
7. **Peña G, Varona M, Acosta H, Cárdenas O, Sanchez C, Cardozo M, et al.** Evaluación epidemiológica de la exposición a solventes orgánicos en fábricas de pinturas y pegantes en Santa Fe de Bogotá. Documento técnico. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 1996. p.1-28.
8. **Mayor J, Saiz J, Eimil E, Beguería R, Palomino A, Charró L.** Estudio de los efectos sobre el sistema nervioso de la exposición potencial a solventes orgánicos. Documento técnico. Bogotá: Instituto de Seguros Sociales; 1998.
9. **Varona M, Cárdenas O, Conde JV, Rossi L, Idrovo AJ, Araque A, et al.** Determinación de la exposición en trabajadores que laboran con solventes orgánicos en Santa Fe de Bogotá 2000. Documento técnico. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2001. p.1-34.
10. **Goldfrank LR, Lewin NA, Flomenbaum EN.** Toxicologic emergencies. Connecticut: Edit. Appleton Century Crofts; 1986. p.672-85.
11. **Casarett L, Doull J.** Organochlorine Insecticides. Toxicology, the basic science of poisons. Fourth edition. New York: Macmillan Publishing Co; 1991. p. 681-722.
12. **Meulenbelt J, De Groot G, Savelkoul TJ.** Two cases of acute toluene intoxication. *Br J Ind Med.* 1990;47: 417-20.

13. **Olsson H, Brand L.** Occupation exposure to organic solvents and Hodgkin's disease in man. *Scand J Work Environ Health.* 1980;6:302-5.
14. **Langman JM.** Xylene: its toxicity, measurement of exposure levels, absorption, metabolism and clearance. *Pathology.* 1994;26:301-9.
15. **Chen Z, Liu SJ, Cai SX, Yao YM, Yin H, Ukai H, et al.** Exposure of workers to a mixture of toluene and xylenes. II Effects. *Occup Environ Med.* 1994;51:47-9.
16. **Ukai H, Takada S, Inui S, Imai Y, Kawai T, Shimbo S, et al.** Occupational exposure to solvent mixtures: effects on health and metabolism. *Occup Environ Med.* 1994;51:523-9.
17. **Yardley-Jones A, Anderson D, Lovell DP, Jenkinson PC.** Analysis of chromosomal aberrations in workers exposed to low level benzene. *Br J Ind Med.* 1990;47:48-51.
18. **Eastmond DA, Tucker JD.** Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochore antibody. *Environ Mol Mutagen.* 1989;13:34-43.
19. **Major J, Jakab M, Kiss G, Tompa A.** Chromosome aberration, sister-chromatid exchange, proliferative rate index, and serum thiocyanate concentration in smokers exposed to low-dose benzene. *Environ Mol Mutagen.* 1994;23:137-42.
20. **van Damme K, Casteleyn L, Heseltine E, Huici A, Sorsa M, van Larebeke N, et al.** Individual susceptibility and prevention of occupational diseases: scientific and ethical issues. *J Occup Environ Med.* 1995;37:91-9.
21. **McKelvey-Martin VJ, Green MH, Schmezer P, Pool-Zobel BL, De Méo MP, Collins A.** The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): an European review. *Mutat Res.* 1993;288:47-63.
22. **Anderson D, Yu TW, Schmezer P.** The effect of various antioxidants and the other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the comet assay. *Mutat Res.* 1994;307:261-71.
23. **Collins A, Dusinská M, Franklin M, Somorovská M, Petrovská H, Duthie S, et al.** Comet assay in human biomonitoring studies. Reliability, validation and applications. *Environ Mol Mutagen.* 1997;30:139-46.
24. **Hartmann A, Speit G.** Genotoxic effects of chemicals in the single cell gel (SCG) test with human blood cell in relation to the induction of sister chromatid exchanges (SCE). *Mutat Res.* 1995;346:49-56.
25. **Pfuhler S, Wolf HU.** Detection of DNA-crosslinking agents with the alkaline comet assay. *Environ Mol Mutagen.* 1996;27:196-201.
26. **Fairbairn DW, Olive PL, O'Neill KL.** The comet assay: a comprehensive review. *Mutat Res.* 1995;339:37-59.
27. **Collins AR, Duthie SJ, Dobson VL.** Direct enzymic detection of endogenous oxidative base damage in human lymphocyte DNA. *Carcinogenesis.* 1993;14:1733-5.
28. **Hartmann A, Speit G.** Comparative investigations of genotoxic effects of metals in the single cell gel (SCG) assay and the sister chromatid exchange (SCE) test. *Environ Mol Mutagen.* 1994;23:299-305.
29. **Speit G, Hanelt S, Helbig R, Seidel A, Hartmann A.** Detection of DNA effects in human cells with the comet assay and their relevance for mutagenesis. *Toxicol Lett.* 1996;88:91-8.
30. **Plappert U, Barthel E, Seidel HJ.** Reduction of benzene toxicity by toluene. *Environ Mol Mutagen.* 1994;24:283-92.
31. **Pool-Zobel BL, Lotzmann N, Knoll M, Kuchenmeister F, Lambertz R, Leucht U, Schröder HG, et al.** Detection of genotoxic effects in human gastric and nasal mucosa cells isolated from biopsy samples. *Environ Mol Mutagen.* 1994;24:23-45.
32. **Fusco JC, Afshari A, George M, De Angelo AB, Tice RR, Salman T, et al.** *In vivo* genotoxicity of dichloroacetic acid: Evaluation with the mouse peripheral blood micronucleus assay and the single cell gel assay. *Environ Mol Mutagen.* 1996;27:1-9.
33. **Betti C, Davini T, Giannessi L, Loprieno N, Barale R.** Microgel electrophoresis assay (comet test) and SCE analysis in human lymphocytes from 100 normal subjects. *Mutat Res.* 1994;307:323-33.
34. **Green MH, Lowe JE, Waugh AP, Aldridge KE, Cole J, Arlett CF.** Effect of diet and vitamin c on DNA strand breakage in freshly-isolated human blood cells. *Mutat Res.* 1994;316:91-102.
35. **Tice RR.** The single cell gel/comet: A microgel electrophoretic technique for the detection of DNA damage and repair in individual cell. En: Phillips DH, Venitt S, editors. *Environmental mutagenesis.* Oxford: Bios Scientific; 1995. p.315-39.
36. **Dennong C, Hartmann A, Frey G, Speit G.** Detection of DNA damage after hyperbaric oxygen (HBO) therapy. *Mutagenesis.* 1996;11:605-9.
37. **Tice RR, Strauss GH, Peters WP.** High-dose combination alkylating agents with autologous bone-marrow support in patients with breast cancer: preliminary assessment of DNA damage in individual peripheral blood lymphocytes using the single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res.* 1992;271:101-13.
38. **GediK CM, Ewen SW, Collins AR.** Single-cell electrophoresis applied to the analysis of UV-C damage and its repair in human cell. *Int J Radiat Biol.* 1992;62:313-20.
39. **Green MH, Lowe JE, Harcourt SA, Akinluji P, Rowe T, Cole J, et al.** Sensitivity of unstimulated and stimulated human lymphocytes from normal and xeroderma

- pigmentosum donors in the comet assay. A potential diagnostic technique. *Mutat Res.* 1992;273:137-44.
40. **Vijayalaxmi, Tice RR, Strauss GH.** Assessment of radiation-induced DNA damage in human blood lymphocytes using the single-cell gel electrophoresis technique. *Mutat Res.* 1992; 271:243-52.
 41. **Matthias C, Bockmuhl U, Jahnke V, Jones P, Hayes J, Aaldersea J, et al.** Polymorphism in cytochrome P450 CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1 and glutathione S-transferase, GSTM1, GSTM3, GSTT1 and susceptibility to tobacco-related cancers: studies in upper aerodigestive tract cancers. *Pharmacogenetics.* 1998;8:91-110.
 42. **Tomatis L, Aitio A, Wilbourn J, Shuker L.** Human carcinogens so far identified. *Jpn J Cancer Res.* 1989;80:795-807.
 43. **Sing NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL.** A simple technique for quantization of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res.* 1988;175:184-91.
 44. **Hayashi SI, Watanabe J, Kawajiri K.** Genetic polymorphism in the 5'-flanking region change the transcriptional regulation of the human CYP2E1 gene. *J Biochem (Tokyo).* 1991;110:559-65.
 45. **Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Antilla S, Karjallainen A, Vainio H.** The human CYP2E1 gene and lung cancer: Dra1 and Rsa1 restriction fragment length polymorphism in a Finnish study population. *Carcinogenesis.* 1993;14:85-8.
 46. **The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH).** Hippuric and methyl hippuric acids in urine. Method 8301, issue 3. Date: 15 March 2003. [Consultado: 5 de diciembre de 2005]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/Niosh/nmam/pdfs/8301.pdf>
 47. **Acosta H.** Determinación de fenol y ácidos hipúrico y metil hipúrico en orina mediante técnicas cromatográficas (GC-FID y HPLC-UV). Manual de procedimientos. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 1996.
 48. **Axency for Toxic Substances and Disease Registry.** Xileno. CAS #1330-20-7. September 2005. [Consultado: 5 de diciembre de 2005]. Disponible en: http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts71.pdf
 49. **Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.** Tabla 5 - Valores límite biológicos, VLBs. [Consultado: 5 de diciembre de 2005]. Disponible en: <http://www.mtas.es/insht/practice/vlb.htm>
 50. **Gonzalez C, Sala N, Capella G.** Minireview. Genetic susceptibility and gastric cancer risk. *Int J Cancer.* 2002;100: 249-60.
 51. **Torres M, Acosta C, Sicard D, Groot H.** Susceptibilidad genética y riesgo de cáncer gástrico en una población del Cauca. *Biomédica.* 2004;24:153-62.
 52. **Au W, Lee E, Christiani DC.** Biomarker research in occupational health. *J Occup Environ Med.* 2005;47:145-53.