

ARTÍCULO ORIGINAL

## Alteraciones citogenéticas en trabajadoras con riesgo ocupacional de exposición a plaguicidas en cultivos de flores en Bogotá

Marcela Varona <sup>1</sup>, Omayda Cárdenas <sup>1</sup>, Cecilia Crane <sup>2</sup>, Sandra Rocha <sup>1</sup>, Giselle Cuervo <sup>1</sup>, Jaime Vargas <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Salud Ambiental, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Laboratorio de Genética, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Se determinó la frecuencia de alteraciones citogenéticas (micronúcleos y aberraciones cromosómicas), deficiencias en la reparación del ADN y actividad de la acetilcolinesterasa como biomarcadores de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos en trabajadoras de cultivos de flores en Bogotá. Se realizó un estudio descriptivo en 31 trabajadoras con riesgo ocupacional de exposición a plaguicidas y 30 sin riesgo; la información se obtuvo por medio de una entrevista. Se emplearon como pruebas citogenéticas estándar la frecuencia de aberraciones cromosómicas y de micronúcleos; la prueba de reto (*challenge assay*) se utilizó para determinar la respuesta a los rayos gamma y como indicador de deficiencias en la reparación del ADN. Los datos se analizaron por porcentaje de células aberrantes, frecuencia de aberraciones cromosómicas y rompimiento cromatídico en 100 células en metafase analizadas en cada trabajadora. En los ensayos citogenéticos, se encontró que el grupo expuesto presentó frecuencias mayores de células con aberraciones cromosómicas y micronúcleos que el grupo no expuesto, con diferencias significativas ( $p=0,02$ ); sin embargo, con la prueba de reto, la diferencia no fue significativa ( $p>0,1$ ). Estos hallazgos requieren ser confirmados por estudios de tipo analítico que involucren exámenes clínicos; además, es necesario un mayor número de biomarcadores para la monitorización de trabajadores expuestos a plaguicidas en cualquier situación.

**Palabras clave:** plaguicidas, aberraciones cromosómicas, cultivo de flores, Colombia.

### Cytogenetic alterations in field workers routinely exposed to pesticides in Bogota flower farms

Frequency of cytogenetic alterations (micronuclei and chromosome aberrations), DNA repair deficiencies and acetylcholinesterase activity was determined for field workers in Bogotá, Colombia. These workers were regularly exposed to organophosphate and carbamate insecticides while employed on farms for flower growing. Interviews were conducted with 31 workers associated with occupational risk of pesticides exposure and 30 without exposure. A standard cytogenetic assay was used to determine chromosome aberrations and micronuclei frequencies. In addition, a challenge assay assessed response to gamma-rays as an indication of DNA repair deficiencies - cells were exposed to gamma-rays *in vitro* and the frequencies of chromosome aberrations in post-irradiation metaphase cells were quantified. The data were evaluated for percentage of aberrant cells, cells with chromosome aberrations and frequencies of chromatid breaks per 100 metaphase cells in each worker. The exposed group had a significantly higher frequency of cells with chromosome aberrations and micronuclei as compared with the non-exposed group ( $p=0.02$ ). However, the challenge assay did not indicate a significant difference ( $p>0.1$ ). These findings require confirmation by further analytical studies involving larger sample. Cytogenetic and toxicological studies, in conjunction with thorough clinical examination are recommended.

**Key words:** pesticides, chromosome aberrations, floriculture, Colombia.

Dada la creciente necesidad del control de plagas, el modelo de desarrollo agrícola en Colombia ha incrementado el uso indiscriminado de plaguicidas con una deficiente aplicación de técnicas de control biológico y control integrado. La mayoría de las veces los plaguicidas se emplean sin la necesaria investigación técnica, desconociendo la multiplicidad de características regionales, como son la variedad de climas, la diversidad de especies y la heterogeneidad de culturas (1). Algunos de estos plaguicidas se consideran contaminantes ubicuos del medio ambiente y se sospecha que algunos tengan actividad mutagénica, carcinogénica y teratogénica, como lo informa la IARC (1-4).

En Colombia, el uso de plaguicidas en la actividad del cultivo de flores ha venido desarrollándose en forma progresiva desde mediados de los años 60 (5). La fuerza laboral que trabaja con plaguicidas en la mayoría de los países proviene de los sectores socioeconómicos menos favorecidos, son usualmente trabajadores migratorios y, en general, pertenecen al sector informal de la economía. En estudios realizados en este sector, se ha observado el uso de un gran número de productos comerciales que contienen diferentes principios activos para el control de las enfermedades que afectan los cultivos. El estudio de Restrepo y colaboradores de 1990 informó un total de 127 productos, entre los cuales los fungicidas eran los plaguicidas más utilizados en los cultivos de flores en la región de la sabana de Bogotá, donde se encuentran localizados la mayoría de los cultivos (6). En otro estudio realizado por el Instituto Nacional de Salud en 1997, de 210 plaguicidas citados, se encontró, en primer lugar, el grupo de insecticidas simples (52,4%), seguido por los fungicidas simples (25,2%) y los acaricidas (11,4%). De acuerdo con la clasificación dada por el Ministerio de la Protección Social, la distribución de estos plaguicidas según su toxicidad mostró que 41% eran medianamente tóxicos y 30,4%

extremadamente tóxicos (7,8). En la literatura internacional se han reportado varios estudios sobre los efectos genotóxicos producidos en trabajadores por exposición a plaguicidas. Anwar y colaboradores, en un estudio realizado en Estados Unidos, encontraron una frecuencia mayor de rompimientos cromatídicos en las muestras de 16 agricultores ( $1,56 \pm 0,29$ ) que en las de los 16 controles ( $0,44 \pm 0,22$ ) (2); otro estudio llevado a cabo en Italia por Bolognesi y colaboradores en 71 floricultores y 75 controles mostró un incremento significativo de micronúcleos en los trabajadores expuestos, comparado con los del grupo control (8,57 vs. 6,67,  $p < 0,05$ ); el estudio realizado por Joksic y colaboradores en Yugoslavia en 27 asperjadores de plaguicidas mostró una frecuencia de aberraciones cromosómicas ( $p < 0,001$ ) y micronúcleos ( $p < 0,000$ ) significativamente mayor en el grupo expuesto que en el grupo control (2,9-12).

Los métodos establecidos como herramientas para la monitorización de poblaciones ocupacional o medioambientalmente expuestas a un agente mutagénico conocido o sospechado (2), emplean biomarcadores de efecto, como la determinación de micronúcleos (MN), aberraciones cromosómicas (AC) en cultivo de linfocitos y técnicas para medición del daño del ADN (2,13,14).

Teniendo en cuenta la posible genotoxicidad de los plaguicidas, la población expuesta y la escasez de estudios en nuestro país, se realizó esta investigación con el fin de determinar el riesgo que los plaguicidas implican en trabajadoras ocupacionalmente expuestas a ellos, describiendo la frecuencia de alteraciones citogenéticas y el posible daño que causan en el ADN mediante la prueba de MN, AC y la prueba de reto (*challenge assay*); igualmente, se determinó la actividad de la acetilcolinesterasa como biomarcador de exposición a plaguicidas organofosforados (OF) y carbamatos (C) en la población estudiada.

## **Materiales y métodos**

### ***Selección de la población muestra***

Se realizó un estudio descriptivo en una muestra de 61 mujeres trabajadoras, seleccionadas

#### **Correspondencia:**

Marcela Varona, Avenida calle 26 No. 51-60, Bogotá, D.C.  
Teléfono: (571) 220 7700, extensión 447  
mvarona@ins.gov.co

Recibido: 27/11/02; aceptado: 15/04/03

aleatoriamente en tres cultivos de flores de la sabana de Bogotá, de las cuales, 31 tenían riesgo ocupacional de exposición a plaguicidas, o sea, aquéllas que tenían contacto directo con plaguicidas en sus procesos laborales y 30 sin riesgo ocupacional de exposición, esto es, personal administrativo que no tenía contacto directo con plaguicidas. Se realizó una prueba piloto en el 10% del total de las trabajadoras de la muestra, las cuales no formaron parte del estudio.

Los criterios para la aceptación del grupo expuesto fueron: tiempo de trabajo en la empresa de flores mínimo de 2 años, sin exposición a radiaciones, a radioterapia o a medicamentos quimioterapéuticos y sin enfermedades recientes (últimos 6 meses). Los criterios de aceptación de individuos sin riesgo ocupacional de exposición fueron los mismos que se tomaron en cuenta para las trabajadoras con riesgo ocupacional de exposición, excepto que no estuvieran en contacto con plaguicidas. Estos datos fueron suministrados por la oficina de salud ocupacional de la empresa. Las personas con riesgo de exposición tenían edades y hábitos similares a las que no tenían riesgo de exposición ocupacional.

Antes de iniciar la recolección de la información y de las muestras biológicas, se informó a las empresas y a las trabajadoras los objetivos y el tipo de estudio que se desarrollaría. Una vez las trabajadoras aceptaron participar voluntariamente y firmaron un consentimiento escrito, se realizó una entrevista y se aplicó una encuesta para la recolección de información demográfica, antecedentes ocupacionales, clínicos, toxicológicos y alimenticios y se procedió a la toma de las muestras biológicas.

### **Pruebas de laboratorio**

Para la determinación de MN, AC, daño y reparación del ADN (*challenge assay*) y para la acetilcolinesterasa de cada trabajadora, se obtuvo una muestra de 10 ml de sangre por punción venosa en tubos Vacutainer® que contenían heparina sódica como anticoagulante. Las muestras se mantuvieron en refrigeración y se remitieron inmediatamente después de la recolección al Laboratorio de Genética-Salud Pública del Instituto Nacional de Salud.

Al llegar las muestras, se realizaron los cultivos de sangre total (seis por cada trabajadora), siguiendo los protocolos establecidos en este laboratorio (15-17); se usaron dos cultivos para la determinación de MN y dos para la frecuencia de AC; los dos cultivos de sangre restantes se usaron para la prueba del reto, como un indicador de deficiencias en la reparación de ADN. Para este ensayo, los cultivos de linfocitos se irradiaron con una sola dosis de 100 cGy de rayos gamma a las 24 horas de la iniciación del cultivo, según las condiciones descritas por Au y colaboradores (18,19). El cultivo de linfocitos para esta prueba se realizó teniendo en cuenta el protocolo desarrollado para la determinación de AC del Instituto Nacional de Salud (15). La determinación de la actividad de la acetilcolinesterasa en sangre total por el método de Michel y Aldrige modificado (20), se empleó como biomarcador de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos. Se tomaron como valores de referencia 91-164 DpH/h y se consideró como alteración producida por exposición a este tipo de plaguicidas una disminución por debajo del valor de 91 DpH/h (20). Las muestras fueron analizadas el mismo día de la toma en el Laboratorio de Salud Ambiental del Instituto Nacional de Salud.

Las láminas coloreadas para el análisis citogenético fueron codificadas por una persona diferente a quien realizaba la lectura en el microscopio. La frecuencia de MN se determinó en 500 células mitóticas binucleadas y las aberraciones cromosómicas (cromatídicas - *gaps* y rupturas - y cromosómicas - fragmentos acéntricos, cromosomas dicéntricos, anillos y *minutes*) - se analizaron en 100 células en metafase de cada trabajadora. Las células que contenían alteraciones estructurales en los cromosomas se clasificaron como aberrantes.

Se realizó un análisis univariado a todas las variables para conocer las estadísticas descriptivas mediante frecuencias simples y uso de medidas de tendencia central y variabilidad en el caso de variables continuas; igualmente, se empleó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de ji cuadrado. Los resultados citogenéticos de cada trabajadora participante fueron analizados por porcentaje de células aberrantes, frecuencia

de aberraciones cromosómicas (rompimiento cromatídico, deleciones cromosómicas y cromosomas dicéntricos) en 100 células en metafase analizadas en cada trabajadora. Para el análisis se emplearon los programas Stata 5.0 y Epi-Info 6.04.

Este estudio no pretende establecer causalidad sino formular hipótesis de asociación a partir de los resultados y que se evaluarán posteriormente mediante estudios analíticos.

## Resultados

### *Descripción general*

Se entrevistaron 61 trabajadoras voluntarias. La información recolectada correspondía a 31 mujeres con riesgo ocupacional de exposición a plaguicidas y 30 sin riesgo ocupacional de exposición (área administrativa), pertenecientes a tres cultivos de flores en la sabana de Bogotá. El promedio de edad de las trabajadoras fue de 36,4 años con un mínimo de 25 y un máximo de 52 años (mediana=35 años, DE=6,9), con un tiempo promedio de trabajo en el cultivo actual de 131,6 meses (rango de 24 a 264 meses, DE=55,1) y un tiempo promedio total en cultivos de flores de 12 años (mínimo=4,4 años, máximo 22 años, DE=4,4). Los oficios con mayor número de personas en el grupo con riesgo ocupacional de exposición fueron cultivo-corte 18 (29,5%), seguido de sanidad vegetal 5 (8,2%); el grupo sin riesgo ocupacional de exposición, 30 trabajadoras del área administrativa, se encontraba fuera del área de aspersión y del lugar de almacenamiento de los plaguicidas. Del total de las trabajadoras, 21 (34,4%) habían laborado en otros cultivos de flores diferentes al actual.

De acuerdo con la información dada por las trabajadoras participantes en el estudio, recolectada en la encuesta y analizada teniendo en cuenta los criterios del Ministerio de Salud de la Protección Social (8), la distribución de plaguicidas según su toxicidad y uso fue: categoría I (extremadamente tóxico), 11,8%; categoría II (altamente tóxico), 23,5%; categoría III (medianamente tóxico), 41,2%, y categoría IV (ligeramente tóxico), 23,5%. El mayor porcentaje de frecuencia en el uso de plaguicidas fue para

los insecticidas con 70,6%, los fungicidas con 17,6% y los herbicidas y coadyuvantes con 5,9%.

Con relación al uso de elementos de protección personal (EPP), se pudo observar que 23 (37,7%) de las trabajadoras usaban uniforme; 32,8%, bata, y 29,5%, ropa de calle; del total de trabajadoras, 30 (49,2%) usaban guantes de caucho, sólo 13 (21,3%) informaron el uso de respirador y, de éstas, 2 (15,4%) empleaban respiradores aptos para vapores orgánicos y 11 (84,6%) empleaba como 'protección respiratoria' el tapabocas desechable; 85,2% de las trabajadoras informó el uso de calzado de cuero.

Con respecto a las medidas de higiene y seguridad industrial, se encontró que 38 (62,3%) trabajadoras se cambiaban de ropa de trabajo, por lo menos, dos veces por semana, seguido por 32,8% que lo hacía a diario; la totalidad de ellas lavaba la ropa de trabajo en la casa y, de éstas, 31 (50,8%) la lavaban mezclada con el resto de ropa; un alto porcentaje de las trabajadoras, 49,2%, informó consumir alimentos en el sitio de trabajo y, de éstas, sólo 11 (36,7%) se lavaban las manos antes de consumir estos alimentos y 19 (31,1%) se duchaban al terminar la jornada de trabajo.

Con relación a los antecedentes patológicos, se pudo observar que ninguna de las trabajadoras informó haber sufrido infecciones bacterianas, infecciones virales, enfermedades cardiovasculares, diabetes o algún otro tipo de enfermedad en los seis meses previos a la entrevista; igualmente, informaron no haber recibido ningún tipo de tratamiento radioterapéutico o quimioterapéutico.

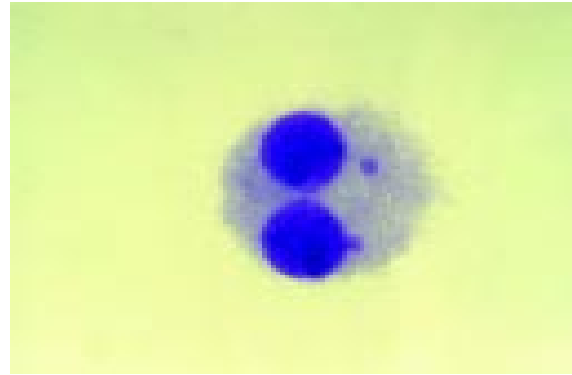
Entre los antecedentes toxicológicos, se encontró que 19 (31,1%) de las trabajadoras fumaban y 28 (45,9%) consumían licor ocasionalmente; del total de las trabajadoras, 6 (9,8%) habían laborado en otras empresas diferentes a las de cultivos de flores empleando productos como hidrocarburos (thinner, gasolina, varsol), 66,6%; blanqueadores (hipoclorito y otros compuestos, soldaduras, tintas), 16,7%. En el hogar, algunas de estas trabajadoras empleaban, en forma ocasional, sustancias como plaguicidas de uso doméstico, 14%; hidrocarburos (gasolina, thinner, varsol), 44,2%, y blanqueadores para limpieza, 41,9%.

Respecto a los hábitos alimentarios, del total de las trabajadoras, 52,5% consumía carnes rojas y 75,4% café a diario; 49,2% consumía verduras; 41%, frutas; 28%, cítricos, y 52,5%, carnes blancas dos veces por semana. Sólo 3 (5%) trabajadoras usaban edulcorantes artificiales y 31 (51%) tomaron vitaminas durante el año previo a la realización del estudio.

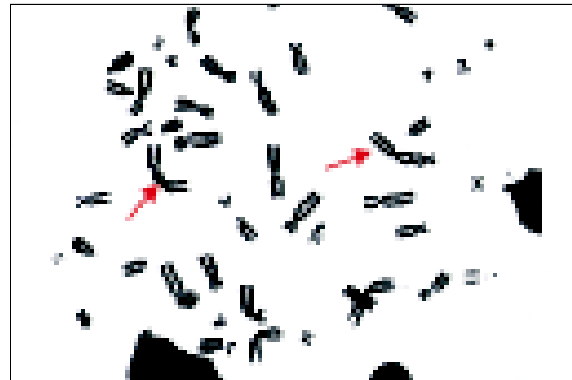
**Pruebas de laboratorio**

Con relación al análisis citogenético, 13,1% de las trabajadoras presentaron micronúcleos (7 con riesgo de exposición y 1 sin riesgo de exposición) con un rango entre 1 y 5 (media=2,1, DE=1,3) por cada 500 células binucleadas analizadas (figura 1a); 37,5% de las trabajadoras que presentaron mayor número de micronúcleos estaba en el oficio de cultivo-corte, seguido por 25% en el oficio de sanidad vegetal. Se encontraron aberraciones en 16 (26,2%) de las 61 trabajadoras (12 con riesgo de exposición y 4 sin riesgo de exposición), con un rango entre 1 y 4 aberraciones (media=1,8, DE=0,8) por cada 100 células en metafase analizadas por trabajadora (figura 1b); de todas las aberraciones observadas, 55,2% eran de tipo cromatídico y 44,8% de tipo cromosómico. Igual que para los micronúcleos, el oficio con mayor número de trabajadoras que presentaron aberraciones cromosómicas fue el de cultivo y corte con 5 (32%) trabajadoras, seguido por sanidad vegetal con 3 (19%).

El cuadro 1 muestra la distribución de células aberrantes y aberraciones cromosómicas en la población estudiada. No se encontraron



**Figura 1a.** Microfotografía de célula binucleada con micronúcleo. Giemsa, 100X.



**Figura 1b.** Microfotografía de metafase con aberraciones cromosómicas tipo dicéntrico. Giemsa, 100X.

aberraciones cromosómicas en 45 de las 61 trabajadoras.

La distribución de células aberrantes entre las 16 trabajadoras (12 con riesgo ocupacional de exposición y 4 sin riesgo ocupacional de

**Cuadro 1.** Distribución de células aberrantes y aberraciones cromosómicas en las trabajadoras de los cultivos de flores de Bogotá, Colombia, 2000.

	Células aberrantes		Aberraciones cromosómicas		
	Trabajadoras		Trabajadoras		
%	n	%	%	n	%
0	45	73,8	0	45	73,8
1	6	9,8	1	6	9,8
2	9	14,8	2	8	13,2
3	0	0	3	1	1,6
4	1	1,60	4	1	1,6
<b>Total</b>	<b>61</b>	<b>100,0</b>	<b>Total</b>	<b>61</b>	<b>100,0</b>

**Fuente:** registros de análisis citogenético, Laboratorio de Genética-Salud Pública, INS.

**Cuadro 2.** Frecuencia de aberraciones cromosómicas por grupo de riesgo ocupacional de exposición en los linfocitos de las trabajadoras de cultivos de flores de Bogotá, 2000.

Grupo	No. trabajadoras	No. células examinadas	Células sin aberraciones		Células con aberraciones		No. total de aberraciones	Aberraciones por trabajadora %
			n	%	n	%		
Con riesgo de exposición	31	3.100	3.079	99,32	21	0,68	22	0,71
Sin riesgo de exposición	30	3.000	2.993	99,77	7	0,23	7	0,23
<b>Total</b>	<b>61</b>	<b>6.100</b>	<b>6.072</b>	<b>99,54</b>	<b>28</b>	<b>0,46</b>	<b>29</b>	<b>0,48</b>

 $p=0,02$ **Fuente:** registros de análisis citogenético, Laboratorio de Genética-Salud Pública, INS.

exposición), que presentaron aberraciones, estaban en un rango de 1% a 4%; sólo una trabajadora con riesgo ocupacional de exposición mostró 4% de células aberrantes. De las 6.100 células examinadas, se encontraron 28 células aberrantes con un total de 29 aberraciones cromosómicas y un valor promedio de frecuencia de aberraciones cromosómicas por persona de 0,48% (para las mujeres con riesgo ocupacional de exposición, 0,71%, y para las que no tenían riesgo ocupacional de exposición, 0,23%). El cuadro 2 muestra la frecuencia de aberraciones cromosómicas según el grupo de riesgo de exposición.

Al realizar la prueba de reto, el total de las participantes mostró aberraciones tipo cromosómico y 20 (32,8%) aberraciones de tipo cromatídico (12 mujeres con riesgo ocupacional de exposición y 8 sin riesgo ocupacional de exposición). De las 6.100 células sometidas a esta prueba, se encontraron 416 células aberrantes con un total de 454 aberraciones cromosómicas. El número de aberraciones cromosómicas post-radiación estaba dentro de un rango de 1 a 23 aberraciones (media=7,4, DE=4,9), siendo más frecuentes las de 4 y 6 aberraciones, con un valor promedio de frecuencia de aberraciones cromosómicas por persona de 7,4% (trabajadoras con riesgo ocupacional de exposición, 8,2%, y trabajadoras sin riesgo ocupacional de exposición, 6,7%) en 100 células en metafase analizadas post-radiación.

El valor promedio encontrado de los diferentes tipos de aberraciones cromosómicas en la

población estudiada fueron: fragmentos acéntricos, 3,4%; cromosomas dicéntricos, 1,4%; anillos, 0,9%; *minutes*, 0,7%, y rupturas cromatídicas, 0,6% por persona, resultados que están por debajo de lo informado en la literatura internacional en estudios realizados en poblaciones expuestas a diferentes tóxicos ambientales (13,19).

Respecto a la determinación de la actividad de la acetilcolinesterasa como biomarcador de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos, en la totalidad de las trabajadoras se encontraron niveles entre 131,1 y 192,7 unidades de variación DpH/h, (media=156,7 DpH/h, DE=12,2), resultados que se encuentran dentro de los valores de referencia (20). No se encontraron diferencias significativas por grupo de riesgo ocupacional de exposición y niveles de acetilcolinesterasa ( $p=0,1$ ).

Al comparar la condición de exposición (con riesgo ocupacional de exposición y sin riesgo ocupacional de exposición) con algunas variables, no se encontraron diferencias significativas con la edad ( $p=0,3$ ), antigüedad en el cultivo ( $p=0,1$ ), oficio anterior y actual en el cultivo, haber trabajado en otro cultivo de flores ( $p=0,2$ ) y tiempo total en cultivos de flores ( $p=0,07$ ), ya que para el grupo con riesgo ocupacional de exposición fue de 13 años y para el grupo sin riesgo ocupacional de exposición, de 11 años. Para las variables 'lavarse las manos antes de comer', 'tomar alimentos en el sitio de trabajo' ( $p<0,01$ ), ' ducharse al terminar la jornada de trabajo' ( $p=0,02$ ), 'condición de fumadora' ( $p=0,01$ ) y 'fumar en el

lugar de trabajo' ( $p=0,04$ ), se encontraron diferencias significativas, lo que no ocurrió con 'consumo de licor' ( $p=0,6$ ). En el cuadro 3 se describen otras variables por grupo de riesgo ocupacional de exposición con relación al uso de elementos de protección personal y hábitos en el trabajo.

Con relación a la dieta, no se observaron diferencias significativas entre los grupos de riesgo ocupacional de exposición y hábitos como consumo de verduras en su alimentación ( $p=0,09$ ), consumo de frutas ( $p=0,5$ ), cítricos ( $p=0,9$ ), carnes rojas ( $p=0,4$ ), consumo de café ( $p=0,2$ ), edulcorantes artificiales ( $p=0,07$ ) y vitaminas ( $p=0,09$ ). Únicamente se observó diferencia significativa con la variable consumo de carnes blancas, presentándose el mayor consumo en el grupo sin riesgo ocupacional de exposición, 18 trabajadoras, en tanto que en el grupo con riesgo ocupacional de exposición fueron 10 trabajadoras ( $p=0,02$ ).

Con respecto a los efectos citogenéticos, se encontraron diferencias significativas al comparar la condición de riesgo ocupacional de exposición y la presencia de micronúcleos ( $p=0,02$ ) y la

distribución de aberraciones cromosómicas en las trabajadoras ( $p=0,02$ ). Con relación a los grupos de edad y los efectos genotóxicos no se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ).

El cuadro 4 muestra la frecuencia de aberraciones cromosómicas basales y describe los diferentes tipos de aberraciones tanto cromosómicas como cromatídicas encontradas en los linfocitos de las trabajadoras con la prueba de reto después de la irradiación con rayos gamma. Igualmente, muestra que las trabajadoras del grupo de mujeres con riesgo ocupacional de exposición presentaron un promedio mayor que las trabajadoras sin riesgo ocupacional en el porcentaje de células aberrantes, en la frecuencia de aberraciones cromosómicas y en el rompimiento cromatídico por cada 100 células en metafase analizadas; sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre la condición de exposición y la presencia de aberraciones cromosómicas ( $p=0,8$ ), tipo cromosómico ( $p=1,0$ ) y tipo cromatídico ( $p=0,5$ ) encontradas en las trabajadoras después de la irradiación de los cultivos de linfocitos con 100 cGy de rayos gamma por medio de la técnica de la prueba de reto.

**Cuadro 3.** Características de las trabajadoras por grupo de riesgo ocupacional de exposición a plaguicidas en cultivos de flores de Bogotá, 2000.

Característica	Variable	Con riesgo de exposición		Sin riesgo de exposición		p
		%	n	%	n	
Tipo de ropa de trabajo	uniforme	21	67,8	2	6,7	<0,01
	ropa de calle	0	0	18	60,0	
	bata	10	32,2	10	33,3	
Frecuencia de cambio de ropa	diario	3	9,7	17	56,7	<0,01
	2 veces/semana	2	87,1	11	36,7	
	1 vez/semana	1	3,2	2	6,6	
Lava la ropa mezclada con el resto de ropa	sí	7	22,6	24	80,0	<0,01
	no	24	77,4	6	20,0	
Uso de guantes	sí	29	93,5	1	3,3	<0,01
	no	2	6,5	29	96,6	
Uso de respirador	sí	13	41,9	0	0	<0,01
	no	18	58,1	30	100,0	
Tipo de calzado	botas de caucho	8	25,8	1	3,3	0,02
	botas de cuero	4	12,9	2	6,7	
	zapatos de cuero	19	61,3	27	90,0	

**Fuente:** historia clínica y ocupacional del trabajador, Laboratorio Salud Ambiental, INS.

**Cuadro 4.** Frecuencia de aberraciones cromosómicas y anomalías detectadas con la prueba de reto después de la exposición a rayos gamma de los linfocitos de las trabajadoras de cultivos de flores de Bogotá, 2000.

Rayos gamma	Población	No. células examinadas	% células aberrantes	Fr	Di	An	Min	RC
0 cGy	con riesgo de exposición	3.100	0,68	0,29	0,0	0,03	0,03	0,32
	sin riesgo de exposición	3.000	0,23	0,07	0,0	0,0	0,0	0,17
100 cGy	con riesgo de exposición	3.100	7,50	4,1	1,4	0,6	1,0	0,7
	sin riesgo de exposición	3.000	6,10	2,7	1,4	1,1	0,4	0,4

Fr: fragmentos en 100 células; Di: dicéntricos en 100 células; A: anillos en 100 células; *Min*: *minutes* en 100 células; RC: rupturas cromatídicas

Aberraciones tipo cromosómico,  $p=1,0$ ; aberraciones tipo cromatídico,  $p=0,5$

**Fuente:** registros de análisis citogenético, Laboratorio de Genética-Salud Pública, INS.

## Discusión

La floricultura se desarrolló en Colombia hacia la década de los años sesenta y fue planeada como una industria de exportación, ocupando el segundo lugar en el mundo entre los países con mayores exportaciones de flores cortadas. Las características demográficas de esta población se centran en que son una fuerza laboral joven, la mayoría de las personas tiene entre 20 y 40 años de edad y está conformada principalmente por mujeres (5).

Los resultados del análisis citogenético en la población estudiada mostró un valor promedio para micronúcleos de 2,1 en 500 células binucleadas observadas, el cual se encuentra dentro de los rangos descritos en la literatura en población sana en estudios realizados en países como Yugoslavia y Australia (9,16); como frecuencia de aberraciones cromosómicas, se halló un valor promedio de 0,48% de células con aberraciones por persona. Con la prueba de reto, se observó un promedio de 7,4% de células con aberraciones cromosómicas post-radiación, valores que son inferiores a lo informado en la literatura en poblaciones expuestas a diferentes tóxicos ambientales en lugares como Texas, Australia, Hungría y California (13,16,19,21,22). Al realizar comparaciones para los resultados de las pruebas citogenéticas para MN y AC, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre

la condición de riesgo ocupacional de exposición y la presencia de MN ( $p=0,02$ ) y AC ( $p=0,02$ ); sin embargo, estos resultados se encuentran dentro de los valores de referencia informados en la literatura, siendo mayor en las trabajadoras expuestas (2,9,13,14,19,23,24).

La prueba de reto es más sensible que la de aberraciones cromosómicas estándar para detectar los efectos biológicos por exposición a tóxicos (14), ya que es un indicador de deficiencias en la reparación del ADN. Debido a que las células expuestas a agentes químicos son más susceptibles a la inducción de daño por acción de otras fuentes exógenas o endógenas, pues son incapaces de reparar este daño; al emplear esta prueba no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p=0,8$ ), después de la radiación de los cultivos de linfocitos con 100 cGy de rayos gamma.

Aunque varios estudios han demostrado efectos citogenéticos por exposición a plaguicidas (2,9-11,12,19,22-24), los resultados hallados en esta investigación se encuentran dentro de rangos normales para la población general y por debajo de los datos informados para poblaciones expuestas a diferentes tóxicos ambientales, incluidos los plaguicidas (9,14,16,21,25). Esto podría sugerir que la población con riesgo ocupacional bajo estudio estuvo expuesta a muy bajas concentraciones de plaguicidas (3,9,26),



que los elementos de protección personal suministrados fueron los adecuados para el tipo de oficio desempeñado (considerado de mediana exposición) y que se contaba con mejores medidas de higiene y seguridad industrial para las trabajadoras que tenían contacto directo con plaguicidas en sus procesos laborales. Igualmente, se pudo observar que los plaguicidas informados por las trabajadoras a través de la encuesta eran, en su mayoría (41,2%), categoría toxicológica III, medianamente tóxicos, según la clasificación suministrada por el Ministerio de la Protección Social de Colombia (8).

Teniendo en cuenta la capacidad mutagénica de estas sustancias (categoría toxicológica III), según clasificación de acuerdo con los criterios de la Comunidad Económica Europea (27), se sospecha que estas sustancias pueden tener un efecto mutagénico pero no se dispone de información suficiente para demostrar de manera definitiva la alteración genética; la segunda categoría fue la de los plaguicidas ligeramente tóxicos y altamente tóxicos, con un mismo porcentaje (23,5%); este hallazgo, comparado con el estudio realizado en 1997 por el Instituto Nacional de Salud (7), en el que se encontró que el mayor porcentaje de plaguicidas empleado en el sector floricultor era de categoría medianamente tóxica (41%), seguido por los extremadamente tóxicos (30,4%), demuestra que en este sector se están utilizando actualmente plaguicidas de menor categoría toxicológica y que se han implementado alternativas diferentes a estos químicos, como el control biológico y biorracional para el manejo de plagas y enfermedades en los cultivos de flores.

Sin embargo, estos hallazgos requieren ser confirmados por estudios de tipo analítico que evalúen la exposición a través de la monitorización ambiental de las condiciones de trabajo con mayor número de biomarcadores de exposición y otras pruebas citogenéticas para detectar pequeñas diferencias entre grupos de exposición e investigar las actividades genotóxicas de los plaguicidas usados en los cultivos de flores. Por tanto, se recomienda el uso de la prueba de reto y de la técnica de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) en estudios posteriores. Además, mediante la

utilización de otras pruebas más específicas es posible detectar problemas puntuales de reparación del ADN (*host cell reactivation assay*) o la elaboración de estudios de polimorfismo genético para identificar individuos susceptibles de desarrollar a largo plazo problemas de salud por exposición a plaguicidas.

Entre los agentes que pudieran directa o indirectamente tener un papel importante en la inducción de alteraciones citogenéticas (22), se pudo observar que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre la condición de exposición, edad y presencia de alteraciones citogenéticas. Se encontró un porcentaje muy bajo de trabajadoras que empleaban productos como hidrocarburos, blanqueadores y plaguicidas de uso doméstico en sus labores diarias y del hogar, exposición a medicamentos citotóxicos y radiación diagnóstica, que podrían actuar como factores de confusión en los resultados de alteraciones citogenéticas (12,18,22,28).

Con relación a los hábitos alimentarios se observó una dieta muy similar entre las trabajadoras con riesgo de exposición y las que no tenían riesgo de exposición; se encontró un porcentaje muy bajo de trabajadoras que usaba edulcorantes artificiales y 75,4% que consumía café a diario, siendo mayor en el grupo de mujeres sin riesgo; sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre estas variables por grupo de exposición y la presencia de MN y AC.

Otras variables a tener en cuenta son los estilos de vida como el hábito de fumar y el consumo de licor, los cuales pudieran ser factores de confusión en la presencia de alteraciones citogenéticas; en estas trabajadoras hubo diferencias significativas entre la condición de exposición y fumar ( $p=0,01$ ), ya que se encontró que en el grupo sin riesgo ocupacional de exposición es mayor el consumo de cigarrillos. Al revisar la presencia de MN y AC y la condición de fumar no se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ); lo mismo se encontró para el consumo de licor ( $p>0,05$ ). No se encontró influencia del hábito de fumar sobre la frecuencia de células aberrantes, pero hubo un incremento en el número de aberraciones cromosómicas y micronúcleos en el grupo con riesgo de exposición ocupacional a plaguicidas.

Un alto porcentaje (51%) de trabajadoras tomaba vitaminas, lo que puede ayudar a prevenir el aumento de alteraciones citogenéticas en estas mujeres (18,22); en este estudio no se observaron diferencias significativas entre el grupo de exposición y la presencia o no de MN y AC con esta variable.

Con relación a las medidas de higiene y seguridad, la mayoría de las trabajadoras con poco uso de elementos de protección personal pertenece al grupo sin riesgo; informaron consumo de alimentos en el sitio de trabajo y lavado de la ropa de trabajo mezclada con el resto de ropa, pero observan mejores medidas de higiene como lavarse las manos antes de comer.

Los resultados de la actividad de la acetilcolinesterasa obtenidos de la población estudiada se encontraron dentro de los valores de referencia de normalidad, lo que podría explicarse por el hecho de que en el momento de la toma de la muestra de sangre las trabajadoras no hubieran estado previamente expuestas a organofosforados (OF) y carbamatos (C), o de que esta prueba se realizó varios días después de la aplicación de estos plaguicidas; considerando que la mayoría de éstos se hidrolizan dentro de las primeras 48 horas después de la exposición (29,30), su efecto no se reflejaría en la actividad de la colinesterasa. En posteriores estudios, para contar con la acetilcolinesterasa como un buen biomarcador de exposición, debe controlarse la toma de la muestra máximo tres días después de la exposición a este tipo de plaguicidas (30,31).

Entre las limitaciones del estudio está la forma de recolección de los datos, específicamente respecto al nombre de los plaguicidas, ya que se basó en la información de las trabajadoras, lo que implica un posible sesgo de memoria. Igualmente, el instrumento diseñado para la recolección de la información no contempló la pregunta sobre cuándo fue la última vez que aplicaron plaguicidas OF y C, lo que se hubiera podido correlacionar con la actividad de la acetilcolinesterasa como biomarcador de exposición a ese tipo de plaguicidas. Otra de las limitaciones de este tipo de estudios de monitorización citogenética es la dificultad de contar con una muestra de trabajadores participantes más grande, pues

requiere mucho tiempo, dado el tipo de procedimientos de laboratorio, que, además, son muy costosos (22).

En cuanto a las condiciones de salud y seguridad en el trabajo, los autores estamos de acuerdo en que el equipo de protección específica frente a la exposición a plaguicidas es necesario para la prevención de los accidentes de trabajo y de las intoxicaciones agudas, pero no es suficiente para proteger a los trabajadores de exposiciones crónicas y lesiones mutagénicas. A pesar de que la mayoría de plaguicidas usados pertenecen a la categoría toxicológica III y IV, responsables de efectos a largo plazo, no se les puede señalar como inocuos para la salud humana (32); por tanto, es necesario reconocer que siguen siendo indispensables más estudios de seguimiento a largo plazo donde converjan los enfoques toxicológicos, epidemiológicos, clínicos, mutagénicos y carcinogénicos.

La seguridad en el trabajo no se alcanzará para los trabajadores si no hay un cambio en las condiciones generales de trabajo y en la forma de control del problema de plagas y enfermedades en los cultivos de flores, que priorice formas de control no químico, de menor riesgo para la salud humana; en la actualidad, es más fácil optar por una alternativa de una agricultura sin el uso de agroquímicos.

Es importante que las empresas del sector floricultor fortalezcan los programas de salud ocupacional para orientar a los trabajadores sobre el uso y manejo seguro de plaguicidas y las medidas de higiene y seguridad industrial que deben seguir y para establecer programas de vigilancia epidemiológica con el fin de prevenir cualquier evento que comprometa la salud de los trabajadores.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen a las trabajadoras y directivos de las empresas floricultoras participantes en el estudio, a la Asociación Colombiana de Exportadores de Flores (Asocolflores) por el apoyo logístico y a Gabriel Carrasquilla por sus valiosos aportes a la investigación. Igualmente, al Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología,

Francisco José de Caldas, Colciencias, por el cofinanciamiento de la investigación (código 2104-04-014-97; contrato 229-97).

### Referencias

1. **Ministerio de Salud.** Los plaguicidas en América Latina. Salud, ambiente y desarrollo. Segunda edición. Santa Fe de Bogotá, Colombia: Ministerio de Salud; 1994. p.215-27.
2. **Anwar WA.** Biomarkers of human exposure to pesticides. *Environ Health Persp* 1997;105:801-6.
3. **Hoyos LS, Carvajal S, Solano L, Rodríguez J, Orozco L, López Y, et al.** Cytogenetic monitoring of farmers exposed to pesticides in Colombia. *Environ Health Perspect* 1996;104:535-8.
4. **De León J.** Situación de las floricultoras con exposición crónica a mezclas de plaguicidas en Morelos, México. *Bol Rapam México* 1997;19-20:10.
5. **Amado F, Carvallo B, Londoño JL, Restrepo H, Silva JI.** Floricultura discromatopsia ocupacional. Prevalencia de discromatopsia adquirida y exposición a plaguicidas y a radiación ultravioleta solar. Santa Fe de Bogotá: Universidad de Antioquia, Facultad Nacional de Salud Pública; Seguro Social, Protección Laboral, Administradora de Riesgos Profesionales; 1997. p.1-59.
6. **Restrepo M, Muñoz N, Day NE, Parra JE, Romero L, Nguyen-Dinh X.** Prevalence of adverse reproductive outcomes in a population occupationally exposed to pesticides in Colombia. *Scand J Work Environ Health* 1990;16:232-8.
7. **Varona M, De La Hoz F, Peña G, Cárdenas O.** Seguimiento de una cohorte de mujeres trabajadoras en cultivos de flores de la Sabana de Bogotá. *Biomédica* 1998;18:30-6.
8. **Ministerio de Salud.** Disposiciones sanitarias sobre uso y manejo de plaguicidas. Decreto 1843 del 22 de julio de 1991. Bogotá: Ministerio de Salud; 1991. p.1-69.
9. **Joksic G, Vidakovic A, Spasojevic-Tisma V.** Cytogenetic monitoring of pesticide sprayers. *Environ Res* 1997;75:113-8.
10. **Laurent C, Jadot P, Chabut C.** Unexpected decrease in cytogenetic biomarkers frequencies observed after increased exposure to organophosphorus pesticides in a production plant. *Int Arch Occup Environ Health* 1996;68:399-404.
11. **Lieberman AL, Craren MR, Lewis HA, Nemenzo JH.** Genotoxicity from domestic use of organophosphate pesticides. *JOEM* 1998;40:954-7.
12. **Bolognesi C, Panini M, Merlo F, Bonassi S.** Frequency of micronuclei in lymphocytes from a group of floriculturists exposed to pesticides. *J Toxicol Environ Health* 1993;40:405-11.
13. **Hallberg LM, Bechtold WE, Grady J, Legator MS, Au WW.** Abnormal DNA repair activities in lymphocytes of workers exposed to 1,3-butadine. *Mut Res* 1997;383:213-21.
14. **Au WW, Wilkinson GS, Tyring SK, Legator MS, El Zein R, Hallberg L, et al.** Monitoring populations for DNA repair deficiency and for cancer susceptibility. *Environ Health Persp* 1996;104:579-84.
15. **Silva E, Crane C, Bermúdez A, Bueno ML, Pedraza X, Giraldo A.** Citogenética humana. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 1991. p.1-39.
16. **Fenech M, Morley A.** Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mut Res* 1985;147:29-36.
17. **Fenech M, Neville S.** Conversion of excision-repairable DNA lesions to micronuclei within one cell cycle in human lymphocytes. *Env Mol Mut* 1992;19:27-36.
18. **Au W, Walker DM, Ward JB, Whorton E, Legator MS, Singh V.** Factors contributing to chromosome damage in lymphocytes of cigarette smokers. *Mut Res* 1991;260:137-44.
19. **Au WW, Bechtold WE, Whorton EB, Legator MS.** Chromosome aberrations and response to gamma-ray challenge in lymphocytes of workers exposed to 1,3-butadine. *Mut Res* 1995;334:125-30.
20. **Vallejo MC.** Toxicología general y análisis toxicológico. Bogotá: Editorial Consejo Colombiano de Seguridad; 1989. p.288-92.
21. **Gundy S, Varga LP.** Chromosomal aberrations in healthy persons. *Mut Res* 1983;120:187-91.
22. **Carrano AV, Natarajan AT.** Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mut Res* 1988;204:379-406.
23. **Palacios ME, Paz P, Hernández S, Mendoza L.** Sintomatología persistente en trabajadores industrialmente expuestos a plaguicidas organofosforados. *Salud Pública de México* 1999;41:55-61.
24. **Garry VF, Griffith J, Danzl TJ, Nelson RL, Whorton EB, Kruger LA, et al.** Human genotoxicity: pesticide application and phosphine. *Science* 1989;246:251-4.
25. **Hallberg LM, El Zein R, Grossman L, Au WW.** Measurement of DNA repair deficiency in workers exposed to benzene. *Environ Health Persp* 1996;104:529-34.
26. **Au WW, Rodríguez G, Rocco C, Legator MS, Wilkinson GS.** Chromosome damage and DNA repair response in lymphocytes of women who had children with neural tube defects. *Mut Res* 1996;361:17-21.
27. **Mucci N, Rossi L.** Definizioni e allocazioni di cancerogenesi, mutagenesi e teratogenesi da parte di alcune agenzie ed istituzioni nazionali ed internazionali. *Med Lav* 1992;83:211-43.

- 28. Obe G, Göbel D, Engeln H, Herha J, Natarajan AT.** Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of alcoholics. *Mut Res* 1980;73:377-86.
- 29. Morgan DP.** Diagnóstico y tratamiento de los envenenamientos por plaguicidas. Cuarta edición. Washington, D.C.: Health Effects Division, Office of Pesticide Programs, United States Environmental Protection Agency; 1989. p.1-11.
- 30. Henao S, Corey G.** Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas. México: Editorial Clemente Aguilar; 1991. p.17-30.
- 31. Wilson BW, Sanborn JR, O'Malley M, Henderson JD, Billitti JR.** Monitoring the pesticide-exposed workers. *Occupational Med* 1997;12:347-61.
- 32. De León J.** Daños genéticos a floricultoras con exposición crónica a mezclas de plaguicidas en Morelos, México. *Bol Rapam México* 1998;21-22:2-4.