



**Efectos genotóxicos en población expuesta a mezclas de plaguicidas en los
municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu
(Caldas), Colombia, 2022**

Investigador principal

Amayda Cepeda Hilarion

**Trabajo presentado como requisito para optar por el
título de MAESTRIA EN SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO
Universidad del Rosario**

Bogotá, 2022

**Efectos genotóxicos en población expuesta a mezclas de plaguicidas en los
municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu
(Caldas), Colombia, 2022**

Estudiante(s):

Amayda Cepeda Hilarión

Asesor temático:

Dra. Marcela Varona Uribe

Asesor metodológico:

Dr. Daniel Buitrago

**MAESTRIA EN SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO
Universidad del Rosario**

Bogotá D.C., 2022

Efectos genotóxicos en población expuesta a mezclas de plaguicidas en los municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aránzazu (Caldas), Colombia, 2022

Introducción: En Colombia hay extensos recursos en tierras y subsuelo usados para actividad minera y agrícola como parte de su economía, empleando sustancias para extraer un producto o proteger un cultivo. Esto puede afectar la salud de la población desencadenando efectos nocivos en diversos sistemas orgánicos e inclusive en su material genético. Las investigaciones existentes son más dadas a estudiar los principios activos de las sustancias individuales por ello en la literatura no hay muchos datos sobre los efectos genotóxicos por mezclas de sustancias químicas en humanos considerando que es importante debido a que su uso es habitual en dichas actividades. **Objetivo:** determinar la frecuencia de marcadores de inestabilidad genómica en población ambiental y ocupacionalmente expuesta a mezclas de plaguicidas en Montelíbano (Córdoba), Aranzazu (Caldas) y Nechí (Córdoba). **Materiales y métodos:** se realizó un estudio descriptivo transversal con componente analítico en un grupo de 306 personas (ocupacional y ambientalmente expuestas a mezclas de plaguicidas) procedentes de los tres municipios. Se recopilaron datos socio – demográficos, antecedentes laborales, exposición ambiental y hábitos alimenticios en la población estudio. Se realizaron niveles de plaguicidas en sangre a todos los participantes y marcadores de inestabilidad genómica a 83 personas del total de los 3 municipios. Se realizó descripción univariada de las características mediante frecuencias absolutas y relativas, medidas de tendencia central y dispersión y se buscaron asociaciones entre las variables (prueba de la U de Mann-Whitney y test de chi-cuadrado (X^2)). Resultados: Se contó con una población de estudio de edades entre 19 años y 83 años, 78 (25.5%) eran del sexo femenino y 228 (74.5%) masculino, 100 (32.7%) personas trabajaban en minería (44% con oro y 56% níquel) y en actividades de agricultura 81 (26.5%) reportando el uso de 45 nombres comerciales de plaguicidas. Se encontró un promedio de micronúcleos de 3.75 (DE= 3,249) para la totalidad de los participantes, para la población ocupacionalmente expuesta fue de 4,51 (DE= 3,130) y para la ambientalmente expuesta de 2,65 (DE= 3,142) **Conclusión:** Se encontraron diferencias significativas respecto a la presencia de MN con relación a la exposición ocupacional y ambiental siendo más altas en los individuos con exposición ocupacional ($p=0,004$) y en los niveles de plaguicidas en sangre para el insecticida paraoxon etil ($p=0,036$). Llama la atención la

presencia de valores altos en sangre de Endosulfan considerando su alta toxicidad lo que le ha generado su prohibición en Colombia.

Palabras clave: Micronúcleos con Defecto Cromosómico, plaguicidas, metales pesados, contaminantes Ambientales, daño del ADN.

Introducción

En el mundo la economía es la base de las sociedades y para satisfacer sus necesidades han recurrido a procesos de producción que requieren de sustancias químicas que, aunque inicialmente se usan para lograr un bien o un servicio, terminan generando condiciones de riesgo en la salud de aquellas personas que están directa o indirectamente expuestas. Al ser un problema mundial, Colombia no es la excepción a ésta.

La contaminación por metales pesados y metaloides en recursos hídricos, suelos y aire plantea una de las más severas problemáticas que comprometen la seguridad alimentaria y salud pública a nivel global y local [1]. Además, concomitante a este proceso de contaminación se suma el uso y la variedad de plaguicidas que a nivel mundial que se ha incrementado dramáticamente a la par del aumento de la población y de la producción agrícola [2]. Se requiere de un seguimiento del comportamiento de estos elementos y agentes químicos en la salud humana por los efectos que el uso de estas sustancias puede generar, que incluye la capacidad de ocasionar daño al material genético con sus consecuentes efectos biológicos conocido con el término de genotoxicidad [3]. Por lo expuesto, se han desarrollado pruebas para establecer si hay daño genético o evidenciar si hay compuestos genotóxicos, uno de ellos es el test de citoma de micronúcleos (MN) con bloqueo de citocinesis que se desarrolló como una prueba para evaluar el daño del ADN, la citostasis y la citotoxicidad [3].

En lo que respecta a plaguicidas la literatura Internacional reporta que el potencial genotóxico es un factor de riesgo primario para efectos a largo plazo como los cancerígenos o reproductivos y que algunos plaguicidas se han considerado mutágenos químicos potenciales. Se han reportado también asociaciones entre exposición a plaguicidas y desarrollo de cáncer en estudios en humanos para productos químicos como herbicidas de fenoxiácidos, Ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), lindano, metoxicloro, toxafeno y

varios organofosforados [4]. El daño genético asociado con plaguicidas ocurre en poblaciones humanas sujetas a altos niveles de exposición y el monitoreo biológico proporciona una herramienta útil para estimar el riesgo genético derivado de una exposición integrada a una mezcla compleja de sustancias químicas [4].

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud cada año entre 500,000 y 1 millón de personas se intoxican con plaguicidas y entre 5,000 y 20,000 mueren. Al menos la mitad de los intoxicados y el 75% de los que fallecen son trabajadores agrícolas, el resto se debe a envenenamientos por consumo de alimentos contaminados [5]. La Red Internacional de Acción Contra el Uso de Plaguicidas informa que los países en vías de desarrollo utilizan la quinta parte del consumo mundial de estos compuestos y se estima que la verdadera cifra de intoxicaciones por dichas sustancias asciende a 25 millones de casos, siendo el 99% de las defunciones atribuibles a los plaguicidas en estos países [5].

En lo referente a metales pesados en exposiciones ocupacionales, éstos se han asociado con una serie de efectos toxicológicos sistémicos graves que involucra el sistema nervioso, los órganos hematopoyéticos, pulmón y riñón, entre otros [6]. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha clasificado cadmio y compuestos de cadmio como cancerígenos a los humanos, y compuestos de plomo como posiblemente cancerígeno para los seres humanos. Igualmente, hay evidencia entre daño cromosómico y niveles de plomo en sangre, realizados sobre población ocupacionalmente expuesta [7,8]. También hay estudios que han demostrado que la incidencia de MN en linfocitos periféricos de trabajadores expuestos a Pb y Cd fue más del doble que en los controles, lo que indica un riesgo potencial para la salud de las poblaciones trabajadoras [6].

De otros metales pesados como el Mercurio, Rimache JA y colaboradores en un estudio realizado en Perú, refiere que de 83 trabajadores estudiados con un tiempo entre 12.1 ± 6.7 años de exposición, evidencio que el 15% de las personas con exposición laboral presentaban micronúcleos en células de epitelio bucal concluyendo que reflejan daño genotóxico asociado a la exposición laboral por mercurio utilizado en las actividades de minería artesanal [9]. Respecto al arsénico, informes recientes en grandes poblaciones en Bengala Occidental, Bangladesh, Tailandia, Mongolia Interior, Taiwán, China, México, Argentina, Chile, Finlandia y Hungría que han estado expuestas a altas concentraciones de arsénico en su agua potable, presentan diversas condiciones clínico-patológicas incluyendo

enfermedad vascular periférica y cardiovascular, anomalías del desarrollo, trastornos, neurológicos y neuroconductuales, diabetes, hipoacusia, fibrosis portal, trastornos hematológicos (anemia, leucopenia y eosinofilia) y carcinoma [10] y en lo referente al níquel hay datos que describen que es posible que el $NiCl_2$ cause daño indirecto al ADN por la producción de ROS (especies reactivas de oxígeno) y requiera una exposición crónica más prolongada [11].

Otro estudio realizado por Benedetti D y colaboradores en 137 trabajadores agrícolas de soja expuestos a diferentes tipos de plaguicidas comparado con un grupo de referencia no expuesto (83), encontró que los individuos expuestos ocupacionalmente mostraron hipermetilación genómica de ADN, que se correlacionó con la frecuencia de los micronúcleos y que el daño del ADN podría ser una consecuencia de la exposición a una mezcla compleja de sustancias químicas generando daño oxidativo. Estos datos indican que la inestabilidad genética persistente asociada con la hipermetilación del ADN en los trabajadores con una exposición prolongada a un nivel bajo de mezclas de plaguicidas puede ser fundamental para el desarrollo de efectos adversos para la salud como el cáncer [12]. Hay otros estudios que refieren que la evaluación y caracterización de los contaminantes del suelo es muy difícil establecer debido a la complejidad de la matriz del suelo, a la poca comprensión sobre el destino y los efectos de combinaciones químicas como plaguicidas y mezclas de metales en los sistemas terrestres y la escasez de datos toxicológicos sobre mezclas de contaminantes [13].

A nivel de Colombia estudios como el de Varona M y colaboradores donde se evaluaron los efectos genotóxicos en 31 trabajadoras con riesgo ocupacional de exposición a plaguicidas y 30 sin riesgo, reportó 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 celular (challenge assay) la cual es un indicador indirecto de la capacidad de reparación del ADN después de que las células son expuestas a agentes que pueden lesionar el genoma, las diferencias no fueron significativas ($p>0,1$) [14]. Otro estudio descriptivo de corte transversal realizado por Clelia RC y colaboradores con 61 participantes de población expuesta y 51 de población control en la región de La Mojana-Colombia, en donde evaluaron los efectos genotóxicos y su relación con la concentración de metales pesados (mercurio, cadmio y plomo), encontró asociaciones significativas ($p<0,05$) entre la presencia de mercurio y de cadmio, y el daño

en el ADN [15]. Madrid G y colaboradores realizaron un estudio descriptivo de corte transversal en 40 habitantes de la cuenca del río San Jorge con un grupo control de 10 personas en Montería (Córdoba) en el que determinaron la frecuencia de aparición de micronúcleos (FAM) Las concentraciones medias de Hg en sangre de los habitantes de Bocas de Uré fueron de 12.9 ± 1.24 , en Puerto Córdoba de 18.08 ± 2.90 y en mina el Alacrán de 20.32 ± 8.45 , excediendo el límite permisible ($<5.8\mu\text{g/L}$) establecido por la EPA y se encontró daño en el ADN (FAM=0.18-2.56) en sangre de habitantes de la mina el Alacrán. Estos resultados sugieren que los daños genotóxicos registrados, pueden estar asociados a la actividad minera como consecuencia de la liberación de metales pesados [16].

Teniendo en cuenta lo descrito, el presente estudio determinará la frecuencia de marcadores de inestabilidad genómica y su relación con la exposición a mezclas de plaguicidas en los municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu (Caldas). Los hallazgos de este estudio aportarán conocimiento que permita caracterizar la situación actual de la mezcla a sustancias químicas y la presencia de marcadores de inestabilidad genómica.

Materiales y Métodos

Este estudio hace parte del Programa de Investigación en Salud Ambiental, liderado por la Universidad Industrial de Santander y financiando por Minciencias mediante contrato 905 de 2019. Se realizó un estudio descriptivo transversal con componente analítico y se calculó un tamaño de muestra mínimo para estudios descriptivos en el aplicativo Open Epi. Se tomó una muestra no probabilística de 100 individuos para cada uno de los municipios incluidos en el estudio, el 50% de la muestra fue de personas ocupacionalmente expuestas y 50% ambientalmente expuestas a plaguicidas procedentes de zonas urbanas y rurales.

Se entiende por población ocupacionalmente expuesta la dedicada a la actividad agrícola, quienes por su trabajo manipulan plaguicidas, por lo que su exposición es directa (población trabajadora) y la ambientalmente expuesta es la que se expone de forma indirecta a través matrices ambientales como son aire, agua, suelos y alimento (población general). La frecuencia esperada del factor de estudio fue del 30.3%, que corresponde a la proporción de individuos ambientalmente expuestos con niveles de mercurio en orina que superaron los límites permisibles, según los estudios llevado a cabo por parte de MinSalud, en los

Departamentos de Bolívar, Sucre, Antioquía y Córdoba. Se tomó el mercurio como químico de referencia, dada la importancia de este como contaminante ambiental en Colombia (MinSalud, 2018). El error aceptable definido por el equipo de investigación fue del 5% con un índice de confianza del 95%.

Dentro de los criterios de inclusión estuvieron los adultos de cualquier edad, sexo, grupo étnico y mujeres embarazadas, la población expuesta ocupacionalmente que llevaran al menos seis meses utilizando plaguicidas, la población expuesta ambientalmente a mezclas de plaguicidas que hayan vivido al menos seis meses en la zona tanto de áreas urbanas como rurales de los municipios de estudio. Se excluyeron los individuos que hubieran presentado alguna enfermedad neurológica como epilepsia, Parkinson, evento cerebrovascular o trastornos mentales como esquizofrenia o alteración bipolar y los que no firmaran el consentimiento informado.

Con el fin de recolectar la información, se aplicó a la totalidad de los individuos seleccionados tanto expuestos ocupacionales como los ambientales, una encuesta (formularios) adaptada del instrumento de evaluación en salud del Global Mercury Project (Veiga M, 2004), que contenía preguntas para evaluar la presencia de algunos síntomas relacionados con el efecto tóxico de los plaguicidas (historia clínica), además de las variables sociales y demográficas (edad, sexo, escolaridad, afiliación al SGSSS), laborales (oficio actual, antecedente de trabajo con plaguicidas, frecuencia de uso de sustancias químicas, medidas de higiene), ambientales (residencia en área de influencia agrícola), hábitos alimenticios (consumo de agua y pescado), toxicológicas (condición de fumador y consumo de alcohol) y biológicas (determinación de micronúcleos y de niveles de plaguicidas en sangre como indicadores de dosis interna y de efecto).

Antes de iniciar la fase de recolección de la información se dio una inducción al personal encargado de diligenciar la encuesta para cada uno de los individuos seleccionados en la muestra. Esta inducción estuvo a cargo del grupo investigador. En lo referente a los métodos para el control de la calidad de los datos y sesgos considerados para la investigación, se estableció en primer lugar el sesgo de selección, el cual implementó como estrategia de control la definición de criterios de inclusión y exclusión claros y el cálculo de tamaño de muestra con una confianza del 95%. Sobre el sesgo de información del observador, se incluyó una capacitación y estandarización de 8 horas en la aplicación de

las entrevistas, toma y almacenamiento de muestras biológicas y posteriormente en campo se realizó un refuerzo de la capacitación y el entrenamiento de encuestadores. Igualmente, alrededor del sesgo de información de instrumentos, se presentaron como estrategia de control, el ensayo piloto de formulario y prueba piloto del formato de recolección de información, el uso de reactivos certificados y el análisis de plaguicidas con métodos estandarizados y documentados.

Desde el sesgo de información del observado (sesgo de memoria) se establecieron como estrategias aplicar una encuesta estandarizada a todas las personas, lo que implicó el entrenamiento a encuestadores del estudio. Con respecto al sesgo de información, se realizó una prueba piloto para estandarizar instrumentos y problemas logísticos, ajustados antes del inicio del estudio y por último, para el sesgo de confusión, se determinó la identificación de estos en fase de planeación y en el análisis estadístico se hizo su control.

A cada individuo se le proporcionó una hoja de consentimiento, la cual tuvieron que firmar antes de contestar las preguntas de las encuestas individuales y de la toma de muestras biológicas. Previo al inicio de la recolección de la información y de las muestras, se informó a los individuos los objetivos y el tipo de estudio que conllevó la investigación, comprendiendo la importancia y beneficios que representaría su participación, a quienes se les entregó posteriormente los resultados de las pruebas paraclínicas, cuyos datos fueron tratados con total confidencialidad por el grupo investigador.

Se le tomó una muestra de 10 ml de sangre por venopunción en tubos con EDTA a cada participante, para determinación de los plaguicidas de interés (organofosforados (paration, metilparation, malatión), carbamatos (aldicarb, propoxur y carbofuran) y organoclorados (endosulfan y otros) y para determinar la presencia de marcadores de inestabilidad genómica a través de test de citoma de micronúcleos (MN) con bloqueo de citocinesis descrita por Fenech (2007). La toma de estas muestras estuvo a cargo de los médicos/bacteriólogos/enfermeros y otros profesionales de salud que participaron en el estudio. Las determinaciones de plaguicidas se realizaron a través por espectrofotometría de absorción atómica por vapor frío (CVAAS) y cromatografía de gases de alta resolución con detector de captura de electrones (HRGC/ECD). Una vez procesadas, los resultados se registraron en la respectiva encuesta de cada individuo. Cabe destacar que los niveles obtenidos para plaguicidas en sangre fueron comparados con los reportados por la

Comisión de Biomonitorio Humano de Alemania (Apel, Angerer, Wilhelm, & Kolossa-Gehring, 2017) y con los valores de la Asociación de Higienista Industriales de Estados Unidos (ACGIH. 2022 TLVs and BEIs). En caso que no se reportarán los valores límites permisibles en las bases citadas, todos los valores que se encontraron en las muestras fueron considerados como positivos.

Con el fin de contar con un adecuado control de datos se estableció una definición clara de criterios de exclusión e inclusión y la inferencia de los resultados únicamente se realizó a los sujetos incluidos en el estudio. Se hizo una capacitación y estandarización al equipo de trabajo de campo en aplicación de entrevistas, toma y almacenamiento de muestras biológicas. Antes de dar inicio al trabajo de recolección de la información, se llevó a cabo una prueba piloto en un 10% del total de la muestra de individuos en los cuales se realizaron la prueba de formularios y se hicieron posteriormente los ajustes necesarios tanto de instrumentos como de tiempos y movimientos. Se aplicó el formulario a través de llamadas telefónicas, en la que participaron los investigadores del estudio capacitados para esta actividad. Los individuos incluidos en el estudio piloto no formaron parte de la población muestra seleccionada en la investigación. La base de datos fue construida en Excel 365 y la información fue analizada en SPSS v27.

Para el análisis de la información se utilizaron herramientas de la estadística descriptiva y se obtuvieron medidas de frecuencias absolutas, proporciones, tendencia central y dispersión según la escala y naturaleza de la variable a analizada. Concomitante, para las variables relacionadas con los marcadores de inestabilidad genómica se realizó la descripción estadística según la naturaleza del resultado (cuantitativas –prueba de la U de Mann-Whitney y para cualitativas el test de chi-cuadrado (X^2)). Ambas descripciones se realizaron de manera comparativa entre el grupo de expuestos (ambiental y ocupacionalmente). Cabe mencionar que, teniendo en cuenta la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud esta investigación se clasifica como de riesgo mínimo y el proyecto fue aprobado por el Comité de Ética y Metodologías de Investigación (CEMIN) del Instituto Nacional de Salud (INS), mediante acta CEMIN-23-2018.

Resultados

En el presente estudio participaron 306 personas cuyas edades oscilaron entre 19 años y 83 años de los cuales el 75% de ellos tuvieron 59 años o menos (media=48 años DE=14,629), con respecto al sexo 78 (25.5%) correspondieron a sexo femenino (9% expuestos ocupacionalmente y 92% ambientalmente) y 228 (74.5%) personas fueron de sexo masculino (75.9% expuestos ocupacionalmente y 24.1% ambientalmente), siendo su distribución poblacional por municipios de 103 (33.7%) personas de Aránzazu, 99 (32.4%) de Montelíbano y 104 (34%) de Nechí; siendo 152 (49.7%) personas de la cabecera municipal y 154 (50.3%) del área rural. Concomitante, se encontró que refirieron identificarse 13 (4.2%) personas como indígenas (Guayu, Montelibanes, Sotavento y Zenu); 71 (23.2%) personas como negro, mulato afrodescendiente o afrocolombiano y 222 (72.5%) como mestizos.

De la población estudiada se tuvo que 100 (32.7%) personas trabajaban en actividades relacionadas con la minería (44% en minería del oro y 56% con níquel) con un tiempo promedio de trabajo de 266,54 meses (rango: 3 – 666 meses), respecto a si la residencia estaba ubicada en zona minera 81 (26.5%) personas refirieron que sí. En cuanto al trabajo en actividades de agricultura 81 (26.5%) reportaron hacerlo describiendo el uso de 45 nombres comerciales de plaguicidas, con un tiempo promedio de 166,94 meses (rango:3 – 540 meses).

De las 81 (26.6%) personas que trabajaron en agricultura, 14.1 % (43) mencionaron usar plaguicidas de forma mensual, ocasional el 5.9 % (18) y semanal el 3.3 % (10); 77 participantes (25.2%) se exponen en promedio 6.5 horas El resto características sociodemográficas y laborales se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Características sociodemográficas y laborales de la población expuesta a mezclas de sustancias químicas en los municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu (Caldas), Colombia, 2022

<u>VARIABLE</u>	<u>CATEGORIA</u>	<u>n</u>	<u>%</u>	<u>VARIABLE</u>	<u>CATEGORIA</u>	<u>n</u>	<u>%</u>	
<u>TIPO USUARIO DE SGSSS</u>	1. Contributivo	175	57,2	<u>TRABAJA EN MINERIA</u>	SI	100	32,7	
	2. Subsidiado	125	40,8	<u>TIPO DE MINERIA</u>	1. Oro	44	44	
	3. No afiliado	5	1,6		3. Níquel	56	56	
	5. Indeterminado	1	0,3	<u>QUE METALES USA</u>	Mercurio	44	44	
<u>ESTADO CIVIL</u>	1. Casado	95	31,0		Níquel	56	56	
	2. Unido	137	44,8	<u>2 OPCION EN USO DE METALES</u>	aluminio	1	20	
	3. Separado	11	3,6		Cianuro	3	60	
	4. Viudo	7	2,3		Hierro	1	20	
	5. Soltero	56	18,3	<u>3 OPCION EN USO DE METALES</u>	Ferrocilicio	1	100	
<u>ESCOLARIDAD</u>	1. Analfabeto	20	6,5	<u>FRECUENCIA DE USO DE METALES PESADOS</u>	1. Diariamente	56	56	
	2. Primaria incompleta	48	15,7		2. Semanalmente	29	29	
	3. Primaria completa	42	13,7		3. Mensualmente	15	15	
	4. Secundaria incompleta	38	12,4	<u>RESIDENCIA ESTA UBICADA EN ZONA MINERA</u>	SI	18	17,8	
	5. Secundaria completa	61	19,9	<u>TRABAJA EN AGRICULTURA</u>	SI	81	26,5	
	6. Técnico incompleto	6	2,0	<u>SU CASA ESTA EN ZONA INDUSTRIAL</u>	SI	8	2,6	
	7. Técnico completo	56	18,3	<u>FRECUENCIA DE USO DE PLAGUICIDAS</u>	3. Mensualmente	43	14,1	
	8. Universitaria Completa	32	10,5		4. Ocasional	18	5,9	
	9. Universitaria Incompleta	3	1,0		2. Semanalmente	10	3,3	
<u>OFICIO ACTUAL</u>	Minería	95	31,0		1. Diariamente	4	1,3	
	Ninguno	68	22,2		6. Cada 15 días	4	1,3	
	Agricultura	67	21,9		5. Cada 2 meses	2	0,7	
	Administrativas	33	10,8	<u>ACTIVIDAD LABORAL PREVIA A LA ACTUAL</u>	Minería	20	6,5	
	Oficios varios	21	6,9		Agricultura	15	4,9	
	Minería y agricultura	6	2,0		Construcción	7	2,3	
	Mantenimiento	5	1,6		Administrador	6	2,0	
	Otras profesiones y otros	11	3,6		Oficios varios	6	2,0	
<u>VARIABLE</u>				<u>Media</u>	<u>D.E.</u>	<u>Min</u>	<u>Max</u>	<u>Sig.</u>
<u>EDAD</u>				47,68	14,629	19	83	0,000
<u>TIEMPO EN RESIDENCIA ACTUAL</u>				355,95	245,293	6	996	0,000
<u># PERSONAS EN EL HOGAR</u>				3,78	1,641	1	10	0,000
<u>TIEMPO EN EL OFICIO ACTUAL</u>				200,86	168,991	1	684	0,000

TIEMPO DE TRABAJO MINERIA	266,54	146,533	3	666	0,006
HORAS /DIA EXPUESTO A METALES	8,10	3,802	1	12	0,000
TIEMPO DE TRABAJANDO CON PLAGUICIDAS	166,94	148,232	3	540	0,000
HORAS/ DIA EXPUESTO A PLAGUICIDAS	6,55	2,257	1	11	0,002
MESES ACTIVIDAD LABORAL ANTERIOR	115,85	125,255	1	444	0,000

En cuanto a la primera opción de uso de plaguicidas, 13 (21%) refirieron que no saben el nombre del plaguicida que utilizaron, 8 (12.9%) emplean glifosato, 5 (8.1%) Tordon, los que usaron Cipermetrina y Paraquat fueron 4 (6.5%), Monocotrofox, Panser, Randall fueron 3 (4.8%) para cada uno respectivamente. Cabe mencionar que los individuos reportaron usar más de un plaguicida en sus actividades agrícolas (tabla 2).

Tabla 2. Plaguicidas usados por la población expuesta a mezclas de plaguicidas en los municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu (Caldas), Colombia, 2022

PRINCIPALES PLAGUICIDAS EMPLEADOS	GRUPO QUÍMICO	ORGANISMO QUE CONTROLAN	CATEGORIA TOXICOLOGIA SEGUN OMS 2020	IARC	1 opción		2 opción		3 opción	
					<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<u>Glifosato</u>	N-(fosfonometil) glicina	Herbicida	III (poco peligroso)	2A*	8	12.9	4	10.3	3	13.6
<u>Cipermetrina</u>	Piretroide	Insecticida	II (moderadamente peligroso)	3**	4	6.5	4	10.3	-	-
<u>Paraquat</u>	Bipiridilo	Herbicida	II (moderadamente peligroso)	3**	4	6.5	3	7.7	3	13.6
<u>Tordon</u>	Fenoxicarboxilicos	Herbicida	III (poco peligroso)	3**	5	8.1	-	-	2	9.1
<u>Randall</u>	N-(fosfonometil) glicina	Herbicida	III (poco peligroso)	2A*	3	4.8	3	7.7	-	-
<u>Malathion</u>	dietil (dimetoxitiofosforilto) succinato	Insecticida	III (poco peligroso)	2A*	2	3.2	3	7.7	1	4.5

* Probablemente carcinogénico para los seres humanos

** No clasificable como carcinogénico en humanos

Los promedios de plaguicidas en sangre fueron mayores en expuestos ocupacional que ambientalmente para los plaguicidas Hexaclorobenceno, Paraoxon (etil, metil), Paration etil, Propoxur, en lo referente al Cabofuran, Malathion, Aldicarb el promedio fue más alto en exposición ambiental. Además, paraoxon etil presento diferencia estadísticamente

significativa con predominio en exposición ocupacional y se reportó la presencia de valores altos de Endosulfan (betha, alpha y sulfato) dentro de las pruebas realizadas (tabla 3).

Tabla 3. – Niveles de plaguicidas en sangre en la población ocupacional y ambientalmente expuesta a mezclas de plaguicidas en los municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu (Caldas), Colombia, 2022

VARIABLE	EXPOSICIÓN	MEDIA	D.E.	MIN	MAX	Sig
Aldicarb sangre	ocupacional	0,03554	0,016201	0,008	0,067	0,707
	ambiental	0,03615	0,015754	0,009	0,068	
Endosulfan alpha sangre	ocupacional	2,57168	1,148741	0,504	4,484	0,155
	ambiental	2,38149	1,198244	0,519	4,480	
Endosulfan betha sangre (ppb)	ocupacional	2,64581	1,180760	0,531	4,487	0,180
	ambiental	2,45244	1,190029	0,607	4,492	
Endosulfan sulfato sangre (ppb)	ocupacional	1,04900	0,468057	0,209	1,800	0,809
	ambiental	1,06146	0,464281	0,264	1,794	
Malathion sangre (ppb)	ocupacional	0,02347	0,059540	0,001	0,750	0,102
	ambiental	0,03025	0,053910	0,001	0,500	
Hexaclorobenceno sangre (ppb)	ocupacional	0,29595	2,803966	0,013	37,260	0,514
	ambiental	0,07283	0,045524	0,013	0,250	
Paraoxon etil sangre (ppb)	ocupacional	0,03969	0,019539	0,008	0,150	0,036
	ambiental	0,03488	0,016596	0,008	0,065	
Paraoxon metil sangre (ppb)	ocupacional	0,03793	0,017393	0,008	0,067	0,193
	ambiental	0,03539	0,017517	0,008	0,067	
Paration etil sangre (ppb)	ocupacional	0,03775	0,017412	0,008	0,067	0,347
	ambiental	0,03583	0,017656	0,008	0,067	
Paration metil sangre (ppb)	ocupacional	0,03694	0,017440	0,008	0,067	0,675
	ambiental	0,03772	0,018004	0,008	0,067	
Propoxur sangre	ocupacional	0,03823	0,016953	0,008	0,068	0,993
	ambiental	0,03820	0,017661	0,008	0,067	
Carbofuran sangre	ocupacional	0,03802	0,017826	0,008	0,068	0,475
	ambiental	0,03935	0,016533	0,008	0,067	

* Prueba U de Mann-Whitney

En lo referente a las medidas de higiene y seguridad se obtuvo que el tipo de ropa que usaban para trabajar de las 172 (56.2%) personas que respondieron, 70 (40.7%) utilizaron

ropa de diario y 102 (59.3%) uniforme o ropa de trabajo, realizando cambio de ropa al terminar la jornada laboral 157 (91.8%) de ellas. Este cambio de la ropa, 141 (82%) lo hicieron diariamente, 19 (11%) 2 veces por semana y 10 (5.8%) lo realizaron 1 vez por semana. El lavado de ropa empleada para el trabajo lo realizaron 137 (79.7%) personas en casa, 25 (17.5%) de ellas mezclaban la ropa de trabajo con la del resto de la familia y el 15.1% (15) refirieron lavarla en el sitio de trabajo.

De los 172 (56.2%) que respondieron laborar, se encontró que 125 (72.7%) no consume alimentos en el trabajo, pero 47 (27.3%) si lo hacen. En la parte de higiene personal del lavado de manos antes de ingerir alimentos, se obtuvo que 43 (31.5%) individuos siempre lo hacen, 3 (6.4%) refirieron hacerlo a veces y 1 (2.1%) nunca lo hacía; en lo referente a ducharse el cuerpo al terminar la jornada de trabajo de los 169 (55.2%) que respondieron, 141 (46.1%) mencionaron hacerlo siempre, 20 (11.8%) nunca lo hizo y el 8 (4.7%) a veces. El resto de medidas de higiene y seguridad industrial se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Medidas de higiene y seguridad de la población expuesta a mezclas de sustancias químicas en los municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu (Caldas), Colombia, 2022

<u>VARIABLE</u>	<u>CATEGORIA</u>	<u>n</u>	<u>%</u>	<u>VARIABLE</u>	<u>CATEGORIA</u>	<u>n</u>	<u>%</u>
PROTECCION DERMICA				PROTECCION RESPIRATORIA			
Uso de Peto o delantal	Si	27	15,7	Uso de respirador	Si	87	50,6
Material del peto o delantal	caucho	7	25,9	Uso de tapabocas	Si	48	27,9
	Plástico	7	25,9	Uso de pañuelo húmedo	Si	1	0,6
	camaza	6	22,2	PROTECCION FACIAL			
	cuero	6	22,2	Sombrero o gorra	Si	93	54,1
	Vaqueta	1	3,7	Visor	Si	34	19,8
Uso de Guantes	Si	104	60,5	Monogafas	Si	65	37,8
Principales materiales de los guantes	Cuero	35	34	PROTECCION EN MIEMBROS INFERIORES			
	Caucho	17	16,5	Botas de caucho	Si	83	48,3
	Látex	12	11,7	Botas de cuero	Si	66	38,4
	Camaza	9	8,7	Zapatos	Si	4	2,3
	Vaqueta	7	6,8	Tenis	Si	8	4,7
	Plástico	6	5,8	PROTECCION AUDITIVA			
Nitrilo	5	4,9	CASCO	Si	12	7,0	

En lo que atañe a los antecedentes toxicológicos el 35,65 (109) refiere haber fumado alguna vez en su vida y el 155 (50,7%) ingieren licor (tabla 5).

Tabla 5. Antecedentes toxicológicos de la población expuesta a mezclas de sustancias químicas en los municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu (Caldas), Colombia, 2022

<u>VARIABLE</u>	<u>CATEGORIA</u>	<u>n</u>	<u>%</u>	<u>VARIABLE</u>	<u>CATEGORIA</u>	<u>n</u>	<u>%</u>	
HA FUMADO ALGUNA VEZ	Si	109	35,6	SE HA INTOXICADO CON PLAGUICIDAS	Si	6	2,0	
FUMA ACTUALMENTE	Si	33	30,3	CON QUE PLAGUICIDA SE HA INTOXICADO	Glifosato	1	16,7	
FUMA EN SU SITIO DE TRABAJO	Si	13	39,4		Lorban	1	16,7	
CONSUME LICOR	Si	155	50,7		Monocrotofos	1	16,7	
FRECUENCIA DE CONSUMO DE LICOR	Ocasional	146	47,7		No sabe	1	16,7	
	2 veces/sem	5	1,6	Propanil	1	16,7		
	Semanal	3	1,9	Sibermetrina	1	16,7		
	Diario	1	0,6	HACE CUANTO TIEMPO SE INTOXICO CON PLAGUICIDAS	8 meses	1	16,7	
CONSUMO LICOR EN LA ULTIMA SEMANA	Si	34	21,9		96 meses	1	16,7	
SE HA INTOXICADO CON METALES PESADOS	Si	2	0,7		144 meses	2	33,3	
CONSUMO LICOR EN LA ULTIMA SEMANA	Si	34	21,9		180 meses	1	16,7	
CON QUE METAL SE HA INTOXICADO	Mercurio	1	50	QUE HIZO EN EL MOMENTO DE INTOXICACION CON PLAGUICIDAS	8 meses	1	16,7	
	Monóxido	1	50			390 meses	1	16,7
HACE CUANTO TIEMPO SE INTOXICO CON METALES (MESES)	5 Meses	1	50,0		Consultó al médico	2	33,3	
	39 Meses	1	50,0		Se hizo remedios caseros	2	33,3	
				Se auto medicó	1	16,7		
				No hizo nada	1	16,7		
<u>VARIABLE</u>				<u>Media</u>	<u>D.E.</u>	<u>Min</u>	<u>Max</u>	<u>Sig.</u>
# CIGARRILLOS FUMADOS AL DIA				5,27	5,502	1	20	0,000
#CIGARRILLOS FUMA EN EL TRABAJO				5,31	6,713	1	20	0,000
TIEMPO QUE DEJO DE FUMAR (meses)				154,03	157,269	1	672	0,000
TIEMPO QUE DEJO CONSUMO DE LICOR (meses)				197,85	179,704	3	780	0,000

En el tema de los hábitos alimentarios se encontró que 199 (65%) personas consumen agua de la llave, 44 (14.4%) del botellón y 35 (11.4%) de pozo natural principalmente; en relación con el consumo de pescado 164 (53.6%) indicaron ingerir bocachico, seguido de bagre 62 (20.3%) y doncella 24 (7.8%), con predominio de peces de tamaño mediano, así como un

consumo habitual de 1 a 2 veces por semana. Además, de las 264 personas que respondieron a respecto al origen del pescado, 85 (32.2%) refirieron que era de áreas afectadas por la minería, 67 (25.4%) mencionaron no conocer el origen porque lo compraban y 52 (19.7%) personas era de áreas afectadas por la agricultura.

Con relación al análisis de micronúcleos en la tabla 6 se muestra los resultados obtenidos en población ocupacional y ambientalmente expuesta, se obtuvo que el máximo de células analizadas por personas de los 83 reportes obtenidos, fue de 2143. Se encontró un promedio de micronúcleos de 3.75 (DE= 3,249) para la totalidad de los participantes, para la población ocupacionalmente expuesta fue de 4,51 (DE= 3,130) y para la ambientalmente expuesta de 2,65 (DE= 3,142). Se encontraron diferencias significativas respecto a la presencia de MN con relación a la exposición ocupacional y ambiental siendo más altas en los individuos con exposición ocupacional ($p=0,004$).

Tabla 6. Distribución de micronúcleos hallados en población expuesta a mezclas de plaguicidas en los municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu (Caldas), Colombia, 2022

VARIABLE		Media	D.E.	Min	Max	Sig.
MN EN CELULAS BI		3.75	3,249	0,00	13,00	0,000*
TOTAL CÉLULAS		1291.47	721.207	0	2143	0,000*
Exposición						Sig
MN EN CELULAS BI	OCUPACIONAL	4,51	3,130	0	12	0,004**
	AMBIENTAL	2,65	3,142	0	13	
TOTAL CÉLULAS	OCUPACIONAL	1523,78	593,215	0	2143	0,001**
	AMBIENTAL	956,68	764,848	0	2000	

* Prueba Shapiro Wilks

** Prueba U de Mann-Whitney

Discusión

El presente estudio evaluó la exposición a mezclas de plaguicidas en los municipios de Montelíbano (Córdoba), Nechí (Antioquia) y Aranzazu (Caldas), sin embargo, se halló exposición también a metales pesados, ya que estas poblaciones se dedican no solo a la actividad agrícola sino también minera, estando expuestos a una mezcla de contaminantes ambientales. Los individuos participantes tuvieron edades que oscilaron entre 19 años y 83 años siendo la mayoría del sexo masculino con hallazgos parecidos con la investigación

realizada por Madrid GL, y col (2010) quienes incluyeron personas expuestas en Buenavista (Puerto Córdoba), Montelíbano (Bocas de Uré), Puerto Libertador (Zona urbana) y Puerto Libertador (mina el Alacrán) y del municipio de Montería, que en promedio tuvieron una edad similar entre un rango de 18-65 años [16], parámetros que juegan un papel importante en el ensayo CBMN como lo reporta Gajski G y col (2018) [17].

Se encontró concomitante que 77.8% de las personas refirieron que el tiempo total que llevaban laborando en el oficio fue de 57 años y de estas el 32.7% trabajaban en actividades relacionadas con la minería de oro y níquel, entre otras. Sin embargo, en el estudio Madrid GL, y col (2010) se evaluaron los metales pesados (Hg, Pb, Cd, Cu y Zn) asociados a explotaciones mineras en la cuenca del río San Jorge, evidenciándose la gran variabilidad de exposición a metales existente en esta zona [16]. Siendo esto de gran importancia ya que, como lo refiere la investigación de León-Mejía G, y Col (2014), el aumento de frecuencias MN observadas en los trabajadores de la mina puede ser una consecuencia del daño oxidativo resultante de su exposición a mezclas de sustancias químicas [18].

También se apreció que el 26.5% de la población trabajaban en la agricultura, con un predominio del empleo de más de un plaguicida, siendo los frecuentes en uso el Glifosato, Cipermetrina, Paraquat, Tordon, Randall y Malathion, que están entre las categorías toxicológicas de la OMS clasificados como poco a moderadamente peligrosos. Datos que son de gran relevancia si se considera lo referido en la investigación de Bolognesi C, y col (2011) referente a que las mezclas complejas de químicos pueden potenciar o reducir su riesgo [19]. Se encontraron niveles de plaguicidas en sangre del grupo de organoclorados cuyo uso está prohibido en el país. En general estos plaguicidas son muy persistentes, estables en los diferentes ecosistemas y no biodegradables, presentan un efecto de biomagnificación y bioacumulación en la cadena alimentaria. En Colombia fueron usados por más de 50 años y sus características explican la presencia de niveles en sangre.

Adicionalmente se pueden considerar otros factores relevantes como son la exposición crónica a plaguicidas de hasta 45 años, el reporte de residencias ubicadas en zonas industriales y antecedentes de trabajos previos tanto en minería como en agricultura, todo lo cual puede generar efectos sobre la salud a largo plazo. Respecto al uso de elementos de protección personal reportaron que varios de ellos no utilizan los requeridos para las labores en que se desempeñan. Dichos aspectos son de gran importancia como lo refiere

Bolognesi C, y col (2003) que en estudios sobre biomarcadores citogenéticos en trabajadores expuestos a plaguicidas han indicado algunos efectos dependientes de la dosis, al aumentar la duración o la intensidad de la exposición. El daño cromosómico inducido por plaguicidas parece haber sido transitorio en la exposición aguda o discontinua, pero acumulativo en la exposición continua a mezclas agroquímicas complejas [4].

En lo referente a los hábitos de consumo se encontró que el pescado consumido proviene de áreas afectadas por la minería donde se emplea el mercurio y de zonas agrícolas, información que se considera relevante como factor de riesgo si se considera la investigación realizada por Gracia, L, y col (2016) donde se estudió la relación entre concentraciones de mercurio y consumo de pescado en 4 poblaciones de la cuenca del Rio San Jorge, encontrando que las concentraciones elevadas de mercurio en cabello están relacionadas con un aumento de la frecuencia en el consumo de pescado. En el presente estudio se encontró que la población está expuesta no solo a la agricultura sino a la minería y específicamente al mercurio [20].

A nivel de los hallazgos en los antecedentes toxicológicos se reportó en el presente estudio que los trabajadores reportaron fumar lo que puede incrementar el ingreso de las sustancias químicas por vía inhalatoria como también la ingesta de alcohol juega un papel importante en el desarrollo de micronúcleos como lo establece Bianca Benassi-E, y col (2011) quienes indican que la exposición crónica al alcohol induce el desarrollo de micronúcleos (MN) , malformaciones nucleares como los puentes nucleoplásmicos (NPBs) y brotes nucleares (NBUDs) los cuales son marcadores de inestabilidad genómica [21]. También hay estudios como el de Donmez-Altuntas H, y col (2012) quienes refirieron que la edad y el sexo tiene un efecto en la frecuencia de micronúcleos, aunque el tabaquismo no tuvo un efecto significativo en su estudio [22].

Con respecto al test de MNBC se encontraron diferencias significativas en lo referente a la exposición ocupacional vs ambiental en relación a la presencia de Mn en células binucleadas y del total de células, encontrándose más altas en los individuos con exposición ocupacional. Lo anterior es similar a lo encontrado por León-Mejía G, y col (2014) que refirió con respecto a la evaluación de MN y brotes nucleares fueron significativamente mayores en el grupo expuesto que en el grupo control no expuesto y el número de células reportadas también fueron significativamente más altas en el grupo expuesto [23].

Para finalizar, los plaguicidas tienen efectos genotóxicos ya que se han considerado como mutágenos potenciales, en Martínez-Valenzuela C y, col (2007) refiere que sus ingredientes ocasionan cambios en el ácido desoxirribonucleico (ADN) como aberraciones cromosómicas (AB), micronúcleos (MN), intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y ensayo cometa (EC). Sus efectos pueden variar dependiendo del grupo químico al que pertenecen, el ingrediente activo y la formulación técnica del producto, el tipo y tiempo de exposición (crónica o aguda), su contacto (directo o indirecto), la cantidad y frecuencia de exposición [24].

Conclusiones

1. Se encontró exposición a mezclas de sustancias químicas como son los plaguicidas y los metales.
2. Se presenta una exposición crónica a mezclas de sustancias químicas al considerar el tiempo reportado trabajando en actividades de minería y agricultura tanto por oficio actual como por antecedentes laborales, así como por el riesgo inherente a los hábitos de alimentación, unido a la falta de uso adecuado de elementos de protección personal, lo cual puede incrementar el riesgo.
3. Se encontraron niveles de plaguicidas organoclorados en sangre tanto en la población ocupacional como ambientalmente expuesta los cuales están prohibidos en el país. Llama la atención que haya personal que use plaguicidas sin conocer el nombre y por lo tanto tampoco los efectos sobre la salud y su categoría toxicológica.
4. De los plaguicidas hallados en sangre se encontraron categoría toxicológica la (Extremadamente Peligrosos) como el Aldicarb, Hexaclorobenceno y Paration; Clase Ib (Altamente Peligrosos) el Carbofuran; Clase II (Moderadamente Peligrosos) el Propoxur y Endosulfan y Clase III (Poco Peligrosos) el Malation.
5. Hay mayor presencia de micronucleos y de células binucleadas en la población ocupacionalmente expuesta que en la ambientalmente expuesta los cuales son biomarcadores de eventos genotóxicos, de inestabilidad cromosómica y

mutagenicidad. Este tipo de anomalías se encuentra comúnmente en diferentes tipos de cáncer y es indicativo de daños en el genoma.

Recomendaciones

1. Es de gran importancia seguir realizando estudios sobre marcadores de inestabilidad genómica en poblaciones expuestas a mezclas de contaminantes ambientales que permitan evidenciar daños en el genoma.
2. Se debe fomentar y fortalecer la educación de la población en lo referente a las medidas de higiene y seguridad industrial, así como acerca de los riesgos para la salud que desencadenan la exposición a mezclas de sustancias químicas incluyendo a las personas con exposición tanto ocupacional como ambiental.
3. A través de las secretarías de salud se recomienda se realice vigilancia activa de la exposición a mezclas de sustancias químicas e iniciar un programa para el manejo y uso adecuado de estos químicos.

Bibliografía

1. Kim JJ, Kim YS, Kumar V. Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. *J Trace Elem Med Biol.* 2019 Jul; 54:226-231. doi: 10.1016/j.jtemb.2019.05.003. Epub 2019 May 10. PMID: 31109617.
2. Gómez-Arroyo, S., Martínez-valenzuela, C., Carbajal-lópez, y, Martínez-Arroyo, A., Calderón-Segura, M. E., Villalobos-Pietrini, R., & Waliszewski, S. M. Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en América Latina. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 2013; 29, 159-180.
3. Mesic A, Nefic H. Assessment of the genotoxicity and cytotoxicity in environmentally exposed human populations to heavy metals using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Environmental toxicology.* 2015 Nov;30(11):1331-42.

4. Bolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res.* 2003 Jun;543(3):251-72. doi: 10.1016/s1383-5742(03)00015-2. PMID: 12787816.
5. Martínez-Valenzuela, C., & Gómez-Arroyo, S. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista internacional de contaminación ambiental*, (2007). 23(4), 185-200.
6. Palus J, Rydzynski K, Dziubaltowska E, Wyszynska K, Natarajan AT, Nilsson R. Genotoxic effects of occupational exposure to lead and cadmium. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2003 Sep 9;540(1):19-28.
7. Sarto F, Stella M, Acqua A. Cyto-genetic studies in 20 workers occupationally exposed to lead. *Medicina del Lavoro.* 1978;69(2):172-80.
8. Nordenson I, Beckman G, Beckman L, Nordström S. Occupational and environmental risks in and around a smelter in northern Sweden IV. Chromosomal aberrations in workers exposed to lead. *Hereditas.* 1978 Jul;88(2):263-7
9. Rosales-Rimache JA, Malca E, Alarcón JJ, Chávez M, Gonzáles MA. Genotoxic damage among artisanal and small-scale mining workers exposed to mercury. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública.* 2013 Oct 1;30(4):595-600.
10. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. *Molecular, clinical and environmental toxicology.* 2012:133-64.
11. Stannard L, Doak SH, Doherty A, Jenkins GJ. Is nickel chloride really a non-genotoxic carcinogen?. *Basic & clinical pharmacology & toxicology.* 2017 Sep; 121:10-5.
12. Benedetti D, Lopes Alderete B, de Souza CT, Ferraz Dias J, Niekraszewicz L, Cappetta M, Martínez-López W, Da Silva J. DNA damage and epigenetic alteration in soybean farmers exposed to complex mixture of pesticides. *Mutagenesis.* 2018 Jan;33(1):87-95.

13. Uwizeyimana H, Wang M, Chen W, Khan K. The eco-toxic effects of pesticide and heavy metal mixtures towards earthworms in soil. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2017 Oct 1;55:20-9
14. Varona M, Cárdenas O, Crane C, Rocha S, Cuervo G, Vargas J. Cytogenetic alterations in field workers routinely exposed to pesticides in Bogota flowers farms. *Biomedica*. 2003 Jun 1;23(2):141-52.
15. Calao CR, Marrugo JL. Genotoxic effects in a human population exposed to heavy metals in the region of La Mojana, Colombia, 2013. *Biomédica*. 2015 Aug;35(SPE):139-51.
16. Madrid G, Gracia L, Marrugo JL, Urango I. Genotoxicity studies of heavy metals: Hg, Zn, Cu, Pb y Cd related to mining operations on residents of San Jorge basin, Department of Cordoba, Colombia. *Rev Asoc Col Cienc (Col)*. 2011;23:103-11
17. Gajski G, Gerić M, Oreščanin V, Garaj-Vrhovac V. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay parameters in peripheral blood lymphocytes of the general population: contribution of age, sex, seasonal variations and lifestyle factors. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2018 Feb 1;148:561-70.
18. León-Mejía G, Quintana M, Debastiani R, Dias J, Espitia-Pérez L, Hartmann A, Henriques JA, Da Silva J. Genetic damage in coal miners evaluated by buccal micronucleus cytome assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2014 Sep 1;107:133-9.
19. Bolognesi C, Creus A, Ostrosky-Wegman P, Marcos R. Micronuclei and pesticide exposure. *Mutagenesis*. 2011 Jan;26(1):19-26
20. Gracia L, Chams L, Hoyos W, Marrugo J. Relación de consumo de pescado y niveles de mercurio en pobladores aledaños al río San Jorge, Colombia (2016).
21. Benassi-Evans B, Fenech M. Chronic alcohol exposure induces genome damage measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay and aneuploidy in human B lymphoblastoid cell lines. *Mutagenesis*. 2011 Jan 27;26(3):421-9.

22. Donmez-Altuntas H, Bitgen N. Evaluation of the genotoxicity and cytotoxicity in the general population in Turkey by use of the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2012 Oct 9;748(1-2):1-7

23. León-Mejía G, Quintana M, Debastiani R, Dias J, Espitia-Pérez L, Hartmann A, Henriques JA, Da Silva J. Genetic damage in coal miners evaluated by buccal micronucleus cytome assay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2014 Sep 1;107:133-9.

24 Martínez-Valenzuela C, Gómez-Arroyo S. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista internacional de contaminación ambiental*. 2007 Dec;23(4):185-200