



Detección de la actividad mutagénica en muestras de orina del personal que trabaja en los laboratorios de investigación, servicio y docencia

CADENAS ALEGRÍA, OSCAR¹
 FERNÁNDEZ COSS, OMAR¹
 PÉREZ CRESPO, MELISA¹
 MITA MAMANI, SILVIA¹

MENDOZA, YHOVANA¹
 ROMERO CALLE, DANITZA¹
 IRAHOLA S., PABLO¹
 SÁNCHEZ MONTAÑO, ROLANDO¹

FECHA DE RECEPCIÓN: 6 DE ABRIL DE 2015

FECHA DE ACEPTACIÓN: 8 DE MAYO DE 2015

Resumen

En el presente trabajo se pretende realizar la detección de potenciales mutágenos en muestras de orina colectadas de docentes, estudiantes y administrativos de la FCFB que están expuestos a diferentes compuestos orgánicos volátiles (VOCs) en donde desarrollan sus actividades, mediante la extracción de los mismos utilizando columnas de resina captadora de compuestos orgánicos y posteriormente detectar la actividad mutagénica mediante el test de Ames. En este contexto, se ha encontrado índices de mutagenicidad elevadas en 7,5% de las muestras colectadas (sin embargo, en un segundo muestreo de confirmación dieron negativo), con leve mutagenicidad 46,3% de la personas participantes y 53,7% con ausencia de mutágenos. En general, los resultados indican que las accio-

Abstract

The purpose of this work is to determine the potential mutagenic activity in urine samples of professors, students and managerial personal from FCFB, who are exposed to different volatile organic compounds (VOCs) in their job, this compounds could be extracted by columns of binding resin organic compounds and subsequently detect mutagenic activity using Ames test. In this regard, high levels of mutagenic activity (7.5%) (however, in a second confirmatory sampling were negative), mild mutagenicity activity (46.3%) and absence of mutagens(53.7%)were determine in samples collected. Overall, the results indicated thatthe biosafety of learning and researching laboratories from BFCF were the adequate, however, this aspect

¹ Carrera de Bioquímica, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas (FCFB)-UMSA.

nes de bioseguridad en los laboratorios de enseñanza e investigación de la FCB fueron la ideales, sin embargo, no debe descuidarse este aspecto y el monitoreo que deben ser periódicos.

should not be neglected and should be periodic monitoring.

PALABRAS CLAVE

Actividad mutagénica, Test de Ames, VOCs

KEY WORDS

Ames test, Mutagenic activity, VOC's.

INTRODUCCIÓN

La exposición prolongada a compuestos químicos no solo como solventes sino como agentes de limpieza son tóxicos tal vez cancerígenos y/o genotóxicos, tales como acetona, benceno, hexano, keroseno, percloroetileno, cloroformo, propano dicloroetano, tetracloruro de carbono, diclorometano, tricloroetano, tricloroetileno, tolueno, gasolinas, xileno, y otros semivolátiles. Estos compuestos orgánicos volátiles (acrónimo en inglés VOCs) contaminan el aire que las personas aspiran mientras trabajan (Bonish y col. 2012, Madly col. 2011), igualmente los cultivos microbiológicos también producen compuestos orgánicos volátiles (MVOCs, microorganism volatile organic compounds). Todos estos compuestos químicos se acumulan en algunos tejidos y órganos, cuya larga exposición podría generar problemas en la salud (Snedeker y col. 2006), como ser reacciones alérgicas en las personas expuestas (Vermeulen y col. 2003).

Cada uno o el conjunto de VOCs tienen propiedades fisicoquímicas que alteran a estructuras celulares (citotóxicos) incluyendo daños en el DNA, pueden inducir potencialmente la mutación y daño del material genético que pueden desencadenar en enfermedades crónicas, la relación de estos solventes orgánicos con el cáncer es evidente (Peters y col. 2008; Varelly col. 2008), esta relación fue demostrada, como en el caso de los vapores de gasolina y el cáncer de hígado, de la misma manera a solventes orgánicos con el cáncer de mama e incluso algunos autores señalan que el consumo de alcohol debía tomarse en cuenta en la relación con el cáncer (Lindbohmy col., 2009; Pehlonskay col. 2010).

Las partículas ultrafinas al ser endocitados o ingresar a la célula por difusión pasiva pueden provocar estrés oxidativo intracelular e incrementar la concentración de iones calcio que activa la NADPH oxidasa y genera especies reactivas de oxígeno (SOR), que su presencia en ciertas etapas del ciclo celular y ciertas localizaciones es inadecuada, e iniciar procesos cancerígenos. Estas moléculas con alto potencial de oxidación pueden actuar sobre lípidos produciendo peróxidos que pueden constituirse en aductos del DNA, de la misma manera en algunos orgánulos como las mitocondrias interrumpen el transporte de electrones en la respiración, en casos extremos la célula es inducida a la apoptosis o muerte celular, que evita la transformación maligna de la célula como medida de protección del organismo (Madl and Hussain. 2011).

Los VOCs son agentes xenobióticos que pueden ser metabolizados o bio-transformados, mediante procesos enzimáticos con el propósito de neutralizarlos y eliminarlos del organismo, gran parte de estas reacciones se llevan a cabo en las células del hígado, riñón, pulmones, piel e intestinos. Algunos hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) son mutágenos biológicamente inactivos, sin embargo, pueden ser metabolizados a formas activas por el propio organismo, en los humanos el citocromo P450 (Tovalin y col. 2007).

La presencia de sustancias químicas tóxicas y su evidente relación enfermedades crónicas en la población expuesta, en este contexto se han desarrollado diferentes trabajos utilizando muestras de orina para detectar compuestos con actividad mutagénica en el personal que están expuestas cotidianamente a los VOCs (Mohamadiy col. 2003; Guebert y col. 2007; Varellay col. 2008). El test de Ames o test de *Salmonella*, las cepas empleadas frecuentemente son TA98 que está relacionada con el desplazamiento del marco de lectura y TA100 involucrada en mutaciones puntuales. Este método es ampliamente aceptado como un ensayo bacteriano para identificar sustancias que puede producir daño genético, tiene una sensibilidad de hasta 90% en detectar una amplia variedad de carcinógenos, mutágenos (Mortelmans y col. 2000). Paralelamente, se analiza con ambas cepas la fracción S9 es un homogenizado de un órgano de mamífero exógeno activo que tiene un sistema homólogo a P450 (en nuestro caso hígado de rata), posee la capacidad de metabolizar a compuestos químicos pro-mutágenos y los vuelve más electrofílicas y con mayor capacidad de interaccionar con el ADN constituyéndose en potentes mutagénicos (Tovalin y col. 2007).

Los laboratorios de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas (FCFB)-UMSA donde cotidianamente se utilizan distintos compuestos químicos, que son utilizados para realizar diferentes actividades de formación académica y de investigación. El personal que desarrolla actividades en estos recintos debe estar protegido adecuadamente, según las normas de bioseguridad, las mismas que deben evitar o por lo menos minimizar los riesgos debido a la exposición a reactivos o solventes. En este sentido el presente trabajo determino la actividad mutagénica en muestras de orina del personal que desarrolla actividades en los distintos laboratorios de la FCFB.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población en estudio

Para el desarrollo del trabajo los participantes se clasificaron en dos grupos: uno Expuesto a compuestos químicos entre ellos compuestos orgánicos volátiles (VOCs) y el otro No Expuesto, realizándose un diseño caso control.

En el grupo Expuesto se incluyó a Docentes, estudiantes (tesistas, auxiliares de docencia y becarios) y personal administrativo (encargados de limpieza de laboratorios) de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor de San Andrés que estuvieron trabajando de forma

directa o indirecta con compuestos químicos volátiles orgánicos y otros. Se consideró como grupo No Expuesto a las personas que no trabajan con compuestos químicos, ni en laboratorios.

Los criterios de inclusión del grupo de Expuestos se consideraron a personas que trabajaron por un tiempo prolongado en el laboratorio (más de seis meses) y al grupo No Expuesto a personas que trabajaron fuera de los ambientes de laboratorio.

Los criterios de exclusión para ambos grupos consideraron a personas que sean fumadores activos (que consuman más de dos cigarrillos por día), tengan alguna enfermedad renal u otra complicación crónica, sean consumidores consecutivos de bebidas alcohólicas y/o con alguna medicación en el momento que se solicitó la muestra.

La participación de todas las personas en el presente trabajo fue de forma voluntaria, previamente se les informó y firmaron un consentimiento informado avalado por el Comité de Bioética de la UMSA, además que realizaron el llenado de un cuestionario referente al manipuleo de los compuestos químicos y los niveles de protección que se utilizan.

Recolección de la muestra

Se utilizaron muestras de orina para el secuestro de compuestos químicos potencialmente de carácter mutagénico que son excretados por ésta vía, como refieren distintos trabajos (Snedeker.2006; Endo y col. 2003; Andre et al. 2002).

A cada persona se le proporcionó dos envases estériles de plástico cada uno de 100 ml de capacidad recomendando que por lo menos dos días antes de la toma de muestra se abstenga del consumo de bebidas alcohólicas, consumo excesivo de carne roja y de cigarrillos. Al grupo Expuesto se recomendó que se realice la colecta al final del día en que consideren estén más expuestos a los compuestos químicos.

Se instruyó recolectar la orina del final de la jornada y la primera micción del día siguiente, estas muestras colectadas fueron llevadas al laboratorio de Biología Molecular de la FCFB, donde se midieron en ese momento los siguientes parámetros: glucosa, bilirrubina, cetonas, densidad, presencia de sangre, pH, proteínas, urobilinógeno, nitritos y leucocitos, mediante tiras reactivas para uroanálisis (URS-10, TC Diagnostic), esto para constatar el buen estado de salud y la presencia de algún parámetro anormal en el participante. Luego se almacenaron las muestras a 4° C, hasta su tratamiento (hasta 24 horas). Simultáneamente se anotó todos los datos en el cuaderno de registro.

Secuestro de metabolitos secundarios a partir de orina

Las muestras colectadas fueron filtradas y decantadas con ayuda de un papel filtro (Wattman N°1) para obtener una muestra sin impurezas insolubles, y

posteriormente se realizó la extracción de los metabolitos secundarios utilizando el método propuesto por Andre y colaboradores (2002), mediante una columna XAD-2 (Purified Clean SPE 300mg/3mL SUPELCO), previamente fue activada con 7 a 8 ml de metanol p.a. (JT Baker), seguido de un lavado con 50 ml de agua desionizada (miliQ), con un flujo de 20 a 25 gotas por minuto.

Cada muestra de orina fue filtrada a través de la columna activa (una columna por muestra), con un flujo de 2 gotas por segundo, permitiendo que los compuestos orgánicos de la orina sean retenidas por la resina de la columna; posteriormente se eluyeron los analitos retenidos en la columna con 10 ml de acetona p.a. (JT Baker), recolectándolos en tubos, posteriormente la acetona fue evaporada a 55°C en una mufla (memmertBinder). El sedimento se resuspendió con 400 µl de DMSO (JT Baker) por cada 100 ml de muestra, para finalmente ser utilizado para el test de Ames.

Cepas bacterianas para el Test de Ames

Para el desarrollo de las pruebas de Ames se utilizaron dos cepas de *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100 (Moltox). Los discos liofilizados de estas cepas bacterianas fueron cultivadas en caldo nutritivo (Oxoid N°2) a 37°C por 18 horas, consecutivamente se realizó la comprobación del genotipo de las mismas, a la par se guardó lotes de estas cepas conservándolos en tubos de crio-preservación de un 1 ml de cultivo con 1ul de DMSO (JT Baker) que fueron almacenadas en un congelador de -80° C.

Test de Ames

Se preparó un cultivo de la cepa correspondiente en caldo NB Oxoid N° 2 a 37°C de 12 a 16 horas, se transfirió 4 ml del cultivo a 16 ml de caldo NB Oxoid precalentado a 37°C y se incubó hasta obtener una DO620 de 0,9 a 1,2 este cultivo es el que fue utilizado en el test de Ames.

Posteriormente se licó en un horno de microondas la cantidad adecuada de agar blando (2 ml por prueba), se atemperó a 60°C y se suplementó con 100 ul de trazas de D-biotina/L-histidina (1 mM) manteniéndose en baño maría (60°C) hasta su uso.

En otro tubo estéril se adicionó: 0,5 ml de tampón fosfato 0,1 M, pH 7,4 (o de la mezcla de activación metabólica S9, cuando corresponda), 0,1 ml del extracto de orina (en ensayos de optimización se encontró que se podía utilizar de 0,1 a 0,05 ml), 0,1 ml del cultivo de la cepa correspondiente, se mezcló con el agar blando atemperado a 60°C y se vertió sobre una placa previamente preparada con medio mínimo VogelBonner E suplementado con glucosa, se dejó solidificar, y se incubó a 37°C, se contaron el número de colonias que crecieron (revertantes) a 48 y 72 hrs.

Los controles que se utilizaron en cada uno de los ensayos fueron: control negativo de agua, y como controles positivos el bromuro de Etidio a con-

centración de 0,5 ug/ml y para activación metabólica con 2 aminofluoreno a 10 ug por placa como promotor cofactor mutágeno de S9 (LyophilizedAroclor 1254 inducedmale SD in KCl). Además de un control de procedimiento, es decir, un ensayo de Ames sin añadir el cultivo bacteriano. Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado, incluyendo controles positivos y negativos.

El número de colonias contados en cultivos del control negativo se consideraron como el número de colonias revertantes espontaneas, mientras que el número de colonias en cultivos con el extracto de orina son los revertantes a causa de los mutágenos presentes en el mismo. En base a dichos conteos se calculó el Índice de Mutagenicidad (IM) mediante la siguiente fórmula:

$$IM = \frac{N^{\circ} \text{colonias revertantes inducidas}}{N^{\circ} \text{colonias revertantes espontáneas}}$$

Se consideró positivo cuando IM fue mayor o igual a 2, es decir el extracto contiene compuestos mutagénicos; valores entre 1,5 a 2, como ligeramente mutagénicos y negativo cuando IM fue menor a 1,5 el extracto no contiene compuestos mutagénicos (Tejs. 2008).

Análisis Estadístico.

Para el análisis de resultados se utilizó el programa R CoreTeam (2013), la distribución normal de los datos se determinó mediante el test de "Shapiro-Wilk" y el test de "Kruskal-Wallis" para el análisis de varianza.

RESULTADOS

Las personas participantes fueron 85 distribuidos de acuerdo a la tabla 1 en grupos Expuesto y No Expuesto, de acuerdo a las respuestas de los cuestionarios llenados, siendo la relación de género de 1:2 (masculino y femenino), las edades de los participantes fueron desde los 18 hasta los 57 años de edad. Se excluyeron a 18 personas debido a que declararon el consumo de algún medicamento y/o por ser fumadores activos (consumo de más de 10 cigarrillos por día), reduciéndose la población a 67.

Tabla 1. Características de la población de en estudio, FCFB (UMSA).

	Expuestos	No Expuestos
Sexo	Masculino	16
	Femenino	8
Edad	Rango	19-57
	Promedio(DS)	30.7(9.7)
		36(14.1)
Personal	Docentes	13
	Estudiantes	0
	Administrativo	32
Excluidos	1	7
Total	10	8
	56	29

Los compuestos químicos que se manipulan con mayor frecuencia por la población en estudio según los datos del cuestionario son alcoholes, compuestos volátiles y solventes orgánicos, los demás compuestos en orden de importancia son los mutágenos (como bromuro de etidio, naranja de acridina), fenol y formaldehído. Respecto al uso de material de protección personal los más frecuentemente usados son los guantes y guardapolvos, seguidos en orden de frecuencia por barbijo, máscara y lentes, en cuanto a campanas de extracción pocos laboratorios lo tienen. Estos materiales de protección generalmente se utilizan combinados, el uso de guantes y guardapolvo es la combinación más común en cada grupo (hasta un 31%).

De acuerdo al cuestionario se observa que la mayoría de los participantes consideran una actividad física la caminata que desarrollan en el día, ya sea cuando se dirigen a su trabajo o en el mismo como una actividad física, son muy pocas las personas que practican deportes como fútbol, basquetbol, voleibol.

Detección de mutágenos en orina

Se realizó el ensayo de Ames a las 85 muestras colectadas, en las que se incluyeron personas que fueron excluidas, se utilizaron las cepas TA98 y TA100, cada una en presencia y ausencia de activador catabólico buffer S9. En todos los casos se contó el número de revertantes y el Índice de Mutagenicidad.

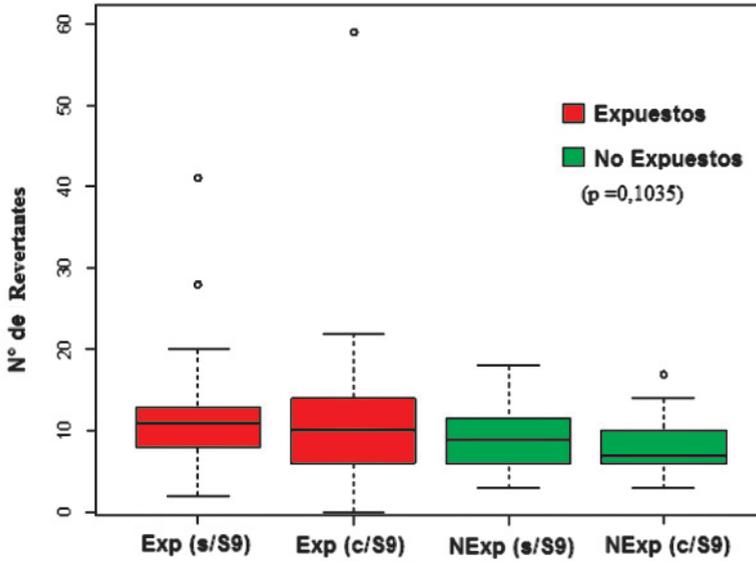
La comparación de los Índices de Mutagenicidad entre los grupos Expuestos y No Expuestos, mediante el test de Kruskal-Wallis demostraron que con la cepa TA98 y TA100 no existen diferencias significativas ($p = 0,1057$ y $0,3436$, respectivamente); la comparación del número de revertantes con la cepa TA98 tampoco fue significativa ($p = 0,1035$), pero la comparación del número de revertantes con la cepa TA100 mostró diferencias significativas ($p = 0,04942$), sin embargo, es muy cercano al umbral de 95 y por el hecho de que este valor no coincide entre cepas (TA98 y TA100) ni entre variables (IM) este comportamiento no se tomó en cuenta. Por otro lado, en todos los casos el buffer S9 (activador metabólico) no influye en los resultados (tabla 2).

Tabla 2. Resumen de los valores de "p" en el presente estudio según el test de Kruskal Wallis

Cepa utilizada	Comparación	Variable medida	Valor p
TA98 (sinS9/conS9)	Expuestos Vs. No Expuestos	Revertantes	0,1035
		IM	0,1057
TA100 (sinS9/conS9)	Expuestos Vs. No Expuestos	Revertantes	0,04942
		IM	0,3436

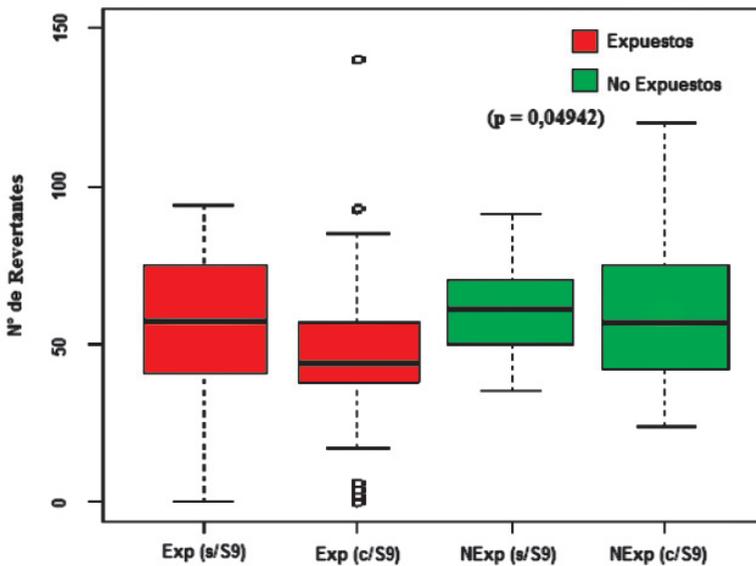
El análisis realizado sobre el número de revertantes con la cepa TA98 muestra que entre los grupos Expuesto y No Expuesto las diferencias no son significativas ($p < 0,05$), lo que implica que ambos grupos tienen respuestas similares (Figura 1).

Figura 1. Número de revertantes obtenidos en el test de Ames, entre grupos de Expuestos y No Expuestos, con la cepa TA98.



Con la cepa TA100 muestra que existe diferencias significativas entre ambos grupos en relación al número de revertantes ($p = 0,04942$) pero no significativa en caso de IM (Figura 2).

Figura 2. Número de revertantes obtenidos en el test de Ames, entre grupos de Expuestos y No Expuestos, con la cepa TA100



Respecto al análisis de los índices de Mutagenicidad (IM) para ambas cepas no se encontraron diferencias significativas entre los grupos Expuestos y No Expuestos con y sin S9 (figura3 y 4).

Figura 3. Índice de Mutagenicidad obtenidos en el test de Ames entre grupos Expuestos y No Expuestos, con la cepa TA98

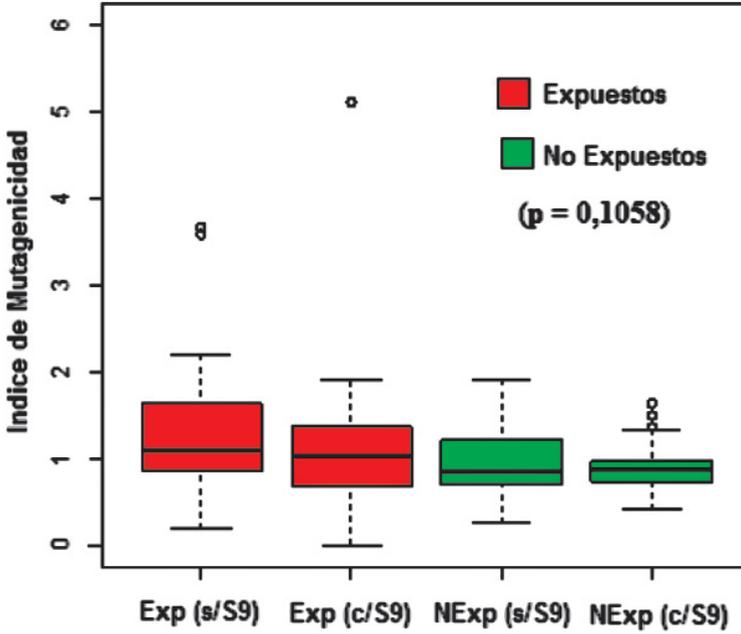
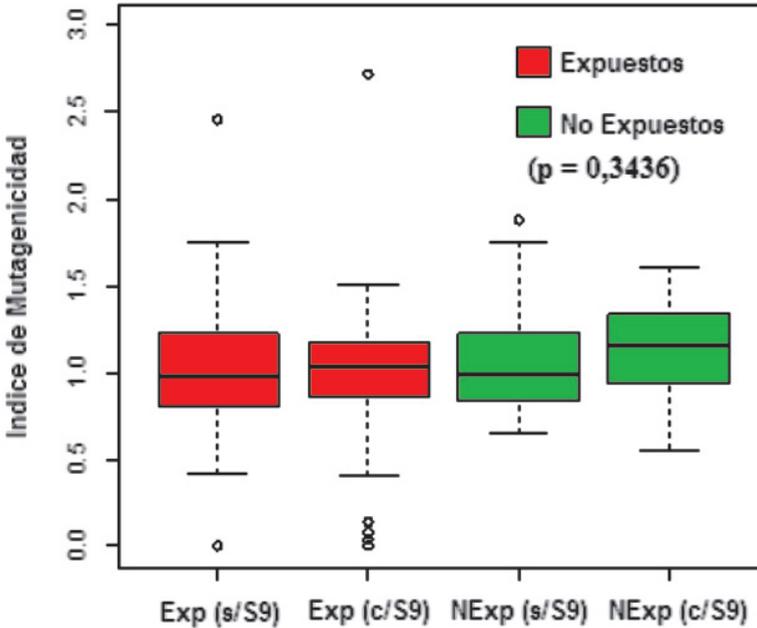


Figura 4. Índices de Mutagenicidad obtenidos en el test de Ames entre grupos Expuestos y no Expuestos, con la cepa TA100



El test de Ames realizada a todas las muestras obtenidas mostraron 5 personas con valores mayores a 2 lo que representa el 7,5%, los que comprendían 1 docente, y 4 estudiantes (y una persona excluida), en un segundo muestreo para confirmar los resultados, todas presentaron valores de IM bajos (menores a 2), el 46,3% de los participantes muestran IM entre 1,5 y 2, lo que indique que en esas muestras están presentes compuestos ligeramente mutagénicos (tabla 4).

Tabla 4. Número de muestras con IM entre 1,5 y mayores 2

		TA 98		TA 100		Total
		Sin S9	Con S9	Sin S9	Con S9	
Expuestos	Docentes	1/13	2/13	1/13	1/13	5
	Estudiantes	11/32	6/32	2/32	2/32	19
	Administrativo	1/1	1/1	0/1	0/1	1
No Expuestos	Docentes	0	0	0	0	0
	Estudiantes	3/7	1/7	0/7	0/7	4
	Administrativo	4/14	2/14	3/14	1/14	10
					TOTAL	39

DISCUSIÓN

En la Fac. de Cs Farmacéuticas y Bioquímicas de la (UMSA) se utilizan compuestos químicos de diversa índole para el desarrollo de prácticas de enseñanza y en investigaciones (en diferentes procesos como destilación, concentración, maceración, extracción de algún analito, etc.), por lo que es inevitable la exposición de las personas a compuestos utilizados en estos procesos que principalmente son solventes orgánicos de carácter volátil.

La manipulación y exposición a los VOCs generalmente se mezclan en el ambiente y para disminuir la exposición en el laboratorio se necesita ventilación o protección respiratoria para el desarrollo de actividades (Sorsa y col. 1981, Snedeker y col. 2006), en el monitoreo de la eliminación de compuestos xenobióticos potencialmente mutágeno se encontró una mayor afección en estudiantes y en docentes, es importante considerar que ambos grupos son los más susceptibles a presentar mutágenos en orina, aunque solo en algunos casos los índices de mutagenicidad fueron elevados.

Los grupos en estudio utilizan las mismas combinaciones de implementos de bioseguridad, lo que indica que todos mantienen disciplinadamente reglas de bioseguridad. Sin embargo, en la mayoría no se utiliza protección apropiada que impida la aspiración de compuestos volátiles siendo uno de los compuestos importantes a los que están expuestas las personas, adicionado a que no todos los laboratorios tienen campanas de extracción de gases, además es importante considerar la contaminación por parte de los gases emitidos de los automóviles de la ciudad que afectaría al personal como se observó en el estudio realizado por Bahrami y colaboradores(2007), también reacciones fotoquímicas que se dan al formar compuestos secundarios por efectos de la luz solar (Lodovici y col 2011).

Los VOC's pueden ser un factor de riesgo para el desarrollo de distintas enfermedades, tales como alérgicas como el asma (Bonisch y col. 2012), de cáncer de mama (Peplonska y col. 2010), problemas pulmonares, diabetes, Alzheimer, enfermedades degenerativas, además se ha observado cambios agudos y síntomas en el neurocomportamiento desarrollando un estrés psicológico (Fiedler y col. 2005). Es así, que estos compuestos producen daño oxidativo en la célula; el estrés oxidativo es derivado de un desbalance entre la formación de sustancias reactivas de oxígeno y actividad individual antioxidante, producen daño a lípidos, proteínas y macromoléculas así como ADN y ARN (Lodovici y col 2011; Madl y Hussain 2011).

Los derivados de los VOC's absorbidos por el organismo son eliminados frecuentemente por la orina, la concentración de los posibles mutágenos podría ser muy baja y de ahí la dificultad de su detección, además la salinidad de la orina podría obstaculizar de alguna manera la captura de compuestos orgánicos, siendo necesaria su previa desalinización, sin embargo, el efecto del pH de la orina no altera en la actividad mutagénica (Andre y col. 2002; Mohamadi y col. 2003).

La influencia de los hábitos de vida (fumar, dieta, actividad física) de las personas (Simoli y col. 2004) que conformaban a los grupos es un factor que podría haber influenciado no encontrar diferencias entre los grupos Expuestos y No Expuesto, en este sentido la mayoría de las personas indicaron realizar la caminata como actividad física siendo pocas las personas en la práctica de algún deporte específico.

Asimismo, en el presente estudio se determinó el 7.5% de los participantes presentaban un índice de mutagenicidad mayores a 2, por lo tanto excretaban compuestos mutagénicos, sin embargo, el 46,3% de los participantes muestran IM entre 1,5 y 2, lo que indica que en esas muestras están presentes compuestos ligeramente mutagénicos (tabla 4), esta respuesta es interesante porque es una alerta que indica la necesidad de un monitoreo periódico e incrementar medidas de bioseguridad en la población de la FCFB.

Por otro lado existe una discrepancia, pese a que el IM es una relación del número de revertantes, se debe a que la regla de 2 del IM es relativa, por lo tanto restrictiva y no toma en cuenta las dimensiones del número absoluto de revertantes (Albaladejo y col. 1995), y para estos casos es mejor aplicar la regla del exceso, que en este caso tampoco indica la presencia de mutágenos puesto que si tomamos como 50 el número de revertantes espontáneos el exceso tendría que ser mayor a 100 revertantes para una muestra mutagénica lo cual no se cumple en los experimentos realizados.

Del mismo modo, los valores de IM encontrados en el estudio presentan una moda (datos no mostrados) de 0,985, muy cercano a 1 que reflejaría un valor igual al que se alcanza en forma espontánea, es decir no presentan actividad mutagénica. Las modas por cada grupo son: TA98 sin y con S9 de 0,875 y 0,9, respectivamente, lo que dentro del grupo no muestra grandes diferencias; con la cepa TA100 se tienen: sin y con S9 de 0,9 y 1,11 observándose también que no hay gran diferencia entre estos dos experimentos.

El valor de la moda en todo el grupo fue muy cercano a 1 lo cual indica que el extracto de orina actúa como una sustancia blanca y que valores menores puedan deberse a inhibidores de crecimiento bacteriano, tal el caso en 2 muestras (3%), lo que puede ser debido a la presencia de toxinas en las muestras que no permiten el crecimiento de las cepas bacterianas, en tal caso podía realizar un ensayo de toxicidad con dichas muestras pero por la baja frecuencia no se la realizó.

Por otra parte, la cepa TA98 fue mejor en identificar la actividad mutagénica en contraste a la cepa TA100, sin embargo en otros estudios sugieren la utilización de las cepas bacterianas YG para mejorar la sensibilidad de la detección mediante el test de Ames (Varela y col. 2008), con el metabolito activador S9 estas cepas demostraron una alta actividad mutagénica y puede ser usada para monitorear la exposición de los trabajadores a los PAH (Simoli y col. 2004), puede ser utilizada para re evaluar los resultados obtenidos en el presente estudio. Pese a todo esto el test de Ames si bien es una técnica de la batería de procedimientos para la demostración de ausencia de mutágenos, no es determinante en su cometido, puesto que por utilizar organismos procariontes (bacterias) no muestran otras consecuencias de los mutágenos como las aberraciones cromosómicas.

Es importante realizar un monitoreo periódico a la comunidad universitaria expuesta a compuestos químicos orgánicos con el fin de precautelar la salud y mejorar las condiciones de bioseguridad, asimismo considerar el control ambiental de los distintos laboratorios y distintas poblaciones potenciales que están expuestas a compuestos químicos (agricultores, personal de laboratorio patológico de hospitales, personal de fábricas y otros) y de esta forma poder contribuir en la seguridad laboral de las personas que están expuesta a distintos compuestos químicos del ambiente y estar siempre en alerta promoviendo acciones de bioseguridad, ya que es frecuente observar el uso de compuestos sin la presencia de cabinas de extracción de gases.

CONCLUSIONES

Siendo un primer trabajo de detección de mutágenos en orina por el test de Ames en la persona que trabaja expuesto a compuestos químicos en el laboratorio FCFB, es importante considerar la detección de mutágenos en orina mediante el test de Ames, la comparación de los Índices de Mutagenicidad y número de revertantes entre los grupos de Expuestos y No Expuestos no presentan diferencias significativas, de la misma manera el activador catabólico S9 no influye en los resultados obtenidos, lo que señala que la presencia de compuestos con ligera actividad mutagénica no está exclusivamente circunscrita a los laboratorios.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó gracias al proyecto UMSA-IDH-2012 "Detección de mutágenos en orina del personal que trabaja en los laboratorios de investigación, servicio y docencia de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y

Bioquímicas mediante el test de Ames". De la misma manera a todas las personas (docentes, administrativos y estudiantes) que participaron en el proyecto de forma voluntaria brindando las muestras.

REFERENCIAS

- Albaladejo V.R., Villanueva O.R., Ortega M.P., As-tasio A. P., Gil M.A., Granados Arroyo B., Calle P.M. y Domínguez R.V.(1995). Evaluación de la actividad mutagénica de aguas de consumo público por medio del test de Ames. *Esp Salud Pública*, 69, 393-408.
- Andre V., Lebailly P., Deslandes E., Henry-Amar M., Gauduchon P.(2002). Biomonitoring of urine mutagenicity with the Ames test: Improvement of the extraction/concentration method. *Mutation Research*, 520, 199-205.
- Bahrami AR, Ansari M. (2007). Exposure of Sweepers to Volatile Organic Compounds Using Urinary Biological Exposure Index. *J Res Health Sci*, 7(1), 1-5.
- Bonisch U., Bohme A., Kohajda T., Mogel I., Schutze N., Von Bergen M., Simon J.C., Lehmann I., Polte T. (2012). Volatile Organic Compounds Enhance Allergic Airway Inflammation in an Experimental Mouse Model. *PLoSOne*, 7(7), 1-14.
- Endo O., Sugita K., Goto S., Amagai T. and Matshita H. (2003). Mutagenicity of size-fraction airborne particles collected with Anderson Low Pressure Impactor. *Journal of Health Science*, 49(1): 22-27.
- Fiedler N., Laumbach R., Kelly-McNeil K., Lioy P., Zhi-Hua F., Zhang J., Ottenweller J., Ohman-Strickland P. and Kipen H. (2005). Health Effects of a Mixture of Indoor Air Volatile Organics, Their Ozone Oxidation Products, and Stress. *Environmental Health Perspectives*, 113 (11), 1542-1549.
- Guebert M., Brisorgueil E., Jolibois B., Caillard J.F., and Gehanno J.F. (2007). Evaluation of urinary mutagenicity in azo dye manufacture workers. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 20(2), 137-146.
- Lindbohm M.L., Sallmen M., Kyyronen P., Kauppinen T. and Pukkala E. (2009). Risk of liver cancer and exposure to organic solvents and gasoline vapors among Finnish workers. *Int. J. Cancer*, 124, 2954-2959.
- Lodovici M., Bigagli E. (2011). Oxidative Stress and Air Pollution Exposure. *Journal of Toxicology*, 9.
- Madl, Hussain M. (2011). Lung deposition predictions of airborne particles and the emergence of contemporary diseases - Part II. *The Health*, 2(3), 101-107.
- Mohamadi S., Unyime N., Bao-Zhen Z. (2003). Effect of pH on mutagenicity of urine from smokers and nonsmokers. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 21-27.
- Mortelmans K. and Zeiger E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 455, 29-60.
- Peplonska B., Stewart P., Szeszenia-Dabrowska N., Lissowska J., Brinton L., Piotr G.J., Brzez-nicki S., Yang X.R., Sherman M., García-Closas M., Blair A. (2010). Occupational exposure to organic solvents and breast cancer in women. *Occup Environ Med*, (67), 722-729.
- Peters S., Talaska G., Jonsson Bo A.G., Kromhout H. and Vermeulen R. (2008). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Exposure, Urinary Mutagenicity, and DNA Adducts in Rubber Manufacturing Workers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17(6).
- Tejs Sebastian. 2008. The Ames test: a methodological short review. *Environmental Biotechnology*, 4(1), 7-14.
- Tovalín H., Stranberg Bo. 2007. Efectos Cancerígenos y No-Cancerígenos por Exposición a Benceno y 1,3-Butadieno en Trabajadores y Población de la Ciudad de México. *Ciencia y Trabajo*, 9(6), 172-177.
- Simioli P, Lupi S, Gregorio P, Siwinska E, Mielzynska D, Clonfero E, Pavanello S. (2004). Non-smoking coke oven workers show an occupational PAH exposure-related increase in urinary mutagens. *Mutation Research*, 562, 103-110.
- Smolders R., Schramm K.W., Nickmilder M. and Schoeters G. (2009). Applicability of non-invasively collected matrices for human biomonitoring. *Environmental Health*, 8(8), 1-10.
- Snedeker Suzanne M. (2006). Chemical Exposures in the Workplace: Effect on Breast Cancer Risk Among Women. *American Association of Occupational Health Nurses*, 54(6), 270-279.
- Sorsa M., Falck K., Norppa H., Vainio H. (1981). Monitoring genotoxicity in the occupational environment. *Scand J Work Environ Health*, 7(4), 61-65.
- Varela S.D., Rampazo R.A. and Varanda E.A. (2008). Urinary Mutagenicity in Chemical Laboratory Workers Exposed to Solvents. *J. Occup Health*, 50, 415-422.
- Vermeulen R., Bos R.P., Pertijis J., Kromhout H. (2003). Exposure related mutagens in urine of rubber workers associated with inhalable particulate and dermal exposure. *Occup Environ Med*, 60, 97-103.
- Yamasaki E. and Ames B.N. (1977). Concentration of mutagens from urine by adsorption with the nonpolar resin XAD-2: Cigarette smokers have mutagenic urine (detecting carcinogens in urine or aqueous liquids/Salmonella test). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74(8), 3555-3559.