

Aductos de hemoglobina y micronúcleos en trabajadores hospitalarios expuesto a óxido de etileno. Venezuela.

Hemoglobin adducts and micronuclei in hospital workers exposed to ethylene oxide. Venezuela.

Exila Rivero ¹, Sofia Piñero ¹, Soraya González ¹, Luis De Sousa ¹, Maritza Rodríguez ¹, Emilia Barrio ², Victor Delgado ², Blanca Carrillo ¹, Harold Guevara. ¹

Resumen

El óxido de etileno (OE) es un cancerígeno genotóxico con habilidad para reaccionar con macromoléculas biológicas, como la Hemoglobina y Acido desoxirribonucleico (ADN), formando N-(2-hidroxiethyl)valina (HEV) y 7-(2-hidroxiethyl)-guanina (7-HEG) respectivamente, compuestos llamados aductos. Estudio descriptivo, cuyo propósito fue evaluar trabajadores del área de esterilización de un hospital público expuestos a OE, mediante la determinación de aductos de hemoglobina, micronúcleos en linfocitos (MN), tioeteres en orina y parámetros hematológicos. La muestra estuvo conformada por 10 individuos expuestos (GE) entre 24 y 56 años y 9 sujetos control (GC) con el mismo rango de edad de una universidad pública. El valor medio de N-(2-hidroxiethyl)valina (HEV) (pmol/g globina), en el GE fue $6758,5 \pm 4143,6$ y de $465,7 \pm 484,5$ en el GC ($p < 0,0001$), para MN x 1000 células, en el GE el valor medio fue de $4,8 \pm 2,5$ y de $0,7 \pm 0,8$ en el GC ($p < 0,0001$); Para la concentración de tioéter (mmolesSH/mol de creatinina), se obtuvo en el GE $38,5 \pm 22,6$ y en el GC $23,2 \pm 8,8$, encontrándose diferencias significativa al 5% ($p=0,04$), entre ambos grupos. Los parámetros hematológicos estudiados en GE y GC, puso en evidencia disminución de hemoglobina y hematocrito en el GE con una diferencia significativa entre las medias, de la hemoglobina ($p=0,03$) y en el hematocrito ($p=0,04$). Concluyéndose que los resultados son consistentes con algunos estudios previos de biomonitoreo ocupacional, demostrándose la importancia de disponer de una batería de biomarcadores en la evaluación de la exposición al OE.

Palabras Clave: Óxido de etileno/toxicidad, Riesgos Laborales, Factores de Riesgos, Salud Laboral.

Abstract

Ethylene oxide (EO) is a genotoxic carcinogen, able to react with biological macromolecules such as hemoglobin and deoxyribonucleic acid (DNA) to form N-(2-hydroxyethyl)valine (HEV) and 7-(2-hydroxyethyl)-guanine (7-HEG), respectively; these compounds are known as adducts. We evaluated biomarkers of effect and exposure workers from the central sterilization unit of a public hospital. The purpose of this descriptive study was to evaluate 10 EO-exposed employees (GE), ranging in age from 24 to 56 years, and 9 control workers from a public university (GC) of similar age. The mean value of N-(2-hydroxyethyl)valine (HEV)(pmol/mol globin) in the GE group was 6758.6 ± 4143.6 and 465.7 ± 484.5 in the GC group; for micronuclei (MN) in lymphocytes (MNx1000 cells), the mean value in GE was 4.8 ± 2.5 and for GC it was 0.7 ± 0.8 in GC ($p < 0,0001$). Thioether concentrations (mmoles SH/mol creatinine), were also significantly higher in GE (38.5 ± 22.6) than in GC (23.2 ± 8.8) ($p=0,04$). Standard hematological indices (hemoglobin and hematocrit) were lower in GE than in GC ($p=0.03$ and 0.04 , respectively). These results agreed with some prior occupational biomonitoring studies that demonstrate the importance of using biomarker batteries in the evaluation of exposure to EO.

Keywords: Ethylene oxide/toxicity, Occupational risks, Risk factors, Occupational health.

¹ Universidad de Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud. Unidad de Investigaciones en Toxicología Molecular (UTM). Modulo 5, Antiguo Psiquiátrico de Barbula, Naganagua, Estado Carabobo, Venezuela / Email: exilarivero@gmail.com.

² Universidad de Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud. Laboratorio de Parásitos Intestinales (Centro de BIOMOLP). Naganagua, Estado Carabobo, Venezuela.

Introducción

El óxido de etileno (OE), es un gas incoloro con olor dulce, ligeramente más pesado que el aire y puede extenderse a grandes distancias, es líquido por debajo de 10°C. Es peligrosamente reactivo, se polimeriza violentamente o se descompone cuando es expuesto a altas temperaturas o sustancias como ácidos y metales (Agency for Toxic Substances and Disease Registry Atlanta, ATSDR, 1990).

El OE es ampliamente usado como compuesto intermedio en la producción de compuestos químicos en la industria y una pequeña fracción del consumo total se utiliza como esterilizante de material médico quirúrgico sensible al calor y como fumigante debido a su poder biocida. Siendo un componente del humo del cigarrillo, se forma metabolitamente del etileno, peroxidación lipídica y otros procesos metabólicos endógenos del ser humano. Se estima que 224.000 trabajadores hospitalarios en Estados Unidos están expuestos al OE (Yong, Schulte, Wiencke, Boeniger, Connally, Walker, Whelan & Ward, 2001).

El OE es un agente electrofílico y debido a su reactividad química alquila macromoléculas biológicas tales como ADN y Hemoglobina (Hb), originando compuestos llamados aductos, como 7-(2-hidroxi-etil)-guanina (7-HEG) y la N-(2-hidroxi-etil)valina (HEV) respectivamente, estos son considerados como biomarcadores de efecto o de dosis efectiva. (Organización Mundial de la Salud, OMS, 1996; International Agency for Research on Cancer, IARC, 1994).

La reacción entre el OE con el glutatión (GSH), es considerado como una ruta común de eliminación de este compuesto, resultando en la excreción de cisteína conjugada, ácido premercapturico, ácido mercapturico y otros productos llamados tioéteres, los cuales son excretados por la bilis y orina. Este proceso de conjugación puede prevenir la unión de compuestos electrofílicos a las macromoléculas celulares, y representan un proceso de detoxificación en el organismo, los tioéteres se utilizan como biomarcadores de exposición al OE (Henderson, van Doorn, Leijdekkers & Bos, 1984). Un incremento de la excreción de tioéteres en orina también está asociado con la ingesta de rábano, calabacín, cebolla, comidas cosidas al carbón, vino rojo, entre otros y el hábito tabáquico. (Rosen, Snodgrass & Riggs, 1999).

La American Conference of Government Industrial Hygienist (ACGIH) establece un TWA de 1

ppm para la exposición al OE, la Occupational Safety and Health Administration (OSHA) tiene un valor límite de 1ppm, mientras que la National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) recomienda una exposición menor a 0,1 ppm con un valor techo TLVc de 5 ppm para tiempo de exposición máximo de 10 minutos por día. (Yong *et al.* 2001; WHO 2003; Boogaard, Rocchi & van Sittert, 1999).

Evidencias empíricas relacionadas con la exposición aguda al OE principalmente en estado gaseoso, establecen que causa irritación de las vías respiratorias superiores e inferiores, efectos sobre el sistema nervioso central que se manifiesta con dolor de cabeza, náuseas y vómitos. La exposición a 500 ppm (estimado) durante 2 o 3 minutos causó náuseas, mareo, inconsciencia y convulsiones, posteriormente, contracciones de los músculos, náuseas y cansancio se presentan a lo largo de las próximas 24 horas. La exposición a más de 700 ppm (se calcula que este valor es el umbral para la percepción olfativa del OE) durante un máximo de 30 minutos, produjo en los trabajadores expuestos, dolor de cabeza y diarrea, que desapareció en 70 horas. Además, irritación de la garganta, sequedad de la boca, comezón, mareos y debilidad, síntomas que desaparecieron durante un período de 21 días. Adicionalmente, exposiciones por encima de 700 ppm 4 horas/día durante 4 días, pueden desarrollar en personas expuestas cuadros de hiperreactividad bronquial. Exposiciones intermitentes a 700 ppm durante 2 a 8 semanas, puede producir neuropatía periférica, con dolor de cabeza, debilidad en las extremidades y ataxia (NIOSH, 1989a).

Los efectos a largo plazo debido a la exposición al OE se presentan a nivel del sistema nervioso, piel, vías respiratorias, ojo y efectos genotóxicos y carcinogénicos. Es importante acotar los efectos a largo plazo en el sistema nervioso, varios estudios con exposiciones en un rango de menos de 1 a 4,7 ppm (8 horas de duración media ponderada), con picos a corto plazo diarios de 250 a 700 ppm por un período de 0,5 a 20 años, reportaron neuropatía periférica como efecto más comúnmente observado. Los síntomas incluyen entumecimiento en los pies y los dedos, debilidad muscular en las extremidades inferiores y la reducción de coordinación mano-ojo. A nivel de la piel presentan dermatitis y puede provocar quemaduras por residuos en guantes, ropa o calzado que han sido esterilizados con OE. Adicionalmente, sensibilización de la piel, que puede inducir reacciones cutáneas alérgicas (NIOSH, 1989b).

Existen claras evidencias experimentales de la genotoxicidad y carcinogenicidad del OE, la International Agency for Research on Cancer (IARC, 1994), ha clasificado el OE como carcinógeno humano ubicado en el Grupo 1. Puede producir lesiones inducidas sobre el ADN y éstas suelen estar normalmente relacionadas con exposiciones crónicas a bajas dosis, las cuales pueden ser detectadas mediante técnicas citogenéticas, tales como: el intercambio de cromátidas hermanas (SCE), aberraciones cromosómicas (CA) y una de las más frecuentemente utilizada, la prueba de micronúcleos (MN) en linfocitos de sangre periférica. Estudios epidemiológicos han demostrado una asociación entre la exposición a este gas con daños hematológicos principalmente anemias, leucopenias, leucemias, y tumores sólidos como cáncer del estómago, abortos espontáneos y otros problemas reproductivos. Con base en evidencias como la naturaleza alquilante del OE, identificación de sus aductos de Hb y ADN, respuestas positivas a los ensayos mutagénicos in vivo, la demostración de su carcinogenicidad en animales y los hallazgos epidemiológicos, sugieren que este compuesto debe considerarse como un probable carcinógeno humano y sus niveles ambientales deben mantenerse tan bajos como sea posible (OMS, 1996; Boogaard, Rocchi & van Sittert, 1999; Shaham, Levi, Gurvich, Shain & Riback, 2000).

Entre los cambios hematológicos que han sido observados en trabajadores del área hospitalaria se encuentran la reducción de hemoglobina y hematocrito, incremento del porcentaje de linfocitos y reducción de neutrófilos, incremento de células rojas, monositos y eosinófilos y reducción de plaquetas (WHO, 2003).

Una medida de la inestabilidad genética inducida por compuestos genotóxicos como el OE es el incremento de micronúcleos. La técnica del recuento de micronúcleos o ensayo de MN como medida de daño cromosómico fue propuesta por primera vez por Countryman & Heddle en 1976, mejorada por Fenech & Morley en 1985, mediante el desarrollo de la técnica del bloqueo de la citocinesis, utilizando el agente químico denominado Citocalasina-B, el cual impide la citocinesis celular y como consecuencia se originan células binucleadas que han sufrido una sola división. Este ensayo es una alternativa al test de aberraciones cromosómicas y presenta una serie de características entre las que se destacan su validación universal y accesible tecnológicamente, útil para evaluar inestabili-

dad genética inducida por agentes genotóxicos. (Zalacain, Sierrasesúмага & Patiño, 2005).

En estudios anteriores se investigó el uso de óxido de etileno en centros de salud privados y públicos en el Estado Carabobo, resultando el uso de sterivac en un 50% en los públicos y 66,67% en los privados (Rivero, Piñero, González, Briceño, De Sousa, Bello, Moroño & Rivas, 2006), así como la evaluación de trabajadores de un hospital público en Valencia, Estado Carabobo, utilizando como biomarcador de exposición tioéteres en orina, encontrándose una correlación positiva considerable entre tioéter en orina y tiempo de exposición (Rivero, Piñero, De Sousa, González, Bello, Marrero & Leal, 2005). No obstante según la bibliografía consultada, son pocos los trabajos publicados al respecto en nuestro país.

Por otro lado, es importante destacar que en Venezuela el cáncer es la segunda causa de mortalidad a partir de la década de los ochenta del siglo pasado, hasta el presente, y al evaluar las causas de mortalidad por cáncer en la población venezolana por órganos y sistemas desde 1996 hasta 2005, encontramos que la primera causa es debido a cáncer en los órganos digestivos, seguido de los órganos respiratorio (Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, 1996; Ministerio de Salud y Desarrollo Social, 2000a, 2000b, 2000c, 2003a, 2003b, 2004, 2005a, 2005b; Ministerio de Salud, 2007).

Considerando, que las evidencias empíricas han demostrado una asociación entre la exposición al OE y la presencia de cáncer, la presente investigación tiene como propósito evaluar la exposición a OE mediante diferentes marcadores biológicos en trabajadores del área de esterilización de un hospital público en Valencia, Estado Carabobo.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal en el área de esterilización de un hospital público, de la ciudad de Valencia, Estado Carabobo, Venezuela. Se evaluaron todos los trabajadores, quienes firmaron un consentimiento informado para participar en el estudio, constituyendo el Grupo Estudio (GE) n=10 con jornadas laborales completas (8 horas) y Grupo Control (GC) n=9, trabajadores sin exposición conocida al OE, pertenecientes a áreas administrativas

de la Universidad de Carabobo; de ambos sexos con una antigüedad laboral mayor o igual a 6 meses, para ambos grupos. Los trabajadores negaron consumo de medicamentos, exámenes radiológicos y antecedentes personales de cáncer, resfriados, gripes y fiebre recientes; además, de alimentos asociados con el incremento de excreción de tioéteres.

La investigación comprendió una inspección ocular para recoger información referente al área física, métodos utilizados para la esterilización de material médico quirúrgico, número de turnos, método de almacenamiento del material después de la esterilización, días de esterilización, sistemas de ventilación local y general.

Antes de la recolección de las muestras de sangre y orina, cada sujeto completo un cuestionario con características demográficas; hábitos tabáquicos (cigarrillos, pipas, exposición pasiva al humo de cigarrillos) y los que refirieron hábitos alcohólicos, se incluyeron los que reseñaron ser abstemio y/o bebedores ocasionales (menor a 170 g/semana), tomando en cuenta la condición de no haber ingerido bebidas alcohólicas en las últimas dos (2) semanas; todo lo anterior de importancia para el desarrollo de la presente investigación; antecedentes ocupacionales y de salud; antigüedad laboral; uso de equipos de protección personal; signos y síntomas relacionados a la exposición ocupacional.

Como bioindicadores de exposición y efecto se determinó tioéteres urinarios, micronúcleos en linfocitos (MN), aductos de hemoglobina y el perfil hematológico. Para tal fin, se tomaron 25 ml. de sangre periférica de cada sujetos por venipuntura, una sola vez, al final de la semana y fueron recolectadas en tubos vacutainer heparinizados, cubiertos con papel aluminio, transportados en hielo hasta llegar al laboratorio y almacenados -20°C . La muestra de orina de aproximadamente 50 ml fue recolectada el mismo día de la muestra de sangre y se guardó a -20°C hasta su procesamiento.

Los aductos de hemoglobina (HEV), fueron determinados por el método de Edman modificado por Tornqvist, Mowrer, Jensen & Ehrenberg (1986) y Tornqvist (1994). El ensayo de MN fue realizado usando la técnica de Högstedt, Bergmark, Törnqvist y Osterman-Golkar (1990). Los parámetros hematológicos fueron evaluados a través de hematología completa

y plaquetas, se utilizó un automatizador multiparamétrico que utiliza la tecnología Cell-Dyn 1700. Los tioéteres urinarios fueron determinado usando el método descrito por Doorn, R., van Bos, R., Leijdekkers, Ch., Wagenaars-Zegers, M., Theuw, J. & Henderson, P. (1979) y Doorn, Leijdekkers, Henderson, Vanhoorne & Vertin (1981).

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS ver 12,0 para ambiente Windows. La información se presenta en cuadros de distribución de frecuencia, medidas de tendencia central como la media aritmética; medidas de dispersión como la desviación estándar y medidas de asociación de los diferentes resultados obtenidos en los análisis de laboratorio, así como algunas características de los GE y GC obtenidas en el instrumento utilizado.

En los casos apropiados se utilizó el test para el análisis de diferencias de medias de grupos independiente, a fin de medir la significación estadística. Debido a que las desviaciones estándar son muy altas y los valores no tienen una distribución normal se utilizaron las pruebas no paramétricas de Mann Whitney y la correlación de Spearman. Para el análisis de significancia estadística se utilizó un criterio de error menor a 5% ($P<0,05$).

Resultados

La inspección ocular de las áreas de esterilización reportó, que están constituida por cuatro zonas contiguas de trabajo que se comunicaban entre sí, la primera es para la preparación del material, luego dos espacios de esterilización (uno para el autoclave y en el otro se ubica el sterivac, que utiliza cartuchos de dosis única Steri-Gas) con concentración de 100% de OE, este se rompe automáticamente, solo con la puerta cerrada del equipo y cuando se haya alcanzado un completo vacío (NIOSH, 1989a). Es de acotar que, en este ambiente realizan la aireación y almacenamiento de material esterilizado, la cuarta zona constituye el área de lavado.

Las condiciones ambientales no eran las ideales al permanecer las ventanas cerradas y carecen de sistemas de ventilación local o general. Adicionalmente, la iluminación insuficiente y la temperatura se ubicaron por encima de 15°C y no se observó ducha ni lava-ojos para casos de emergencia. Además, los

procedimientos de esterilización con el sterivac los realizan dos (2) veces al día debido a que el hospital atiende un elevado número de pacientes. La edad de los trabajadores GE se distribuyó entre 24 a 34 años, 2 (20%), para el intervalo de edad entre 35 y 45 años 1(10%) y de 46 a 56 años 7(70%). Para el grupo GC los porcentajes respectivos fueron 3 (33,3%), 4 (44,5%) y 2 (22,2%). A pesar de las diferencias porcentuales entre los rangos de las edades de los dos grupos, no se encontró entre los promedios de edades (45,8 años para el GE y 39,3 años para el GC) una diferencia significativa ($p>0,05$), es decir mayor del 5% de

error de azar (Cuadro N° 1). En cuanto al género de los grupos estudiados, se determinó que en el GE el género femenino estuvo representado por 9 (90%) y en el control por 4 (44,4%), mientras que para el género masculino fueron 1 (10%) y 5 (55,6%) respectivamente, no se encontró asociación significativa ($p>0,05$). La antigüedad laboral en ambos grupos fue: para el GE entre 1 y 5 años 6 (60%) y el resto 40% para los de 6 a 10 años. El GC fue de 44,5% de 1 a 5 años, de 6 a 10 años 11,0% y de 10 años o más un 44,5%. Los promedios fueron respectivamente de 5,4 años y 10,0 años. No obstante, la diferencia a favor del grupo control no fue significativa ($p>0,05$). (Cuadro N° 1).

Cuadro N° 1. Estadísticas Descriptivas del Grupo de Control (GC).

Variables	Grupo	n	X±Ds	Rango	p	CUARTILES		
						25%	50%	75%
Edad (años)	Estudio	10	45,8 ± 10,9	24 -57	0,20	36,5	49,0	54,5
	Control	9	39,3 ± 10,1	25 - 57		29,5	40,0	46,0
Antigüedad (años)	Estudio	10	5,4 ± 3,2	1 - 10	0,14	2,75	5,0	8,5
	Control	9	10,0 ± 8,8	2 - 30		3,5	8,0	14,0

Fuente: Datos de la Investigación, 2008.

Del total de los trabajadores del GE, dos (2) son técnicos que se dedicaban al manejo del sterivac, seis (6) enfermeras, las cuales preparaban el material para esterilizar y almacenaje del mismo después de la aireación y entrega del material esterilizado y 2 camareras encargadas de la limpieza del área de esterilización. Al referirnos al grado de instrucción en el GE, 2 (20%) habían cursado grado universitario, 6 (60%) secundaria y 2 (20%) primaria. Con respecto a los cursos de capacitación específica en el área de esterilización realizados por los trabajadores del grupo estudio, solamente 2 (20%), de ellos refieren haber asistido a dichos cursos, entre los cuales mencionan: Procesos de esterilización y Actualización de esterilización.

En cuanto al uso de equipos de protección personal por el GE para evitar el riesgo de la exposición al OE, el 90% utiliza tapa boca, 80% gorro, 30% guantes, 10% respirador con cartucho específico para OE y un 10% emplea delantal. Cuando se investigaron las medidas de higiene de los trabajadores del GE, 7 de

ellos (70%) reportaron lavarse las manos al manipular material y bañarse al llegar a la casa y 3 (30%) solo se bañan al llegar a sus hogares. Al preguntar sobre el padecimiento de cáncer tanto en el GE y GC respondieron no haber padecido dicha enfermedad. El hábito tabáquico no estuvo presente en el GC, pero en el GE encontramos que 3 (30%) fumaban.

Se estudiaron las variables concentración de tioréter, MN en linfocitos y aductos de hemoglobina para el GE según el hábito tabáquico (Cuadro N° 2). A pesar de las diferencias entre los promedios para todas las variables, no se encontró diferencias significativas a un criterio de error menor a 5% ($p<0,05$). Por lo que, se evaluaron las variables referidas anteriormente con el perfil hematológico sin considerar el hábito tabáquico.

Los síntomas referidos por el GE relacionados con la exposición al OE fueron: irritación de la piel 60%; irritación de la nariz y mucosa 40%, mareos y dolor de cabeza 10%. El GC no refirió ninguna sintomatología.

Cuadro N° 2. Estadísticas Descriptivas del Grupo Expuesto (GE)

Grupo Expuesto				
Variables	Hábito tabáquico	n	X±Ds	P
Aductos de Hb pmol HE-Val/g globina	Fuma	3	8080,0 ± 4703,1	- 0,638 P< 0,54
	No Fuma	7	6192,1 ± 4139,3	
Micronúcleos en Linfocitos MN x 1000 célula	Fuma	3	5,0 ± 1,0	- 0,121 P< 0,90
	No Fuma	7	4,7 ± 3,1	
Concentración de Tioéter molesSH/molCreat	Fuma	3	41,8 ± 9,4	-0,136 P< 0,89
	No Fuma	7	39,5 ± 27,8	

Fuente: Datos de la Investigación, 2008.

En el Cuadro N° 3 se observa el valor medio y desviaciones estandar del GE y GC para los aductos de hemoglobina, micronúcleos en linfocitos, concentración de tioéter en orina y de los parámetros hematológicos. Con respecto a los valores de aductos en Hb (pmol HE-Val/g globina), se determinó que en el GE el valor medio y de desviación fue de 6758,5 ± 4143,6 y de 465,7 ± 484,5 en el GC; y para los MN en linfocitos (MN x 1000 células), se determinó que en el GE el valor medio y de desviación fue de 4,8 ± 2,5 y de 0,7 ± 0,8 en el GC; no perteneciendo las dos series de valores tanto para los aductos de hemoglobina como para los micronúcleos de glóbulos blancos a una misma distribución, presentaron una diferencia significativa ($p < 0,0001$ en ambas variables para ambos grupos). Para la concentración de tioéter (mmolesSH/mol), se obtuvo en el GE 38,5 ± 22,6 como media y desviación estándar respectivamente y en el GC 23,2 ± 8,8, encontrándose diferencias significativa al 5% ($p < 0,05$), entre ambos grupos.

Con relación al perfil hematológico, Hb y Hcto en el GE el 30% se situó por debajo de los valores referenciales, el resto (70%) y todo el GC se ubicó dentro de los parámetros normales. El 50% de los valores de CHCM para el GE se ubicó por debajo de los valores referenciales, el resto junto con el GC dentro de parámetros normales. En cuanto a los linfocitos y segmentados, el 22,2% del GE presentaron valores por encima de los referenciales, resto dentro de parámetros normales. En cuanto a los eosinófilos, el 10% del GE presentó valores por encima de los parámetros referenciales. El resto del perfil hematológico estuvo dentro de los límites de los valores referenciales.

El valor medio y la desviación estándar de la hemoglobina se presenta en el Cuadro N° 3 para el GE,

el cual fue 12,4 ± 2,0 g/dl, siendo en el GC de 14,4 ± 1,6 g/dl, encontrándose una diferencia significativa ($p < 0,05$). En cuanto al valor medio de hematocrito se determinó que para el GE fue de 38,3 ± 5,7 %, siendo el otro grupo investigado de 43,6% ± 4,5%; hubo una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre ambos valores medios. Con relación al parámetro CHCM en el GE la media y desviación estándar fue de 32,0 ± 0,9 g/dl, y en el GC de 33,0 ± 0,4 g/dl, hallándose una diferencia significativa ($p < 0,05$). El valor medio y de desviación estándar del número (en millones) de glóbulos rojos en el GE fue 4,48 ± 0,4 M/ μ l, siendo en el GC de 4,896 ± 0,3 M/ μ l, mostrando diferencia significativa ($P < 0,05$). Por otra parte, el valor medio y de desviación estándar del número (en miles) de glóbulos blancos en el GE fue 7,8 ± 2,1 cel x mm³, siendo en el GC de 7,300 ± 1,986 cel x mm³, no presentando diferencia significativa ($p > 0,05$).

Con relación al conjunto de células que conforman los glóbulos blancos se encontró que el valor medio y desviación estándar de los linfocitos en el GE fue de 37,3 ± 7,2% y el GC de 29,1 ± 9,7%, presentando una diferencia significativa entre los dos grupos. En cuanto a los segmentados, los valores fueron para el GE y GC de 57,3 ± 7,2% y 62,7 ± 9,1%, aunque hay una diferencia ésta no fue significativa ($p > 0,05$). Para los monocitos, el valor medio y de desviación estándar fue de 2,3 ± 1,2% en GE y de 5,7 ± 1,4% para el GC, encontrándose que los valores de ambos grupos presentan diferencia significativa según la prueba de Mann Whitney U. Finalmente en los eosinófilos, los valores medios y desviación fueron 2,6 ± 1,9% y 2,0 ± 1,8%, para los GE y GC respectivamente, perteneciendo las dos series de valores a una misma distribución, por lo que no hay diferencia significativa ($p > 0,05$).

Cuadro N° 3. Valor medio y desviaciones estándar del GE y GC para los aductos de hemoglobina, micronúcleos en linfocitos, concentración de tioéter en orina y de los parámetros hematológicos.

ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS					CUARTILES			
VARIABLES	Grupo	n	X±Ds	Rango	p	25%	50%	75%
Aductos de Hemoglobina (pmol HE-Val/g globina)*								
	Estudio	10	6758,5 ± 4143,6	2366 - 13578	0,0001	2953,2	5725,0	10389,0
	Control	9	465,7 ± 484,5	0 - 1327		0,0	616	774,5
Micronúcleos en linfocitos (MN x 1000 células)*								
	Estudio	10	4,8 ± 2,5	2 - 10	0,0001	3,3	4,0	6,5
	Control	9	0,7 ± 0,8	0 - 2		0,0	0,2	1,5
Concentración de Tioéter (mmolesSH/mol)*								
	Estudio	10	40,1 ± 23,2	20 - 99,85	0,04	24,6	36,1	44,7
	Control	9	23,2 ± 8,8	10 - 34		14,6	24,1	32,0
Hemoglobina (g/dl)								
	Estudio	10	12,4 ± 2,0	8,2 - 15,6	0,03	11,6	12,2	13,5
	Control	9	14,4 ± 1,6	12,8 - 16,6		12,8	14,4	16,3
Hematocrito (%)								
	Estudio	10	38,3 ± 5,7	26,8 - 47,1	0,04	35,7	38,0	41,9
	Control	9	43,6 ± 4,5	38,8 - 50,0		39,0	43,0	48,8
CHCM (g/dl)								
	Estudio	10	32,0 ± 0,9	30,6 - 33,8	0,005	31,4	32,0	32,5
	Control	9	33,0 ± 0,4	32,4 - 33,8		32,9	33,0	33,3
Glóbulos Rojos x106 (M/μl)								
	Estudio	10	4,48 ± 0,4	3,8 - 5,2	0,04	3,9	4,4	4,8
	Control	9	4,89 ± 0,3	4,4 - 5,4		4,6	4,6	5,2
Glóbulo Blanco x103 (cel x mm3)								
	Estudio	10	7,8 ± 2,1	5,6 - 11,0	0,57	5,9	6,9	10,1
	Control	9	7,3 ± 1,9	3,8 - 9,5		6,0	6,9	9,4
Linfocitos (%)								
	Estudio	10	37,3 ± 7,2	24 - 47	0,05	32,7	36,5	30,0
	Control	9	29,1 ± 9,7	15 - 45		20,0	44,7	35,0
Segmentados (%)								
	Estudio	10	57,3 ± 7,2	47 - 72	0,16	51,7	56,5	62,0
	Control	9	62,7 ± 9,1	46 - 74		57,0	62,0	71,0
Monocitos (%)*								
	Estudio	10	2,3 ± 1,2	0 - 4	0,001	1,7	2,0	3,2
	control	9	5,7 ± 1,4	4 - 8		4,5	6,0	7,0
Eosinófilos (%)								
	Estudio	10	2,6 ± 1,9	0 - 7	0,49	1,7	2,0	3,2
	Control	9	2,0 ± 1,8	0 - 4		0,0	2,0	4,0

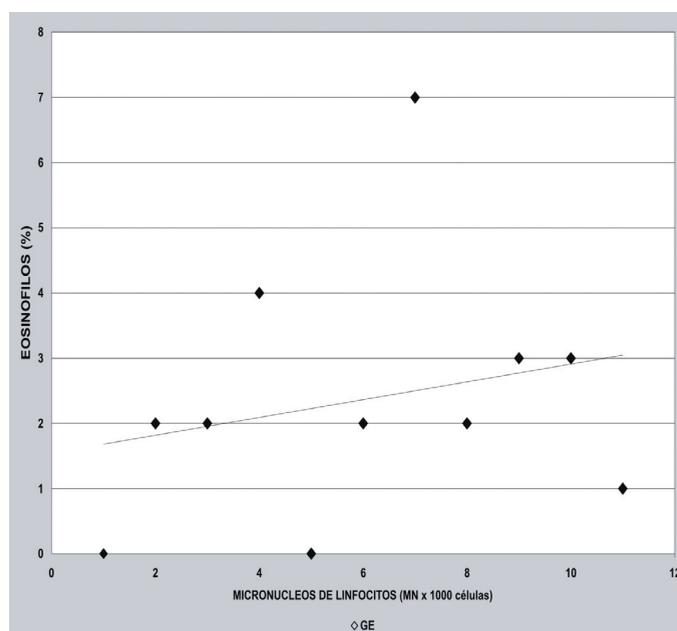
Fuente: Datos de la Investigación, 2008.

* Se utilizó prueba de la U de Mann Whitney para comparar los promedios, en el resto se realizó test para el análisis de diferencias de medias de grupos independientes.

Al realizar el coeficiente de correlación de Spearman (ρ) entre cada uno de los parámetros del perfil hematológico (Hb, Hcto, CHCM, glóbulos blancos, glóbulos rojos, linfocitos, segmentados, monocitos, y eosinófilos) con la concentración de tioéter, MN en linfocitos y aductos de hemoglobina respectivamente, tanto en GE como en el GC, no se

alcanzaron coeficientes de correlación de Spearman significativos, excepto, para los eosinófilos del GE con los MN en linfocitos con un ρ de 0,753 ($p < 0,05$). En el Grafico N° 1 se muestra el diagrama de dispersión de la correlación de los eosinófilos y MN en linfocitos, donde el % de eosinófilos aumenta al incrementarse los valores de MN.

Gráfico N° 1. Correlación entre eosinófilo y MN en linfocitos en el Grupo Expuesto (GE)



Fuente: Datos de la Investigación, 2008

Se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman para el GE y el GC, para las variables: MN de linfocitos, aductos de Hb y concentración de tioéter entre sí (Cuadro N° 4) no se obtuvieron coeficientes de correlación de Spearman significativos.

El Gráfico N° 2 muestra el diagrama de dispersión para las variables concentración de tioéter y MN

en linfocitos, donde no se evidencia correlación entre las dos variables, tanto en el GE como en el GC.

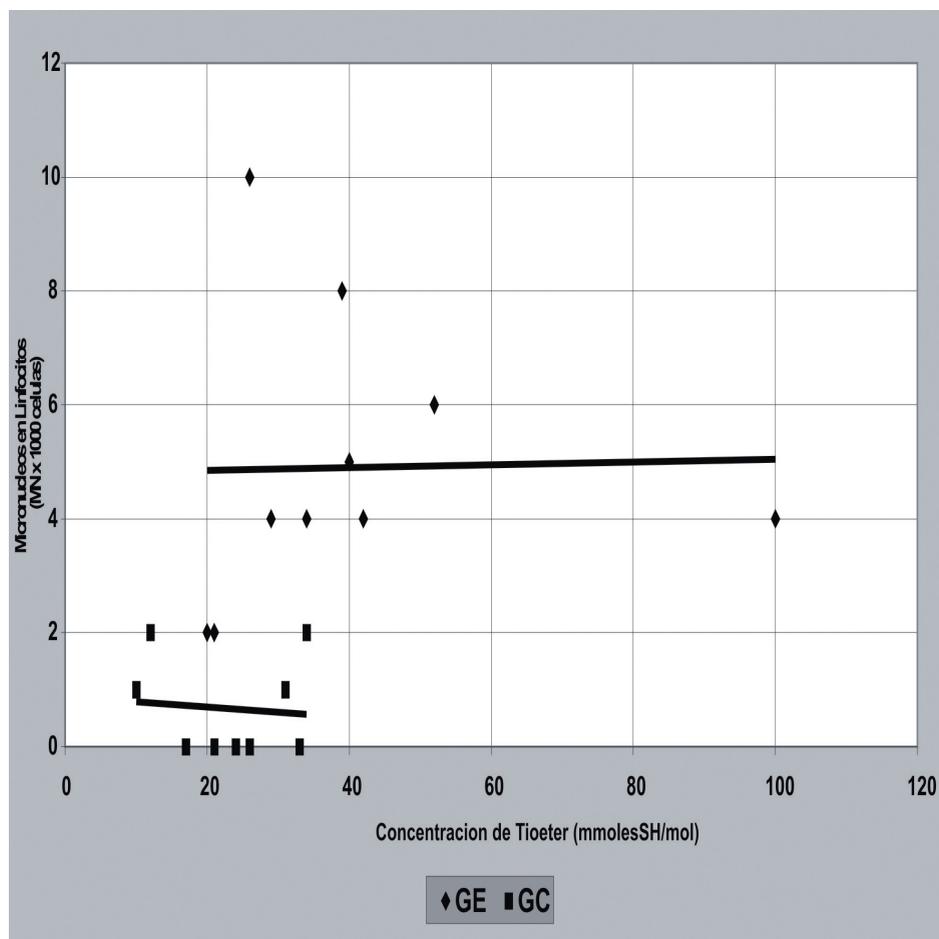
En Gráfico N° 3, se correlacionan los niveles de tioéter con los aductos de Hb en el GE y en el GC, observándose una correlación débil negativa en ambos casos, mientras los valores de aductos de Hb disminuyen, los valores de tioéter aumentan.

Cuadro N° 4. Coeficiente de correlación de Spearman (ρ) para las variables: Micronúcleos en linfocitos, Aduetos de Hemoglobina y Concentración de Tioéter, para el grupo estudio y control.

Variabes	Grupo	Aduetos de Hb pmol HE-Val/g globina	Grupo	Concentración de Tioéter mmolesSH/molcratinina
Micronúcleos en en linfocitos MN x 1000 célula	Estudio	- 0,460 P= 0,181	Estudio	0,411 P= 0,238
	Control	-0,237 P= 0,540	Control	0,145 P= 0,709
Concentración de Tioéter mmolesSH/mol	Estudio	- 0,442 P= 0,20	Estudio	1
	Control	- 0,296 P=0,439	Control	1

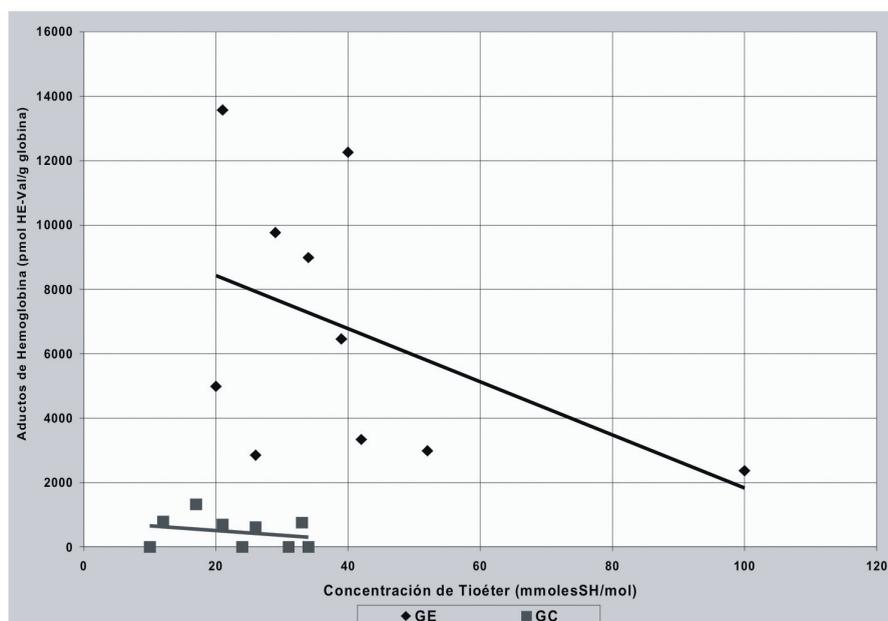
Fuente: Datos de la Investigación, 2008

Gráfico N° 2. Correlación entre MN en linfocitos y concentración de tioéteres en orina en ambos grupos.



Fuente: Datos de la Investigación, 2008

Gráfico N° 3. Correlación entre MN en linfocitos y concentración de tioéteres en orina en ambos grupos.



Fuente: Datos de la Investigación, 2008

Discusión

Los síntomas referidos por los sujetos del GE (irritación de la piel en un 60%; irritación de la nariz y mucosa un 40% y mareos y dolor de cabeza en un 10%), ciertamente son los reseñados en la literatura, como los efectos dermatológicos después del contacto cutáneo y de ser inhalado el OE, no dejando a un lado los efectos sobre el sistema nervioso central, los cuales fueron referidos también por los sujetos en estudio (Yong *et al.* 2001). Esta situación puede ser debida al uso de equipo de protección no apropiados, según lo reportado en esta investigación los equipos no se corresponde con los recomendados en la literatura, tales como: Mascaras con filtros para gases, guantes de gomas de nitrilo o butilo y ropa protectora del cuerpo (bragas) entre otros (NIOSH, 1989; Norma COVENIN N° 2843, 1991), por lo tanto los trabajadores tienen la posibilidad de una absorción del OE por vía respiratoria y dérmica, debido a la deficiente protección personal, sumado a esto, sólo 2 de ellos, habían realizado cursos de capacitación específica en el área de esterilización. Aunado a lo anterior, se observa una disposición inadecuada de los desechos tóxicos (cartuchos vacíos de OE), al encontrarse en la misma área de esterilización, la cual carecía de sistemas de ventilación ambiental adecuado y sistemas de alarma que permitan detectar fallas en el funcionamiento de los sistemas de ventilación.

Los parámetros hematológicos estudiados en GE y GC, puso en evidencias disminución de hemoglobina y hematocrito en el GE con una diferencia significativa entre las medias, de la hemoglobina ($p < 0,05$) y en el hematocrito ($p < 0,05$), (Cuadro 3) esto coincide con lo referido por Schulte, Walter, Boeniger, Tsuchiya & Halperin (1995). También se presentó una diferencia significativa con los linfocitos ($p < 0,05$); a diferencia de los segmentados en la cual no fue estadísticamente significativo en nuestro estudio, entre el GE y el GC. De igual manera la linfocitosis esta presente en los estudios realizados por LaMontagne, Christiani & Kelsey (1993), dicho estudio fue realizado en 36 trabajadores del área de esterilización de un hospital de Massachussets por un período de 5 años, ellos fundamentan que la linfocitosis absoluta está asociada con una sobre exposición al OE. Sin embargo, concluyen que la utilización del diferencial leucocitario no debe ser usado para screening en bajas exposiciones de OE, ya que ésta se presenta cuando la exposición es aguda y existe sintomatología debida a la exposición. Por el contrario Shaham, Levi, Gurvich, Shain & Riback, (2000) en un estudio de trabajadores del área de esterilización en un hospital Israelí, no encontraron diferencias significativas para la serie blanca, excepto para los monocitos y eosinófilos entre los grupos estudiados. En este estudio, no obstante, se encontró una diferencia significativa entre las medias de los monocitos ($p < 0,001$) en ambos grupos (GE y

GC); mientras que en otra investigación llevada a cabo por Van Sitter, de Jong, Clare, Davies, Dean, Wren, & Wright. (1985), no observaron cambios hematológicos en 36 trabajadores de una planta de manufactura de OE. Todo lo anterior, sugiere que los análisis hematológicos deben ser usados con cautela y conjuntamente con otros biomarcadores de efecto que refuercen cualquier cambio producido por el óxido de etileno; así mismo, Fujishiro, Mori & Inoue (1990), en un estudio sobre animales expuestos al OE, observaron un decrecimiento con significancia estadística de Hb y Hto.

Los MN en linfocitos refleja aberraciones cromosómicas producidas entre otras causas por agentes genotóxicos como lo es el OE. Los resultados de nuestro investigación arrojan un incremento significativo ($p < 0,0001$) de MN entre el GE cuyo valor promedio es de 4,8 en comparación con el control 0,7 (ver Cuadro N° 3). La técnica analítica de los MN está considerada como un ensayo universalmente validado para evaluar inestabilidad genética (Zalacain, Sierrasesúмага & Patiño, 2005). Los resultados obtenidos en esta investigación, coinciden con los obtenidos por Högstedt, Bergmark, Törnqvist & Osterman-Golkar (1990) donde encontraron un valor promedio de 5,4 en trabajadores del área de esterilización los cuales también mostraron una alta significancia ($p = 0,0004$). Ribeiro, Salvadori, Rios, Costa, Tates, Törnqvist & Natarajan (1994) detectaron una alta significancia de la presencia de micronúcleos debida a la exposición al OE comparadas con grupo control ($p < 0,001$), esta diferencia también fue mostrada por Tates, Grummt, Törnqvist, Farmer, van Dam, van Mossel, Schoemaker, Osterman-Golkar, Uebel, Tang, et al (1991). Un aspecto importante a resaltar en la presente investigación y no evaluado en los estudios referidos con anterioridad, es el hecho de la diferencia significativa entre los MN en linfocitos con los eosinófilos del GE con un rho de 0,753 ($p < 0,05$),

El Cuadro N° 5 muestra una revisión bibliográfica relacionada con la presencia de aductos en trabajadores expuesto al OE y en población general, para un período comprendido entre 1986-2004. En dicha revisión se evidencia una constante, que al igual que en el presente estudio, al detectar que los valores medios de aductos de HEV en las áreas de esterilización son los más elevados, exceptuando el trabajo de Mayer, Warburton, Jeffrey, Pero, Walles, Andrews, Toor, Latriano, *et al.* (1991). La parte similar de ese trabajo con nuestro estudio, es el hecho de que GE con hábito tabaquico, presentó valores medios más elevados que aquellos que no refirieron el hábito, sin embargo la diferencia no fue estadísticamente significativa. La exposición ocupacional al OE en las áreas de esterilización, sin duda que genera valores más elevados de aductos de hemoglobina, por lo tanto, las condiciones laborales y la vigilancia epidemiológica, debería ser más estricta, según los resultados de la revisión bibliográfica.

Cuadro N° 5. Referencias Bibliográficas relacionadas a la exposición de OE y niveles de Aductos de HB.

Referencia/año	Área y/o tipo de exposición	Valores de Aductos de Hb en pmol HE-Val/g globina			
		Grupo Estudio	Grupo Estudio	Grupo Control	Grupo Control
		Fumadores X±DS (n)	No Fumadores X±DS (n)	Fumadores X±DS (n)	No Fumadores X±DS (n)
Tornqvist, Mowrer, Jensen & Ehrenberg. (1986)	Industrial	389±138 (11)* rango 217-690	58±25 (14)* rango 27-106		
Bailey, Brooks, Dollery, Farmer, Passingham, Sleightholm & Yates. (1988)	Industrial	200±113 (26)* rango 38-510	50±24 (24)* rango 22-106		
Mayer, Warburton, Jeffrey, Pero, Wallis, Andrews, Toor, Latriano, et al. (1991)	Área de esterilización	234,3±39,5 (9)*	138,7±12,2 (19)*	149,7±38,5 (4)*	45,3±3,1 (16)*
Sarto, Tornqvist, Tomalin, Bartolucci, Osterman-Golkar & Ehrenberg. (1991)	Industrial	148±114 (3)* rango 76-280	24±2 (4)* rango 21-26		
Tates, Grummt, Törnqvist, Farmer, van Dam, van Mossel, Schoemaker, Osterman-Golkar, Uebel, Tang, et al. (1991)	Área de esterilización	13200±2550 (7)** rango 1461-19913			
Tornqvist, Svartengren & Ericsson. (1992) Industrial	147±82 (10)* rango 50-355	16±7 (10)* rango 9-29			
Van Sitter & Van Vliet. (1994)	Industrial (1990)	Fumadores (12) 160 * rango 15-820	No Fumadores (16)	Fumadores (0) 30* rango 14-94	No Fumadores (22)
	Industrial (1992)	Fumadores (11) 463* rango 12-2340	No Fumadores (21)	Fumadores (9) 190* rango 118-274	No Fumadores (0)
Ribeiro, Salvadori, Rios, Costa, Tates, Törnqvist, Natarajan. (1994)	Industrial	Fumadores (1) 294±121* rango 79-492	No Fumadores (7)	Fumadores (1) 92±78 * rango 42-229	No Fumadores (4)
Bader, Lewalter & Angerer. (1995)	Población en general			171±93 (32)* rango 31-327	46±12 (37)* rango 19-64
Müller, Krämer, Angerer & Hallier. (1998)	Población en general			280 (6)* rango 234-471	50 (21)* rango 22-176
Boogaard, Rocchi & Van Sittert. (1999)	Industrial	46±17 (20)* rango 12-320			
Bono, Vincenti, Meineri, Pignata, Saglia, Giachino & Scursatone. (1999)	Población en general			59,4±52,8 (44)*	16,9±21 (74)*
Schettgen, Christoph, Angerer & Drexler. (2002)	Industrial	175 (38)* rango 27-1653	77 (24)* rango 16-2353	17 (10)* rango 9-150	
Wu, Chiang, Huang, Tseng, Chen, Kuo & Hsieh. (2004)	Población en general			204±151 (70)*	57±46 (78)*

* pmoles/g globina ** nmoles/g globina
Fuente: Datos de la Investigación, 2008

Cabe acotar que no todos los valores medios en la población en general (Müller, Krämer, Angerer & Hallier, 1998; Wu, Chiang, Huang, Tseng, Chen, Kuo & Hsieh, 2004) se ubicaron por debajo de los expuestos ocupacionalmente, como es el caso de cinco investigaciones en el área industrial (Boogaard, Rocchi & van Sittert, 1999; Bailey, Brooks, Dollery, Farmer, Pasingham, Sleightholm & Yates, 1988; Sarto, Tornqvist, Tomanin, Bartolucci, Osterman-Golkar & Ehrenberg, 1991; Schettgen, Christoph, Angerer & Drexler, 2002; Tornqvist, Svartengren & Ericsson, 1992) cuyos valores medios de aductos de HEV se situaron por debajo de los promedios de la población en general.

Esta situación, llevar a reflexionar respecto a la exposición de la población en general, ya que aún no estando presente el hábito tabáquico, los valores medios del grupo estudio no fumador, también se ubicaron por encima de casos de estudios con hábito tabáquico. Por otro lado, es importante resaltar, que el cigarrillo tiene un importante efecto sobre la formación del aductos HEV, puesto que cada cigarrillo contiene aproximadamente 5 µg de OE y otros agentes cancerígenos que pudieran formar este aducto. Es así como, Bono, Vincenti, Meineri, Pignata, Saglia, Giachino & Scursatone, E. (1999) en un estudio sobre individuos fumadores y no fumadores, encontraron una evidente relación entre el hábito tabáquico con altas concentraciones de HEV; a diferencia de nuestra investigación, donde no hubo significancia estadística entre hábito tabáquico y la formación de HEV. Sin embargo, como se refirió con anterioridad los valores medios en el GE con el hábito fueron más elevados. Otro estudio más recientes como el de Ogawa, Oyama, Isse, Yamaguchi, Murakami, Endo & Kawamoto (2006), concluyen que la determinación de HEV en la exposición de diferentes sustancias químicas, entre ellas el OE, fueron afectados por el cigarrillo.

Los valores medios de los aductos HEV en esta investigación resultaron más altos en el GE que en el GC con una $p < 0,0001$, esto se puede comparar con varias investigaciones, entre las cuales se destacan Schulte, Walker, Boeniger, Tsuchiya & Halperin (1995), donde estudia operadores de un esterilizador que empleaba OE y relacionó la exposición con una batería de test, como son: aductos de Hb, intercambio de cromátidas hermanas y micronúcleos, encontrando que los valores de HEV, se incrementaba con la exposición acumulativa de OE comparado con grupos no expuestos y en el caso de la cantidad de micronúcleos, no detectaron significancia estadística, situación contraria a nuestros resultados ($p < 0,0001$). Por su parte, Yong et al. (2001) al realizar un estudio de aductos de hemoglobina e intercambio de cromátidas hermanas en trabajadores de un hospital expuestos al OE, comparándolos con trabajadores no expuestos del mismo hospital, encontraron que la

exposición de OE fue asociada significativamente con los niveles de aductos de HEV, pero ajustando los resultados con los cigarrillos fumados.

El valor medio de la concentración de tioéteres en orina en el GE fue de $40,1 \pm 23,2$ mmoles de SH/mol de creatinina y el GC con una media de $23,2 \pm 8,8$ menor que en el GE (ver Cuadro N° 3). Como se ha afirmado anteriormente, el óxido de etileno al sufrir el proceso de metabolización forma un compuesto intermedio altamente reactivo y de vida media corta el cual puede reaccionar con el glutatión para originar compuestos que serán eliminado por orina (tioéteres). No obstante, no sólo la exposición al OE produce tioéteres, existen otros compuesto capaces de formarlos, tales como sustancias endógenas, productos de la dieta diaria, medicamentos, cigarrillo, químicos ambientales, entre otros, por esta causa el uso de los niveles de tioéteres no es un biomarcador específico para la exposición al OE, como otros tales como el perfil hematológico, micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas, aberraciones cromosómicas y aductos de ADN y hemoglobina, que al parecer son indicadores fidedignos, para evaluar la exposición al OE, sustentado además, en la determinación de OE en el microambiente laboral.

Los elevados valores de HEV encontrados en nuestro estudio y la dificultad para el monitoreo ambiental hizo imposible la correlación entre este biomarcador de dosis efectiva y la concentración de OE en el medio ambiente, la cual presumimos estaba por encima de los valores recomendados por la OSHA de 1 ppm (Young *et al*, 1991), debido a los resultados obtenidos, y a valores similares en las referencias bibliográficas consultadas con monitoreos ambientales por encima de lo permitido. Por tanto, es importante resaltar como se refirió anteriormente, que los trabajadores no utilizan los equipos de protección personal adecuados, adicionalmente, no existen sistemas de ventilación general o local, ni sensores específicos que pongan en evidencia la presencia de OE en el medio ambiente. Todo lo anterior pudo haber incrementado la exposición a este compuesto y de esta manera incidir en estos elevados niveles de HEV, MN de linfocitos, concentración de tioéter y los parámetros hematológicos reportados.

Conclusiones

- El Óxido de Etileno se utiliza como agente esterilizante de material médico quirúrgico sensible al calor, en el centro de salud estudiado 2 veces por día.
- Las áreas donde se realizan las actividades de esterilización del material médico quirúrgico no

cumplen con las normas establecidas por organismos internacionales y nacionales.

- La exposición se ve incrementada por la falta de medidas de protección personal adecuada, conocimiento del riesgo y control ambiental.

- No existen programas de vigilancia epidemiológica en el centro evaluado.

- Los valores promedios de aductos de hemoglobina, micronúcleos y tioéteres presentaron diferencia significativas para ambos grupos ($p < 0,05$), esta diferencia puede ser debida a la exposición al OE, coincidiendo estos resultados con valores obtenidos en otros estudios realizados en áreas de esterilización.

Recomendaciones

- Utilizar procesos confinados, cuando se utiliza el OE como agente esterilizante, sistemas de ventilación adecuados, no usar aire comprimido para llenado, descarga, o manejo del OE.

- El almacenamiento del óxido de etileno debe ser en una área a prueba de incendios, bien ventilada y de preferencia lejos de otras sustancias y a una temperatura de 10 a 15 °C.

- Todo trabajador expuesto debe estar dotado de equipo de protección personal adecuado, además este

dispositivo debe ser remplazado cada determinado tiempo según el tiempo de uso de los mismos.

- Se deben establecer programas de vigilancia epidemiológica que contemplen la educación del trabajador en relación a los efectos adversos, normas de higiene y seguridad para la manipulación segura del óxido de etileno, monitoreo ambiental y biológico, además de una buena disposición de los desechos tóxicos. Los trabajadores potencialmente expuestos al óxido de etileno deben someterse a un examen médico periódico que haga énfasis particular en los sistemas pulmonares, hematológico, neurológico y reproductivo así como a nivel ocular y piel.

Agradecimientos

Los autores expresamos nuestro agradecimiento especial a: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo (CDCH-UC), Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT) por la subvenciones a este proyecto; así como también, a las Autoridades del Hospital y a los trabajadores del área de esterilización quienes con su colaboración hicieron posible la realización del presente estudio, al Dept Environmental Sciences & Engineering, University of North Caroline at Chapel Hill, especialmente a Patricia B Upton, como también, a los trabajadores de nuestra Unidad que colaboraron directa o indirectamente en el mismo.

Referencias Bibliográficas

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry Atlanta. (1990). *Toxicological Profile for Ethylene oxide*. Atlanta: Division of Toxicology. Extraído el 16 de Junio, 2008 del sitio web: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp137.html>
- Bader, M., Lewalter, J., Angerer, J. (1995). Analysis of N-alkylated amino acids in human hemoglobin: evidence for elevated N-methylvaline levels in smokers. *Int Arch Occup Environ Health*, 67(4), 237-42.
- Bailey, E., Brooks, A., Dollery, C., Farmer, P., Passingham, B., Sleightholm, M. & Yates, D. (1988). Hydroxyethylvaline adduct formation in haemoglobin as a biological monitor of cigarette smoke intake. *Arch Toxicol*, 62(4), 247-53.
- Bono, R., Vincenti, M., Meineri, V., Pignata, C., Saglia, U., Giachino, O. & Scursatone, E. (1999). Formation of N-(2-Hydroxyethyl)valine Due to exposure to ethylene oxide via tobacco smoke: A risk factor for onset of cancer. *Environmental Research*, 81(1), 62-71.
- Boogaard, P., Rocchi, P. & van Sittert, N. (1999). Biomonitoring of exposure to ethylene oxide and propylene oxide by determination of hemoglobin adducts: correlations between airborne exposure and adduct levels. *Int Arch Occup Environ Health*, 72(3), 142-50.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales. (1991). *Esterilización con óxido de etileno* (Norma COVENIN, N° 2843-91). Caracas: Autor.
- Countryman, P. & Heddle, J. (1976). The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat Res*, 41(2-3), 321-32.
- Doorn, R., van Bos, R., Leijdekkers, Ch., Wagenaars-Zegers, M., Theuw, J. & Henderson, P. (1979).

Referencias Bibliográficas

- Thioethers concentration and mutagenicity of urine from cigarette smokers. *Int Arch Occup Environ Health*, 43(3), 159-66. Extraído el 14 de Mayo, 2008 del sitio web: <http://www.springerlink.com/content/p75165v164238931/>
- Fenech, M., Morley, A. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res*, 147(1-2), 29-36.
- Fujishiro, K., Mori, K. & Inoue, N. (1990). Chronic inhalation effects of ethylene oxide on porphyrin-heme metabolism. *Toxicology*, 61(1), 1-11.
- Henderson, P., van Doorn, R., Leijdekkers, C., Bos, R. (1984). Excretion of thioethers in urine after exposure to electrophilic chemicals. *IARC Sci Publ*, (59), 173-87.
- Högstedt, B., Bergmark, E., Törnqvist, M. & Osterman-Golkar, S. (1990). Chromosomal aberrations and micronuclei in lymphocytes in relation to alkylation of hemoglobin in workers exposed to ethylene oxide and propylene oxide. *Hereditas*, 113(2), 133-8.
- International Agency for Research on Cancer. (1994). *Some industrial chemicals*. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, N° 60). Lyon, FR: Autor. Extraído el 15 de Junio, 2008 del sitio web: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol60/index.php>
- LaMontagne, A., Christiani, D. & Kelsey, K. (1993). Utility of the complete blood count in routine medical surveillance for ethylene oxide exposure. *Am J Ind Med*, 24(2), 191-206.
- Mayer, J., Warburton, D., Jeffrey, A., Pero, R., Walles, S., Andrews, L., Toor, M., Latriano, L., et al. (1991). Biologic markers in ethylene oxide-exposed workers and controls. *Mutat Res*, 248(1), 163-76.
- Müller, M., Krämer, A., Angerer, J. & Hallier, E. (1998). Ethylene oxide-protein adduct formation in humans: influence of glutathione-S-transferase polymorphisms. *Int Arch Occup Environ Health*, 71(7), 499-502.
- National Institute for Occupational Safety and Health. (1989a). Ethylene Oxide Sterilizers in health Care Facilities - *Engineering Controls and Work Practices*. (Current Intelligence Bulletin, 52). Atlanta: NIOSH.
- NIOSH. (1989b). *Control Technology for Ethylene Oxide Sterilization in Hospitals*. (Publication No. 89-120). Atlanta: NIOSH. Extraído el 11 de agosto, 2008 del sitio web: <http://www.cdc.gov/niosh/89-120.html>
- Ogawa, M., Oyama, T., Isse, T., Yamaguchi, T., Murakami, T., Endo, Y. & Kawamoto, T. (2006). Hemoglobin adducts as a marker of exposure to chemical substances, especially PRTR class I designated chemical substances. *J Occup Health*, 48(5), 314-28.
- Organización Mundial de la Salud. Programa Internacional de Seguridad de las Sustancia Químicas. (1996). *Óxido de Etileno*. (Guía para la salud y la seguridad, N° 16). Metepec, MX: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Extraído el 16 de junio, 2008 del sitio web: <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacd/eco/005344.pdf>.
- Ribeiro, L., Salvadori, D., Rios, A., Costa, S., Tates, A., Törnqvist, M., Natarajan, A. (1994). Biological monitoring of workers occupationally exposed to ethylene oxide. *Mutat Res*. 313(1), 81-7.
- Rivero, E., Piñero, S., De Sousa, L., González, S., Bello, M., Marrero, Sh., Leal, A., Lugo, A. (2005). Correlación entre la concentración de tioéter en orina y la exposición al óxido de etileno en trabajadores del área de esterilización de un Centro Público Asistencial. *Informe Médico*. 7(10), 475-80.
- Rivero, E., Piñero, S., González, S., Briceño, A., De Sousa, L., Bello, M., Moroño, M. & Rivas, B. (2006). Frecuencia de uso de óxido de etileno en áreas de esterilización de centros asistenciales de Valencia y sus efectos a la salud. *Salus*, 10(3), 15-18.
- Rosen, P., Snodgrass, W., Riggs, M. (1999). Dietary effect on urinary Thioethers. *Arch Environ Health*, 54(6), 425-9.
- Sarto, F., Tornqvist, M., Tomanin, R., Bartolucci, G., Osterman-Golkar, S. & Ehrenberg, L. (1991). Studies of biological and chemical monitoring of low-level exposure to ethylene oxide. *Scand J Work Environ Health*, 17(1), 60-4.

Referencias Bibliográficas

- Schettgen, T., Christoph, H., Angerer, J. & Drexler, H. (2002). Hemoglobin adducts of ethylene oxide, propylene oxide, acrylonitrile and acrylamide-biomarkers in occupational and environmental medicine. *Toxicology Letters*, 134(1-3), 65-70.
- Schulte, P., Walker, J., Boeniger, M., Tsuchiya, Y. & Halperin, W. (1995). Molecular, cytogenetic and hematologic effects of ethylene oxide on female hospital workers. *JOEM*, 37(3), 313-20.
- Shaham, J., Levi, Z., Gurvich, R., Shain, R. & Ribak, J. (2000). Hematological changes in hospital workers due to chronic exposure to low levels of ethylene oxide. *JOEM*, 42(8), 843-50.
- Tates, A., Grummt, T., Törnqvist, M., Farmer, P., van Dam, F., van Mossel, H., Schoemaker, H., Osterman-Golkar, S., Uebel, C., Tang, Y, et al (1991). Biological and Chmical monitoring of occupational exposure to ethylene oxide. *Mutat Res*, 250(1-2), 483-97.
- Tornqvist, M. (1994). Epoxide adducts to N-terminal valine of hemoglobin. *Methods in Enzymol.* (231),650-7.
- Tornqvist, M., Mowrer, J., Jensen, S. & Ehrenberg, L. (1986). Monitoring of environmental cancer initiators through hemoglobin adducts by a modified Edman degradation method. *Anal Biochem*, 154(1), 255-66.
- Tornqvist, M., Svartengren, M. & Ericsson. C. (1992). Methylations in hemoglobin from monozygotic twins discordant for cigarette smoking: hereditary and tobacco-related factors. *Chem Biol Interac*, 82(1), 91-8.
- Van Sitter, N., de Jong, G., Clare, M., Davies, R., Dean, B., Wren, L. & Wright, A. (1985). Cytogenetic, immunological and haematological effect in workers in an ethylene oxide manufacturing plant. *Br J Ind Med*, 42(1), 19-26.
- Van Sitter, N. & Van Vliet, E. (1994). Monitoring occupational exposure to some industrial chemicals by determining hemoglobin adducts. *Clinical Chemistry*, 40 (7), 1472-75.
- Venezuela. Ministerio de Salud. (2007, Septiembre). *Anuario de Mortalidad 2005*. Caracas: MSDS. Extraído el 19 de Junio, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- Venezuela. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. (2000a, Julio). *Anuario de Mortalidad 1997*. Caracas: MSDS. Extraído el 16 de Junio, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- Venezuela. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. (2000b, Julio). *Anuario de Mortalidad 1998*. Caracas: MSDS. Extraído el 16 de Junio, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- Venezuela. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. (2000c, Agosto). *Anuario de Mortalidad 1999*. Caracas: MSDS. Extraído el 16 de Junio, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- Venezuela. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. (2003a, Septiembre). *Anuario de Mortalidad 2000*. Caracas: MSDS. Extraído el 16 de Junio, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- Venezuela. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. (2003b, Julio). *Anuario de Mortalidad 2001*. Caracas: MSDS. Extraído el 19 de Junio, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- Venezuela. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. (2004, Febrero). *Anuario de Mortalidad 2002*. Caracas: MSDS. Extraído el 19 de Junio, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- Venezuela. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. (2005a, Febrero). *Anuario de Mortalidad 2003*. Caracas: MSDS. Extraído el 19 de Junio, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msds/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- Venezuela. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. (2005b, Septiembre). *Anuario de Mortalidad 2004*. Caracas: MSDS.

Referencias Bibliográficas

- Extraído el 19 de Junio, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msd/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- Venezuela. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. (1997). *Anuario de Epidemiología y Estadística Vital 1996*. Caracas: MSAS. Extraído el 29 de Mayo, 2008 del sitio web: http://www.mpps.gob.ve/ms/direcciones_msd/Epidemiologia/Estadistica/Archivos/Anuarios.htm
- World Health. Organization. International Programme on Chemical Safety. (2003). *Ethylene oxide*. (Concise International Chemical Assessment, Document 54). Geneva: IPCS. Extraído el 16 de abril, 2008 del sitio web: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad54.htm>
- Wu, K., Chiang, S., Huang, T., Tseng, Y., Chen, Y., Kuo, H. & Hsieh, C. (2004). Formation of N-(2-Hydroxyethyl)valine in human hemoglobin-effect of lifestyle factors. *Mutat Res*, 559(1-2), 73-82.
- Yong, L., Schulte, P., Wiencke, J., Boeniger, M., Connally, L., Walker, J., Whelan, E. & Ward, E. (2001). Hemoglobin adducts and sister chromatid exchanges in hospital workers exposed to ethylene oxide: effects of glutathione S-transferase T1 and M1 genotypes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 10(5), 539-50. Extraído el 16 de abril, 2008 del sitio web: <http://cebp.aacrjournals.org/content/10/5/539.full>
- Zalacain, M., Sierrasesúмага, L. & Patiño, A. (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales Sis San Navarra*, 28(2), 153-298. Extraído el 22 de mayo, 2008 del sitio web: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1137-66272005000300007&script=sci_arttext

Fecha de recepción: 17 de Febrero del 2009
Fecha aceptación: 27 de Marzo del 2009