

Biomonitoreo de trabajadores expuestos a plaguicidas

Biomonitoring of workers exposed to pesticides

Ana Ilsa Lamadrid Boada^I, Ivonne Romero Aguilera^{II}, Jorge Ernesto González Mesa^{III}, Tania Mandina Cardoso^{IV}

^I Investigador agregado. Centro de protección e higiene de las radiaciones. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA). La Habana, Cuba.

^{II} Máster en Toxicología Experimental. Centro de Protección e Higiene de las Radiaciones. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA). La Habana, Cuba.

^{III} Máster en Toxicología Experimental. Aspirante a Investigador. Centro de Protección e Higiene de las Radiaciones. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA). La Habana, Cuba.

^{IV} Investigador agregado. Centro de Protección e Higiene de las Radiaciones. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA). La Habana, Cuba.

RESUMEN

Se realizó el biomonitoreo de los trabajadores de la planta formuladora de plaguicidas de Managua con el objetivo de conocer si la manipulación de plaguicidas, descritos como mutágenos químicos potenciales, había causado efecto genotóxico. Se estudió el daño primario al ADN mediante el ensayo cometa y el daño cromosómico mediante aberraciones cromosómicas en linfocitos y micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa bucal. Para los análisis de los datos se utilizaron el porcentaje de ADN en la cola, el porcentaje de células con aberraciones cromosómicas y el porcentaje de células con micronúcleos. Las frecuencias de aberraciones cromosómicas y de células con micronúcleos tanto en el grupo expuesto como en el grupo control se encuentran dentro del intervalo reportado para muestras de la población cubana. Los valores del porcentaje de ADN en la cola analizados por el ensayo cometa en el grupo expuesto no mostraron diferencias significativas antes y después de la jornada laboral. Los resultados analizados evidencian que la manipulación de plaguicidas por este grupo de trabajadores no ha inducido daño genético detectable por los métodos empleados.

Palabras clave: Biomonitoreo, plaguicidas, aberraciones cromosómicas, micronúcleos, ensayo cometa.

ABSTRACT

A biomonitoring of workers of the pesticide formulation plant from Managua municipality to know if the manipulation of pesticides described as potential chemical mutagens, had a genotoxic effect was carried out. The primary damage of DNA was studied by means of the comet assay and the chromosomal damage by chromosomal aberrations in lymphocytes and micronuclei in exfoliated cells of oral mucosa. For data analysis the DNA percentage in tail, the percentage of cells with chromosomal aberration and the percentage of cells with micronuclei were used. The frequency of chromosomal aberrations and of cells with micronuclei, both, in the exposed group and in the control one are within the interval reported for samples of Cuban population. The values of DNA percentage in tail, analyzed by comet assay in exposed group not showed significant differences before and after working day. The results analyzed demonstrate that manipulation of pesticides by this group of workers has not provoked any genetic damage perceptible by methods used.

Key words: Biomonitoring, pesticides, chromosomal aberrations, micronuclei, comet assay.

INTRODUCCIÓN

En la planta formuladora de plaguicidas del CPHR ubicada en el poblado de Managua laboran un grupo de trabajadores ocupacionalmente expuestos a plaguicidas (TOEP), cuyo control de salud se estaba realizando hasta el momento mediante el ensayo de colinesterasa, específico para detectar contaminación con plaguicidas. Este ensayo mide los niveles de la enzima acetilcolinesterasa cuya acción se inhibe cuando existen niveles elevados de exposición a organofosforados y carbamatos, pero no por los piretroides.

Los plaguicidas tienen efectos tóxicos variados sobre el hombre, asociados fundamentalmente a la naturaleza química del compuesto, la dosis y la vía de acceso al organismo entre otros factores, ellos van desde intoxicaciones agudas en casos de accidentes o suicidios, hasta intoxicaciones crónicas a bajas concentraciones a través de alimentos, agua y aire que pueden dañar el material genético dependiendo de la toxicidad del compuesto. Si el daño ocasionado no se repara correctamente se originan mutaciones que pueden conducir a enfermedades degenerativas que se manifiestan a largo plazo como el cáncer y los abortos espontáneos.^{1,2}

Los efectos genotóxicos son detectables mediante biomarcadores de exposición y daño, entre los que se encuentran el ensayo cometa, que detecta daño primario en el ácido desoxirribonucleico o ADN, el ensayo de aberraciones cromosómicas (AC) y el de micronúcleos (MN) en células exfoliadas de la mucosa bucal, estos dos últimos para la detección de daño cromosómico.³

Existen estudios epidemiológicos que relacionan una elevada frecuencia de AC con la elevación de la incidencia de cáncer en la población estudiada.⁴ De ahí su importancia como herramienta efectiva, no solo en evaluar el riesgo de los manipuladores de plaguicidas, sino también por su utilidad en la predicción de

enfermedades. En Cuba, en el Instituto de Salud de los Trabajadores, se han hecho varios estudios que tributan al mejoramiento de la vigilancia médica de trabajadores expuestos a plaguicidas. Entre los más recientes se encuentra el estudio de biomarcadores de inmunidad humoral como las inmunoglobulinas, se han hallado indicios de alteraciones en los expuestos pero con una actividad colinesterásica en sangre dentro de los valores normales.⁵ Otro estudio incluyó la evaluación de los lípidos y de la respuesta inmune humoral con el objetivo de analizar su validez para ser aplicados en los chequeos preempleo y periódicos⁶ y un tercero, realizado en un gran grupo de fumigadores de la campaña anti *Aedes aegypti*, arrojó que aproximadamente el 20 % de ellos presentó valores de la colinesterasa por debajo del límite permisible.⁷ Los autores sugieren considerar otros marcadores, que no excluyan los piretroides, como complemento en la evaluación de los trabajadores. En esta investigación nos propusimos utilizar biomarcadores citogenéticos para el biomonitoreo de los trabajadores de la planta de Managua, lo que permitirá conocer el posible daño genético ocasionado por la manipulación de plaguicidas y dará nuevos elementos para realizar la vigilancia de salud de los trabajadores expuestos a plaguicidas en Cuba.

MÉTODOS

Grupos de estudio: Se estudiaron los trabajadores de la planta de Managua vinculados directamente a la formulación de los plaguicidas (TOEP). Se seleccionó un grupo control con personas no expuestas a plaguicidas (TNE). En total se evaluaron 8 TOEP y 15 TNE. La edad promedio de los dos grupos osciló alrededor de los 40 años puesto que los individuos del grupo control se seleccionaron con edades similares a los TOEP. Los individuos que participaron en el estudio expresaron voluntariamente su consentimiento informado por escrito y se les aplicó una encuesta para conocer sus antecedentes patológicos, tratamientos con medicamentos, hábitos tóxicos e historia laboral, aspectos estos que pudieran resultar de interés en el análisis de los resultados.

Ensayos empleados:

1. Acetilcolinesterasa en sangre como biomarcador de exposición: Se realizó con una frecuencia trimestral según el método normado por el MINSAP.⁸ Los valores de referencia para hombres en la población cubana son los siguientes: 0,3950 ± 0,0275 (0,340-0,450).⁹
2. Aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica como ensayo de genotoxicidad: se realizaron los cultivos de linfocitos de 48 h según el método descrito en el Manual de Dosimetría Citogenética del Organismo Internacional de Energía Atómica, OIEA.¹⁰ Se analizaron 200 metafases con 46 centrómeros con un aumento de 1 000 X. Se registraron los dicéntricos, los anillos y los fragmentos acéntricos en exceso y la coordenada correspondiente.

A los TOEP se les realizó el muestreo para este indicador al finalizar la campaña productiva de cada año estudiado. Los TNE solamente se analizaron una vez.

3. Micronúcleos en células epiteliales de la mucosa bucal como ensayo de genotoxicidad: las muestras se obtuvieron friccionando el interior de las mejillas de cada individuo con un hisopo, sin tocar los dientes ni la lengua. Las células obtenidas por descamación se lavaron 3 veces en buffer EDTA pH 7 y se extendieron en portaobjetos. Todas las preparaciones se almacenaron a -20 °C

hasta su tinción y conteo. La tinción se realizó inmediatamente antes del recuento al microscopio. Para evitar los posibles artefactos a la hora del recuento, los MN fueron verificados con una solución específica del ADN: amidino-2-fenilindol dihidrocloruro (DAPI) o en su lugar naranja de acridina. Todas las muestras se analizaron por un único observador, en portaobjetos codificados, en un microscopio de fluorescencia (1 000 X). Se evaluaron 2 000 células mononucleadas por individuo, siguiendo los criterios de evaluación de MN sugeridos por Thomas.¹¹ Se registraron las células bucales mononucleadas con MN.

4. Ensayo cometa en linfocitos de sangre periférica como ensayo de gentoxicidad: Las muestras de sangre se tomaron mediante punción del dedo, se realizó el muestreo en la mañana, antes de comenzar el primer día de trabajo después de 15 días de vacaciones, y al día siguiente después de concluida la jornada laboral. Se mezclaron los linfocitos aislados en un gradiente de Ficoll con agarosa de bajo punto de fusión al 1 %, se extendieron en un portaobjetos con una capa fina de agarosa regular y se sometieron a lisis para exponer el material nuclear; se colocaron en un campo eléctrico de 31 V (1 V/cm) y 300 mA durante 30 min,¹² posteriormente se neutralizaron y se dejaron secar durante la noche. Se tiñeron con nitrato de plata¹³ y se midió el daño en el ADN. Por cada muestra se midieron 200 cometas utilizando el programa Casp-1.2.2 (<http://www.casp.of.pl/>) (figura 1). Los valores de daño en el ADN se reportaron como % de ADN en la cola.

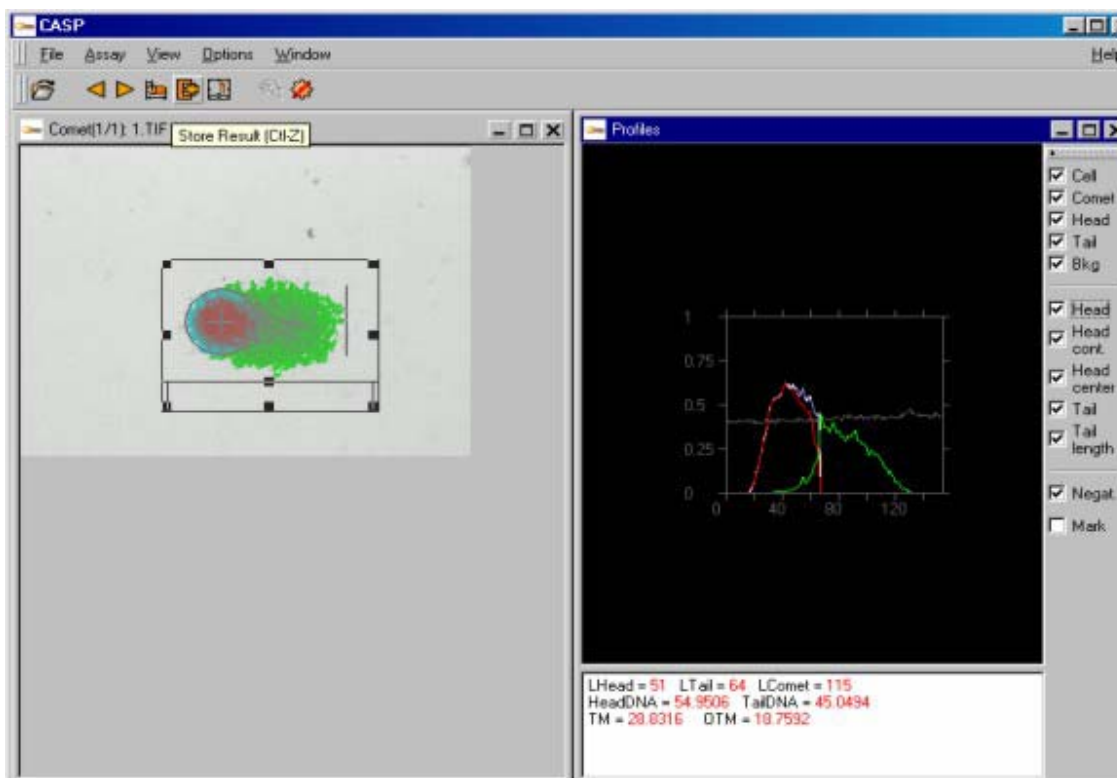


Fig. 1. Imagen de cometa medido con el programa Casp 1.2.2.

Pruebas estadísticas empleadas:

Se consideró al individuo como unidad experimental en todos los análisis estadísticos. Se empleó en el análisis el porcentaje de células con AC, el porcentaje de células con MN y el porcentaje de ADN en la cola de cada individuo. Se

comprobó si los datos se aproximaban a una distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las diferencias de las medias entre los grupos estudiados se evaluaron utilizando la prueba t de Student para muestras independientes. Las diferencias de las medias dentro del grupo de TOEP para el caso de las AC y los MN en células bucales se evaluaron utilizando la prueba t de Student pareada.

Las sustancias plaguicidas manipuladas por los TOEP durante los 2 años que duró la investigación fueron: temefos (nombre comercial: Abatex G₁ y G₂), cipermetrina (nombre comercial: Cipercede), diclorvos (nombre comercial: DDVP), lambda cialotrina, malatión, propoxur y clorpirifos (nombre comercial: Clorcide). Las cantidades de los productos formulados se relacionan en la tabla 1.

Tabla 1. Cantidad de plaguicidas en toneladas formulados por los TOEP en los años 2008 y 2009

Productos	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Total
2008													
Abatex G1	0	40	40	40	90	90	100	2	0	30	71	0	503
Abatex G2	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	10	5	55
Cipercede	10	6	18	9,1	9,1	0	0	4,1	4	0	0	20	80,3
DDVP	0	0	0	0	2	0	0	0	4	0	0	0	6
Lambda cialotrina	0	0	0	0	0	0	0	0,1	6	0	0	0	6,1
Malatión	6	0	13	15	0	0	0	5	0	0	0	10	49
Propuxur	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0	0	5
Clorcide	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2009													
Abatex G1	91	89	89	89	0	25	10	0	0	130	70	200	793
Abatex G2	10	8	22	20	0	0	0	0	0	0	0	0	60
Cipercede	10	0	10	2	0	0	0	0	11	5	11	20	69
DDVP	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
λ cialotrina	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6
Malatión	0	0	5	0	0	5	0	0	0	0	5	5	20
Propuxur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5
Clorcide	5	0	0	1,4	0	0	0	0	0,2	0	0	0	6,6

RESULTADOS

En la tabla 2 se muestran los resultados de los ensayos de AC y de MN como biomarcadores de daño genético en los grupos estudiados. Las AC de los TOEP durante el primer muestreo tuvieron un valor de 1,75 % de células con AC y de 0,80 % durante el segundo muestreo, valores que no difieren significativamente entre sí empleando la prueba t de Student pareada ($p > 0,05$). El porcentaje de células con AC de los no expuestos fue 0,76 % para el primero y el segundo muestreo. Sin embargo, los resultados de AC analizados individualmente mostraron a 2 TOEP por encima de los valores de referencia, los valores fueron 2,5 % y 5,6 % respectivamente después del primer año de estudio. Esas cifras disminuyeron a 1,0 % y 2,8 % respectivamente después del segundo año de estudio.

Tabla 2. Edad promedio, años de trabajo y resumen de resultados del ensayo de aberraciones cromosómicas (AC) y el de micronúcleos (MN) de los sujetos en ambos grupos de estudio

	Edad (media±DE)	Años de trabajo con plaguicidas (media±DE)	% AC (mín-máx)		% MN (mín-máx)	
			1er. muestreo	2do. muestreo	1er. muestreo	2do. muestreo
TOEP	44 ± 15	7,6 ± 6	1,75	0,8	0,09	0,11
			(0,00-5,60)	(0,00-2,80)	(0,05-0,15)	(0,05-0,20)
TNE	38 ± 9	---	0,75	---	0,11	---
			(0,00-1,00)		(0,00-0,20)	

La producción de plaguicidas fue mayor en el segundo año de estudio como se observó en la tabla 1. Sin embargo, se produjo en el primer año más Malatión, uno de los plaguicidas más tóxicos manipulados por los trabajadores (Fig. 2). Los porcentajes de células con MN de los TOEP tampoco fueron diferentes significativamente ($p > 0,05$) entre el primer muestreo: 0,09 % y el segundo muestreo: 0,11 %; ni con el valor de 0,11 % obtenido para los controles. Ninguno de los sujetos estudiados presentó valores elevados al analizar estas frecuencias de manera individual.

En la figura 3 se muestran los valores de porcentaje de ADN en la cola obtenidos con el ensayo cometa. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (prueba t; $p > 0,05$) entre los TOEP y los TNE antes de comenzar la jornada laboral, y sí cuando las muestras fueron tomadas al finalizar la jornada laboral.

Los valores de la actividad colinesterásica sanguínea en los trabajadores expuestos, durante los 2 años del estudio, se mantuvieron dentro del valor de referencia para la media poblacional cubana (0,340-0,450) (9).

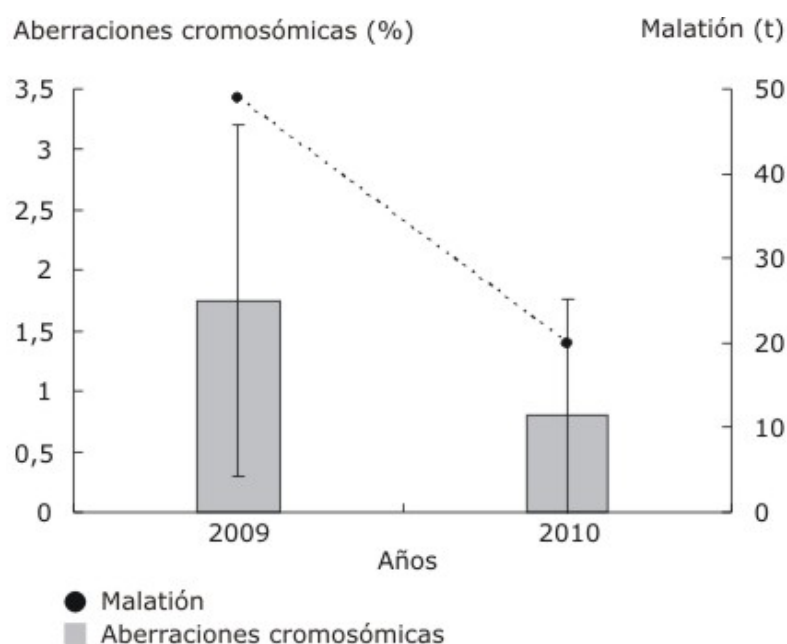


Fig. 2. Representación de los valores medios de porcentaje de células con aberraciones cromosómicas y sus respectivas desviaciones estándar, y los valores de malatión producidos en el año anterior a la toma de muestra.

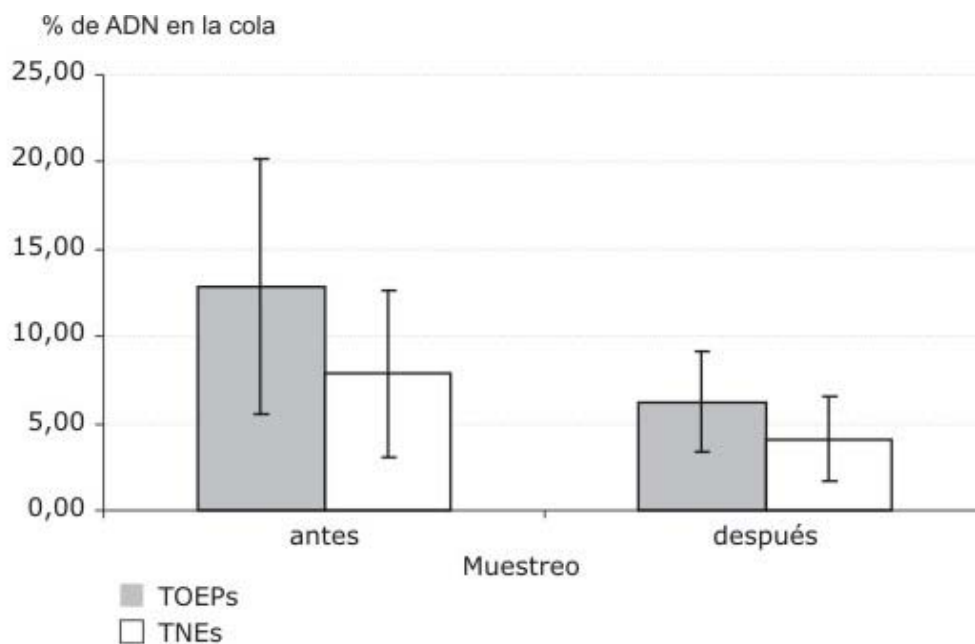


Fig. 3. Valores de porcentaje de ADN en la cola tanto de los TOEPs y de los TNEs con sus respectivas desviaciones estándares en los diferentes momentos de toma de muestra, antes y después de la jornada laboral.

DISCUSIÓN

En los alrededores de la Planta existe una abundante y variada vegetación y diversas poblaciones de insectos y aves, lo que habla a favor de que no se libera al medio ambiente una cantidad de plaguicidas que pueda resultar tóxica para las especies que allí habitan. El 50 % de los TOEP analizados en nuestro estudio afirma utilizar los medios de protección durante más del 75 % de las veces y el resto entre el 25 y el 75 %.

Las AC en linfocitos de sangre periférica pueden observarse durante el tiempo de vida media de los linfocitos, entre 12 y 18 meses, dependiendo del tipo de linfocito, por ello el muestreo con este indicador se realizó al finalizar la campaña productiva de cada año de estudio.

Las frecuencias de grupo observadas tanto en los TOEP en el primero y el segundo muestreos (1,75 % y 0,80 % respectivamente), como en los TNE (0,76 %) se encuentran dentro del intervalo reportado para muestras de la población cubana que es de 0 a 2 aberraciones por cada 100 células analizadas, es decir entre 0 y 2 %, ^{14,15} y de la frecuencia obtenida en nuestro laboratorio con sujetos controles.

El ensayo de MN en las células exfoliadas de la mucosa bucal es capaz de detectar indirectamente roturas o pérdidas cromosómicas, al igual que las AC su permanencia depende del tiempo de vida de las células en el organismo que, para las células de la mucosa bucal es aproximadamente entre 1 y 3 sem, tiempo de migración de las células desde la capa basal hasta la superficie. Al analizar los porcentajes de células con MN de ambos grupos vemos que los valores (0,09 % y 0,11 %) estuvieron dentro del intervalo de 0,05 % a 0,25 % reportado en la literatura internacional para sujetos controles ¹⁶ y del reportado para muestras de la población cubana de 0 a 0,27 %. ¹⁷

El hallazgo de valores elevados de AC en 2 sujetos del grupo de expuestos no pudo atribuirse a ninguna enfermedad de los individuos según los datos de la encuesta, más aún, su disminución después del segundo año de estudio nos llevó a formular la hipótesis de que este incremento pudo estar asociado a los volúmenes de malatión manipulados en ese primer año, mayores que los manipulados en el segundo año, hecho no detectable mediante el ensayo de MN debido al rápido recambio de las células de la mucosa bucal como se dijo anteriormente.

Sin embargo, atribuir el incremento de las AC en uno de los sujetos a una sensibilidad intrínseca o deficiencia en los mecanismos de reparación, no parece posible pues los valores disminuyeron significativamente a los reportados para la población cubana un año después. Con el otro sujeto no podemos decir lo mismo porque la cifra disminuyó considerablemente pero no por debajo del nivel de las muestras de la población cubana estudiada. ^{14,15}

Un indicio de una posible exposición puntual (no de todo el grupo expuesto) previa al muestreo inicial es el resultado de las frecuencias iniciales de células bucales con MN en estos individuos, que no mostró diferencias con el grupo control de este estudio ni con muestras de la población cubana estudiadas anteriormente. ¹⁷ Es conocido el mecanismo de acción (alquilación) del malatión y su metabolito principal sobre el ADN y existen evidencias de genotoxicidad en los estudios de daño cromosómico *in vitro* e *in vivo* y de inducción de mutaciones en locus HPRT, sin embargo, atribuir el incremento a una mayor exposición al Malatión resulta difícil y riesgoso, en primer lugar porque no existen mediciones de contaminación interna y en segundo lugar porque los resultados publicados en la literatura de estudios *in vivo* son contradictorios. ¹⁸⁻²⁰

Los valores obtenidos de daño primario en el ADN para todas las muestras estuvieron en el rango de valores históricos promedio realizados en el laboratorio en personas sanas que pueden ser desde 0 hasta 80 UA, lo cual corresponde a valores entre 0 y 15 % de ADN en la cola (datos no mostrados) por lo que no fue posible detectar una asociación entre daño primario en el ADN y los niveles de producción de plaguicidas.

Al analizar los valores de la colinesterasa obtenidos en estudios realizados en este grupo de trabajadores desde el año 2005 hasta la fecha se observan valores normales sin diferencias significativas con la media de la población cubana, aunque se han hallado indicios de alteraciones en las inmunoglobulinas.⁵

Pudiera resultar interesante para el futuro la comparación de los resultados de la colinesterasa con el valor de base de cada trabajador obtenido previamente en el chequeo preempleo, en lugar de hacerlo con el valor de la población cubana no expuesta a plaguicidas. Esto fue propuesto en un estudio con fumigadores de la campaña anti *Aedes aegypti* en la Ciudad de la Habana considerando que había sobreexposición y por consiguiente riesgo de intoxicación, cuando las cifras de actividad enzimática fueran menores que el equivalente al 70 % del valor de base.⁷ Otros autores consideran normal una disminución de hasta el 20 %, aceptable la disminución hasta el umbral biológico del 30 % al 70 %, pero disminuciones mayores del 70 % implican riesgo tóxico con necesidad de tratamiento, estableciendo que, para la protección al trabajador debe separarse del puesto de trabajo cuando la disminución sea mayor del 30 % y el retorno cuando la cifra se recupere hasta un 80 % de su valor normal,¹ estos criterios se aplican en la vigilancia del estado de salud de los trabajadores de esta Planta.

Como conclusión puede decirse que la manipulación de plaguicidas no ha inducido niveles de daño genético en la población estudiada, detectables mediante el ensayo de AC en linfocitos de sangre periférica, el ensayo de MN en células epiteliales de descamación de la mucosa bucal o el ensayo cometa en su versión alcalina.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la AENTA/CITMA como parte del Proyecto No Asociado al programa Ramal Nuclear PNA1/1 2007.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dierksmeier G. Plaguicidas. Residuos, efectos y presencia en el medio. La Habana: Editorial científico Técnica; 2001.
2. Kirsch-Volders M, Radman M, Jeggo P, Verschaeve L. Molecular mechanisms of mutagenesis and carcinogenesis. En: Kirsch-Volders M (editor). Mutagenicity, Carcinogenicity and Teratogenicity of Industrial Pollutants. New York: Plenum Press; 1984.
3. Anwar WA. Biomarkers of human exposure to pesticides. Environ Health Perspect 1997;105 Suppl 4:801-6.

4. Hagmar L, Bonassi S, Stromberg U, Mikoczy Z, Lando C, Hansteen I-L, et al. Cancer predictive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs: a report from an ongoing study by the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Mutat Res.* 1998;405:171-8.
5. Rodríguez T, Borrego I, Pérez L, Castillo C. Determinación de inmunoglobulinas en obreros manipuladores de plaguicidas. *Rev Cubana de Salud y trabajo.* 2005;6(1):32-5.
6. Rojas D, Rodríguez T. Monitoreo biológico para aplicar a los trabajadores de una fábrica de plaguicidas. *Rev Cubana Hig Epidemiol.* 1998;36(3):179-84.
7. Ibarra EJ, González A, Díaz H, Jaime A, González RM, Guevara T, et al. Exposición a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa en fumigadores de la campaña anti *Aedes aegypti* en la Ciudad de la Habana de enero a marzo de 2002. *Rev Cubana de Salud y Trabajo.* 2002;3(1-2):51-4.
8. Ministerio de Salud Pública. Sistema de Normas de Protección e Higiene del Trabajo. Determinación de colinesterasa en sangre total. Análisis químico. Ciudad de La Habana: Comité Estatal de Normalización; 1983.
9. Symington R, Ibarra EJ, Rojas D, Pérez ME, Díaz O, Toriza N. Niveles normales de la actividad colinesterásica en sangre total en la población de las provincias de Ciudad de La Habana y La Habana no expuesta a plaguicidas organofosforados y(o) carbamatos. La Habana: Instituto de Medicina del Trabajo; 1978.
10. IAEA. Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment A Manual. TRS 405. pp. 27-34. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2001.
11. Thomas P, Harvey S, Gruner T, Fenech M. The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutat Res.* 2008;638:37-47.
12. García O, Mandina T, Lamadrid AI, Díaz A, Remigio A, González Y, et al. Sensitivity and variability on visual scoring comets. Results of the slide scoring exercise with the use of silver stained comets. *Mutat Res.* 2004;556:25-34.
13. García O, Romero I, González JE, Mandina T. Measurements of DNA damage on silver stained comets using free Internet software. *Mutat Res.* 2007;627:186-90.
14. Rojas A, Fernández SI. No increase in chromosome aberrations in workers from an oil catalytic cracking plant. *Mutat Res.* 1992;282:209-12.
15. Rendón A, Rojas A, Fernández SI, Pineda I. Increases in chromosome aberrations and in abnormal sperm morphology in rubber factory workers. *Mutat Res.* 1994; 323:151-7.
16. Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat Res.* 2008;659:93-108.
17. Díaz S, Fonseca G, Fernández I. Analysis of lymphocytes and oral mucosa cells micronuclei in Cuban paint industry workers. *Hereditas.* 1990;113:77-80.

18. Giri S, Prasad SB, Giri A, Sharma GD. Genotoxic effects of Malathion: an organophosphorus insecticide, using three mammalian bioassays in vivo. *Mutat Res.* 2002;514:223-31.
19. Titenko-Holland N, Windham G, Kolachana P. Genotoxicity of Malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay in vitro and in vivo: A study of Malathion exposed workers. *Mutat Res.* 1997;388:85-95.
20. Pluth JM, Nicklas JA, O'Neill JP, Albertini RJ. Increased frequency of specific genomic deletions resulting from in vitro Malathion exposure. *Cancer Res.* 1996;56:2393-9.

Recibido: 14 de enero de 2011.

Aprobado: 29 de enero de 2011.

Lic. *Ana Ilsa Lamadrid Boada*. Laboratorio de Radiobiología. Centro de Protección e Higiene de las Radiaciones. Calle 20 No. 4113 e/ 41 y 43, Playa. CP 11300, Apdo. 6196. La Habana, Cuba. Teléf: (537)682-9571, Fax: (537)682-9573. Correo electrónico: ana@cphr.edu.cu; <http://www.cphr.edu.cu>