



Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

**Biomonitoramento genético de agricultores
expostos a pesticidas nos municípios de Tianguá
e Ubajara – Ceará.**

Jean Carlos Gomes Paiva

Fortaleza–CE

2011



Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

BIOMONITORAMENTO GENÉTICO DE AGRICULTORES EXPOSTOS A PESTICIDAS NOS MUNICÍPIOS DE TIANGUÁ E UBAJARA – CEARÁ.

Tese submetida à Coordenação da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientando: Jean Carlos Gomes Paiva

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cláudia do Ó Pessoa

Fortaleza – CE

Agosto, 2011

JEAN CARLOS GOMES PAIVA

**BIOMONITORAMENTO GENÉTICO DE AGRICULTORES EXPOSTOS A
PESTICIDAS NOS MUNICÍPIOS DE TIANGUÁ E UBAJARA – CEARÁ.**

Tese submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - RENORBIO como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Aprovada em 27 de Julho 2011.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Cláudia do Ó Pessoa, UFC
(Orientadora)

Prof. Dr. Bruno Coelho Cavalcanti, UFC
1º Examinador

Prof^a. Dr^a. Maria Izabel Florindo Guedes, UECE
2ª Examinadora

Prof^a. Dr^a. Maria Emília Santos Pereira Ramos, UEFS
3ª Examinadora

Prof^a. Dr^a. Maria Goretti Rodrigues Queiroz, UFC
4ª Examinadora

"Nada substitui a persistência. Há talento sem sucesso, gênio sem recompensa e formação acadêmica malsucedida, mas a persistência é onipotente. O slogan 'siga em frente' solucionou e sempre solucionará os problemas da raça humana".
(Calvin Coolidge, Presidente dos EUA).

AGRADECIMENTOS

A vida por ter me dado esta oportunidade.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Cláudia Pessoa, pelo apoio e compreensão, além da paciência e amizade.

Aos Professores responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção do Laboratório de Oncologia Experimental - LOE, que sem o empenho e dedicação destes nada seria possível.

Ao CNPq pelo apoio e financiamento deste trabalho.

A todos os alunos e professores que utilizam as dependências do LOE, pois, apesar da pouca convivência, sempre demonstraram grande atenção e companheirismo.

Aos amigos, colaboradores e companheiros José Roberto Ferreira, Bruno Cavalcanti e Carla Sombra, sem a dedicação e apoio destes o trabalho jamais teria sido concluído. O seu apoio foi tão importante que os considero co-autores.

Aos técnicos em laboratório do LOE Silvana França, Luciana França pela atenção, capacidade e presteza. À funcionária do departamento dona Rogéria, pela atenção incondicional disponibilizada.

Não posso esquecer a técnica em enfermagem Cleidiana, sempre prestativa e atenciosa, além de ter demonstrado ser uma grande profissional.

A Maria José (Marizete), residente na comunidade Valparaíso que ajudou no recrutamento e conscientização dos voluntários sobre a importância do trabalho e, gentilmente, cedeu sua residência para realização de encontros e coletas do material para estudo. Ao Sr. Vicente, também residente na comunidade Valparaíso pela ajuda no recrutamento de voluntários e principalmente pela atenção dada a todos que participaram deste estudo. Ao Sr. José Nilton, residente na comunidade Jaburu I, que cedeu as instalações da sua residência para recrutamento dos voluntários e coleta do material a ser estudado.

Ao PRF Rocha que desde o início auxiliou no recrutamento dos voluntários.

A todos voluntários, que gentilmente cederam seu precioso tempo para ajudar nesta pesquisa, mostraram um interesse surpreendente e orgulho por terem podido colaborar.

Aos meus colegas de trabalho na Polícia Rodoviária Federal, que compreendendo a importância deste trabalho sempre aceitaram minhas solicitações de permutas, muitas vezes sacrificando seus dias de folga junto as suas famílias.

Aos chefes de Delegacia e chefes de Núcleo de Policiamento da Polícia Rodoviária Federal, Francisco Lira (Chico Lira), Regilânio Alves, Cleva Carvalho e Ferrare Val, pela flexibilização da escala de serviço.

Dentre os citados anteriormente, seria injusto não se fazer um agradecimento especial a Francisco Lira e Regilânio Alves, pois, não mediram esforços para me ajudar, por vezes sacrificando sua própria condição de chefe.

Aos meus pais Raimunda e Gonçalo. Sempre me incentivaram, mesmo nos momentos de dificuldades nunca desistiram nem deixaram de acreditar na vitória. Sua dedicação e persistência não se resumem a este trabalho, mas a uma vida inteira. Além do incentivo há também do exemplo de decência e honestidade. Nas situações mais adversas nunca desistiram de manter a ética e pautar suas vidas na amizade, pureza e honestidade. Quaisquer palavras e frases que eu possa escrever não definem a satisfação e a felicidade que sinto em ter nascido nesta família e educado por essas duas pessoas maravilhosas.

Aos meus irmãos Antônio de Maria e Paulo Jeferson que, mesmo separados pela distância, nunca deixaram de lembrar-se de mim e incentivar conquistas.

A minha esposa Dr^a Ivanilza Moreira de Andrade por ser uma eterna incentivadora dos meus estudos e por compreender os momentos em que estive ausente, demonstrando, não só no decorrer deste estudo, mas durante todo o período em que convivemos ser uma companheira inigualável.

Agradeço, com emoção, ao meu filho João Paulo Andrade Paiva, pois, a sua existência já é suficiente para fazer qualquer esforço valer a pena. Os momentos em que questionava a minha ausência serviram de incentivo. A sua inocência não lhe permitia, ainda, compreender a importância do trabalho desenvolvido, mas suas cobranças demonstravam o apego que tem com a família e o desejo de estar junto aos seus pais.

A minha sogra Ivone Moreira de Andrade e sogro João Matias de Andrade que me apoiaram nas minhas estadas em Fortaleza.

A Dr^a Maria das Graças pelo apoio, amizade e compreensão demonstradas na fase final deste trabalho.

Agradeço também a todas as pessoas que não puderam contribuir para este trabalho por falta de oportunidade, mas que desejaram o sucesso e agora estão felizes vendo o objetivo ser alcançado.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Aspectos Gerais	14
1.2. Produção e consumo de pesticidas.....	15
1.3. Exposição aos pesticidas e riscos à saúde	18
1.4. Classificação dos Pesticidas	18
1.4.1. Classificação Toxicológica	19
1.4.2. Grupos Químicos	19
1.4.3. Principais Classes de Pesticidas	21
1.4.3.1. Inseticidas	22
1.5. Legislação Brasileira x Pesticidas	26
1.6. Exposição combinada: situações diversas	28
1.7. A informação sobre as intoxicações por pesticidas	29
1.7.1 Classificação das Intoxicações	30
1.7.1.1 Intoxicação Aguda.....	31
1.7.1.2 Intoxicação Crônica	31
1.8. Carcinogênese	34
1.8.1. Genotoxicidade dos pesticidas	37
1.8.2. Carcinogênese no Brasil	39
1.9. Biomarcadores de exposição	39
1.9.1. Ensaio do Cometa	40
1.9.2. Aberrações Cromossômicas	41
1.9.2.1. Classificação das Aberrações Cromossômicas	42
1.9.2.1.1. Aberrações Estruturais	42
1.9.2.1.2. Aberrações Numéricas	43

5. DISCUSSÃO	69
2. OBJETIVOS	45
2.1. Objetivo Geral	45
2.2. Objetivos Específicos	45
3. METODOLOGIA	46
3.1. Local de estudo	46
3.2. Caracterização das amostras	48
3.3. Coleta do material biológico	49
3.4. Critérios de inclusão/exclusão	49
3.5. Testes de genotoxicidade	50
3.5.1. Teste do cometa alcalino	51
3.5.1.1. Protocolo experimental	51
3.5.1.2. Isolamento e Manutenção dos Linfócitos	51
3.5.1.3. Preparação das lâminas	51
3.5.1.4. Lise Celular	52
3.5.1.5. Neutralização e Eletroforese	52
3.5.1.6. Análise dos dados	52
3.5.1.7.1. Análises Estatísticas	53
3.5.2. Aberrações cromossômicas	54
3.5.2.1. Protocolo experimental	54
3.5.2.2. Análise dos dados	56
3.5.2.3.1 Análises estatísticas	56
3.6. Análise de Resíduos de pesticidas na água do açude Jaburu, Planalto da Ibiapaba, Ceará	57
3.7. Material utilizado na pesquisa	58
4. RESULTADOS	61
4.1. Características da população estudada	61
4.2. Uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI)	64
4.3. Análise da água do reservatório Jaburu	65
4.4. Teste do Cometa	65
4.5. Análise de aberrações cromossômicas	67

6. CONCLUSÃO.....	79
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXOS.....	101
ANEXO 1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE.....	102
ANEXO 2. QUESTIONÁRIO SÓCIO-EPIDEMIOLÓGICO.....	105
ANEXO 3. ANÁLISE DE RESÍDUOS DE ÁGUA DO RESERVATÓRIO JABURU, PLANALTO DA IBIAPABA, CEARÁ.....	108
ANEXO 4. PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS: PAIVA, J.C.G.; CABRAL, I.O.; SOARES, B.M.;SOMBRA, C.M.L.; FERREIRA, J.O.; MORAES, M.O.; CAVALCANTI, B.C.;PESSOA, C. Biomonitoring genetic of farmers exposed to pesticides in the municipalities of Tiangua and Ubajara (Ceará, Brazil). Environmental and Molecular Mutagenesis . 52:492-501. 2011.....	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação dos pesticidas quanto a toxicidade.....	19
Tabela 2 –	Principais classes de pesticidas e grupos químicos aos quais pertencem.....	21
Tabela 3–	Classificação IARC para carcinogenicidade dos pesticidas.....	26
Tabela 4 –	Características das intoxicações agudas e crônicas por pesticidas.....	33
Tabela 5 –	Efeitos crônicos dos pesticidas sobre órgãos e sistemas humanos.....	33
Tabela 6 –	Características da amostra estudada.....	61
Tabela 7 –	Escolaridade dos agricultores.....	62
Tabela 8 –	Principais classes químicas e toxicológicas dos pesticidas utilizados pelos agricultores.....	62
Tabela 9-	Pesticidas utilizados pelos agricultores e suas principais características.....	63
Tabela 10-	Sintomas de intoxicação após contato com os pesticidas.....	65
Tabela 11-	Análise dos índices e frequência de danos ao DNA em linfócitos dos agricultores expostos a pesticidas e grupo.....	67
Tabela 12-	Índice mitótico, tipo e frequência de aberrações cromossômicas em linfócitos dos agricultores expostos a pesticidas e grupos controle das comunidades rurais dos municípios de Tianguá e Ubajara.....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Localização das comunidades da Macrorregião da Ibiapaba, Ceará, selecionadas para o estudo.....	47
Figura 2 -	Diagrama de pontos passíveis de análise pelo uso de biomarcadores.....	50
Figura 3 -	Método do cometa: A - isolamento dos linfócitos; B - preparação das lâminas; C - da eletroforese.....	53
Figura 4 -	Tipos de cometas: Representação dos cometas corados com brometo de etídio e visualizados ao microscópio de fluorescência.....	54
Figura 5 –	Sequência esquemática do Teste de aberrações Cromossômicas em linfócitos de sangue periférico.....	56
Figura 6-	Utilização de EPI pelos agricultores.....	64
Figura 7-	Sintomas de intoxicação relatados pelos agricultores após o manuseio de pesticidas.....	65
Figura 8-	Índice e frequência de danos ao DNA dos agricultores expostos aos pesticidas nas comunidades rurais de Tianguá e Ubajara-CE.....	66
Figura 9-	Frequência de aberrações metafásicas por tempo de exposição em agricultores das comunidades rurais nos municípios de Tianguá e Ubajara-CE.....	68

RESUMO

BIOMONITORAMENTO GENÉTICO DE AGRICULTORES EXPOSTOS A PESTICIDAS NOS MUNICÍPIOS DE TIANGUÁ E UBAJARA (CEARÁ, BRASIL). Jean Carlos Gomes Paiva. Tese apresentada à Coordenação da Rede Nordeste de Biotecnologia-RENORBIO como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia. Orientadora: Prof^a Dr^a Cláudia do Ó Pessoa.

Nos últimos anos, o uso de pesticidas na agricultura tem aumentado e associações entre a exposição a produtos químicos agrícolas e danos ao DNA e câncer tem sido relatados. O Brasil é um dos líderes mundiais na utilização de pesticidas, no entanto, estudos que avaliem o impacto da exposição ocupacional a pesticidas sobre a incidência e mortalidade por câncer ainda são escassos na população brasileira. O teste do cometa alcalino e a análise de aberrações cromossômicas (AC) foram utilizados para avaliar danos primários ao DNA em linfócitos do sangue periférico de trabalhadores expostos a uma mistura complexa de pesticidas em duas pequenas comunidades rurais nos municípios de Tianguá e Ubajara, localizados no oeste do Estado do Ceará (Nordeste do Brasil). Estes Municípios estão entre as maiores áreas agrícolas do Estado. O teste do cometa mostrou que o índice e frequência de danos observados nos grupos expostos foram significativamente maiores em relação aos grupos controle ($P < 0,05$). Por outro lado, não foram detectadas diferenças significativas em relação a AC estruturais e numéricas nas comunidades avaliadas. Além disso, os níveis observados de quebras da fita de DNA e frequências de AC, estratificadas por tempo de exposição, não foram estatisticamente diferentes nos agricultores de ambas comunidades rurais. Os resultados sugerem que os danos causados por pesticidas na área de estudo não foram significativos o suficiente para induzir mutações permanentes ou interferir na formação do aparelho mitótico. Danos mínimos causados pelos pesticidas podem ter sido submetidos a reparo celular, explicando a ausência de AC estruturais e numéricas. As análises da água do reservatório que serve de fonte para irrigação das plantações e abastece os municípios da região não detectou contaminação por resíduos de pesticidas.

Palavras-chave: biomonitoramento; exposição a pesticidas; linfócitos humanos; teste do cometa; aberrações cromossômicas.

ABSTRACT

BIOMONITORING GENETIC OF FARMERS EXPOSED TO PESTICIDES IN THE MUNICIPALITIES OF TIANGUA AND UBAJARA (CEARÁ, BRAZIL).

Jean Carlos Gomes Paiva. Supervisor: Prof. Dr. Cláudia do Ó Pessoa. Essay presented to Coordination of the Rede Nordeste de Biotecnology - RENORBIO as prerequisite for obtaining the degree of doctor in Biotecnology.

In recent years, the use of pesticides in agriculture has been steadily increasing, and associations between exposure to agricultural chemicals and DNA damage and cancer have been reported. Brazil is one of the world leaders in pesticide use; however, studies that evaluate the impact of pesticide exposure on cancer incidence and mortality are very scarce in the Brazilian population. The alkaline comet assay and the chromosome aberration (CA) test were used to evaluate primary DNA damage in the peripheral blood lymphocytes of workers exposed to a complex mixture of pesticides in two small rural communities in the municipalities of Tianguá and Ubajara, located in the western part of Ceará State (Northeast Brazil), which are among the largest agricultural areas of the state. The comet assay showed that the damage index and damage frequency observed in the exposed groups were significantly higher in relation to the controls ($P < 0.05$). On the other hand, no differences were detected regarding structural and numerical CAs in the communities evaluated. Additionally, the observed levels of DNA strand breaks and frequencies of CAs, stratified for exposure time, were not statistically different for individuals of either rural community. Our results suggest that the damages caused by pesticides in our study area were not great enough to induce permanent mutations or to interfere with mitotic apparatus formation; minimal pesticide damages could have undergone cellular repair, explaining the absence of structural and numerical CAs. Analyses of water from the reservoir that serves as a source for irrigation of crops and supplies the cities of the region did not detect contamination by pesticides.

Key words: biomonitoring; pesticide exposure; human lymphocytes; comet assay; chromosomal aberrations

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Gerais

O século 20 caracterizou-se, entre outros aspectos, por um intenso e contínuo processo de mudanças tecnológicas e organizacionais, que atingiram de forma contundente o mundo da produção, acarretando grandes transformações nas formas, nos processos e nas relações de trabalho. A agricultura, que por séculos constituía o meio de vida dos agricultores e de suas famílias, converteu-se numa atividade orientada para a produção comercial. Por trás desta mudança, está a necessidade de alimentar um contingente populacional cada vez maior, que segundo a Organização das Nações Unidas será de 7,9 bilhões de pessoas em 2025 (OIT, 2001). Neste sentido, o processo de produção agrícola tem passado por importantes mudanças tecnológicas e organizacionais, cujo resultado final tem sido, entre outros aspectos, o aumento da produtividade.

Em relação às alterações tecnológicas, a primeira e importante mudança foi a mecanização de diversas atividades agrícolas e a conseqüente substituição da mão-de-obra pela maquinaria, tornando-se um dos motivos do êxodo rural. A segunda mudança foi a introdução, a partir de 1930, dos agroquímicos ou pesticidas no campo, em especial os pesticidas, intensificando-se sua utilização a partir da Segunda Guerra Mundial. Finalmente, a terceira e importante mudança ocorreu a partir da década de 90 com a introdução da biotecnologia, destacando-se os organismos geneticamente modificados – os transgênicos (ABRAMOVAY, 1992; OIT, 2001).

Quanto ao sistema de produção, pode-se dizer que, de modo geral, nos países em desenvolvimento, a agricultura baseia-se principalmente na produção familiar, cuja exploração em grande parte é voltada a subsistência. Nos países desenvolvidos a agricultura se transformou em uma atividade comercial em que a produção dos alimentos se integra a transformação, comercialização e distribuição, formando assim, o sistema agroindustrial (ABRAMOVAY, 1992; OIT, 2001).

No Brasil, de acordo com Gehlen (2004) parte da agricultura de caráter familiar modernizou-se, tendo incorporado tecnologias e entrado no mercado da competitividade e profissionalização, principalmente, a partir da década de 1980.

Já na agroindústria, sua principal característica é o trabalho assalariado na forma de contratação direta ou da terceirização da força de trabalho (ABRAMOVAY, 1992; OIT, 2001; GARCIA, 1996; ALVES, 1992).

Essas características do processo de produção agrícola implicam em uma dificuldade em classificar, de forma rígida, as relações de trabalho neste setor. Observa-se que os trabalhadores estabelecem relações de trabalho em função de suas necessidades e de suas possibilidades econômicas num determinado momento histórico das relações capital/trabalho. Todo esse processo constitui o arcabouço da “modernização agrícola” que, se por um lado tem gerado aumento da produtividade, por outro lado tem provocado exclusão social, migração rural, desemprego, concentração de renda, empobrecimento da população rural, danos à saúde e ao meio ambiente, acompanhado de desmatamento indiscriminado, manejo incorreto do solo, impactos do uso de pesticidas e contaminação dos recursos hídricos (OIT, 2001; GRISOLIA, 2005).

É importante ressaltar que no Brasil, a organização do trabalho agrícola tem ainda como pano de fundo uma estrutura fundiária altamente concentrada, onde cerca de 94% do número de propriedades rurais respondem por apenas 30% da área ocupada. Este fato *per se* tem conseqüências marcantes no desenvolvimento do setor agrícola brasileiro (IBGE, 2010).

Associado a falta da estrutura organizacional podem ser acrescentados os fatores de riscos e os danos a saúde dos trabalhadores, que devem ser compreendidos pela ausência de tecnologias, excesso de trabalho e não intervenção dos órgãos governamentais junto aos trabalhadores nos locais de atuação e pela falta de implementação dos equipamentos de segurança de trabalho, tudo isso somado às questões do arcabouço jurídico vigente. Assim, é possível afirmar que no processo de avaliação de riscos, fatores de risco e danos à saúde dos trabalhadores, além das análises das condições materiais de trabalho, é importante que se atenha aos homens responsáveis pela execução das tarefas, avaliando tanto suas condições fisiológicas, afetivas, como a experiência acumulada em relação à tarefa e às situações concretas de trabalho nas quais estão inseridos.

1.2. Produção e consumo de pesticidas

A utilização de produtos visando ao combate de pragas e doenças presentes na agricultura não é recente. Civilizações antigas usavam enxofre, arsênico e calcário para eliminar pragas que destruíam plantações e alimentos armazenados. Além dessas, eram utilizadas substâncias orgânicas, como a nicotina extraída do fumo e do

pyrethrum (GARCIA, 1996; MEIRELLES, 1996). Porém, o intenso desenvolvimento da indústria química a partir da Revolução Industrial determinou o incremento na pesquisa e desenvolvimento dos produtos pesticidas. A produção em escala industrial de pesticidas teve início em 1930 e foi intensificada a partir de 1940 (MEIRELLES, 1996). No decorrer dos anos várias denominações foram dadas a um grupo muito semelhante de substâncias e que possuem como principal aplicação a eliminação de pragas e vetores. Dentre estes podemos citar pesticidas, praguicidas, biocidas, fitossanitários, agrotóxicos, defensivos agrícolas, venenos e remédios.

A entrada dos pesticidas no Brasil ocorreu na década de 1960 e desde então, foram colocados definitivamente no cotidiano dos trabalhadores rurais, levando-os aos riscos da consequência do seu mau uso, aumentando assim, os riscos aos quais já estavam expostos. A intensificação do uso foi a partir de 1975, com o Plano Nacional de Desenvolvimento (PND), que possibilitou a abertura do Brasil ao comércio internacional desses produtos, ocorrendo um verdadeiro *boom* na utilização de pesticidas no trabalho rural. Nos termos do PND, o agricultor estava obrigado a comprar tais produtos para obter recursos do crédito rural. Em cada financiamento requerido, era obrigatoriamente incluída uma cota definida de pesticidas (GARCIA, 1996; MEIRELLES, 1996; SAYAD, 1984) e essa obrigatoriedade, somada à propaganda dos fabricantes, determinou o enorme incremento e disseminação da utilização dos pesticidas no Brasil (GARCIA, 1998; MEIRELLES, 1996).

A política de crédito integrou o movimento conhecido como Revolução Verde, iniciado nos Estados Unidos da América com o objetivo de aumentar a produtividade agrícola a partir do incremento da utilização de agroquímicos, da expansão das fronteiras agrícolas e do aumento da mecanização da produção. No Brasil, a Revolução Verde se deu através do aumento da importação de produtos químicos, da instalação de indústrias produtoras e formuladoras de pesticidas e do estímulo do governo, através do crédito rural, ao consumo de pesticidas e fertilizantes (MEIRELLES, 1996).

Atualmente existem no mundo cerca de 20 grandes indústrias produtoras de pesticidas com um volume de vendas da ordem de 20 bilhões de dólares por ano e uma produção de 2,5 milhões de toneladas, sendo 39% de herbicidas, 33% de inseticidas, 22% de fungicidas e 6% de outros grupos químicos (SINDAG, 2010).

Em 2008, o Brasil assumiu a liderança no consumo mundial de pesticidas, posição antes ocupada pelos Estados Unidos. Os produtores brasileiros compraram cerca de US\$ 7 bilhões em defensivos agrícolas. Isso representa um crescimento de quase 30% em relação ao ano anterior (INRA, 2009). As lavouras americanas, mesmo ocupando uma área consideravelmente maior, investiram US\$ 6,7 bilhões nestes insumos.

No Brasil, existem cerca de 1500 produtos comerciais registrados por 84 fabricantes, representando 424 ingredientes ativos. Destes, 673 estão no mercado e 56% são classificados como moderadamente ou pouco tóxicos (classes III e IV). No ano de 2009 foram comercializadas 725 mil toneladas de produtos formulados, sendo que os herbicidas representaram 59% desse total. A soja foi a cultura com maior volume de uso (48%), seguida pelo milho (11%) e pela cana-de-açúcar (8%) (ANDEF-2010).

A tecnologia envolvida na síntese dos pesticidas mais recentes, em comparação aos da década de 60, propiciou redução de aproximadamente 90% na dose e 160 vezes na toxicidade aguda, além de apresentar novos mecanismos de ação que geralmente representam menor impacto ao ambiente (MENTEN *et al.*, 2010).

A agricultura das regiões norte-nordeste e sul-sudeste é absolutamente diferente uma vez que na região Nordeste é basicamente químico dependente, utilizando fertilizantes e pesticidas como se fossem as únicas técnicas de produção possíveis.

São ainda incipientes as experiências de reconversão tecnológica para um modelo de agricultura sustentável e como agravante, há ainda o fato de que o conhecimento que os agricultores dispõem sobre os riscos do uso inadequado destes produtos é extremamente baixo. É neste contexto, que a própria legislação brasileira, reconhecendo a natureza destes produtos, substitui o termo “defensores agrícolas” pela denominação “agrotóxicos” enfatizando assim, que estes produtos são na verdade venenos e por isso colocam em risco o meio ambiente e a saúde humana (AUGUSTO, 2003).

1.3. Exposição aos pesticidas e riscos à saúde

Os pesticidas são um dos mais importantes fatores de riscos à saúde humana. Utilizados em grande escala por vários setores produtivos e mais intensamente pelo

setor agropecuário, tem sido objeto de vários tipos de estudos, tanto pelos danos que provocam a saúde das populações humanas e dos trabalhadores de modo particular, como pelos danos ao meio ambiente e pelo aparecimento de resistência em organismos-alvo (pragas e vetores). Na agricultura são amplamente utilizados nos sistemas de monocultivo em grandes extensões. Essas substâncias são ainda utilizadas na construção e manutenção de estradas, tratamento de madeiras para construção, armazenamento de grãos e sementes, produção de flores, combate às endemias e epidemias, como domissanitários. Enfim, o uso dos pesticidas excede em muito aquilo que comumente se reconhece.

As principais exposições a estes produtos ocorrem no setor agropecuário, saúde pública, firmas sintetizadoras, transporte, comercialização e nos setores de produção de pesticidas. Além da exposição ocupacional, a contaminação alimentar e ambiental coloca em risco de intoxicação outros grupos populacionais. Merece destaque as famílias dos agricultores, a população circunvizinha a uma unidade produtiva e a população em geral, que se alimenta do que é produzido no campo. Portanto, pode-se afirmar que os efeitos dos pesticidas sobre a saúde não dizem respeito apenas aos trabalhadores expostos, mas à população em geral. A unidade produtiva não afeta apenas o trabalhador, inclui também o meio ambiente e repercute sobre o conjunto social (CHEDIACK, 1986).

Diversos estudos têm demonstrado grande variabilidade de danos dos pesticidas sobre a saúde humana e ao meio ambiente, assim como diferenças na gravidade e magnitude desses danos (ALAVANJA *et al.*, 2002; COLOSSO *et al.*, 2003; GRISOLIA, 2005; KAMANYIRE & KARALLIEDDE, 2004; NOVATO - SILVA *et al.*, 1999; PERES *et al.*, 2003; PERES *et al.*, 2001; SANTOS, 2003; SILVA *et al.*, 2004).

1.4. Classificação dos Pesticidas

De modo geral, todos os pesticidas são classificados quanto aos tipos de organismos que controlam, à toxicidade das substâncias e aos grupos químicos aos quais pertencem (GILMAN, 2006). Esta classificação é fundamental para o conhecimento da toxicidade de um produto do ponto de vista de seus efeitos agudos, mas deixa a desejar no tocante aos efeitos crônicos.

No Brasil, o Ministério da Saúde – MS avalia a toxicidade dos pesticidas baseado na DL₅₀ oral em ratos. Entende-se por Dose Média Letal (DL₅₀), por via oral, representada por miligramas do ingrediente ativo do produto por quilograma de peso vivo, necessários para matar 50% da população de ratos ou de outro animal teste. (Tabela 1). A DL₅₀ é usada para estabelecer as medidas de segurança a serem seguidas para reduzir os riscos que o produto pode apresentar à saúde humana.

Tabela 1. Classificação dos pesticidas quanto à toxicidade

CLASSE	CATEGORIA	DL 50(mg/Kg)			
		ORAL		DÉRMICA	
		FORMULAÇÕES		FORMULAÇÕES	
		SÓLIDAS	LÍQUIDAS	SÓLIDAS	LÍQUIDAS
Ia	Extremamente tóxico (tarja vermelha)	<5	<20	<10	<40
Ib	Altamente tóxico (tarja amarela)	5 a 50	20 a 200	10 a 100	40 a 400
II	Moderadamente tóxico (tarja azul)	50 a 500	200 a 2000	100 a 1000	400 a 4000
III	Levemente tóxico (tarja verde)	>500	>2000	>1000	>4000

Fonte: OMS-2005

1.4.1. Classificação Toxicológica

Por determinação legal, todos os produtos devem apresentar nos rótulos uma faixa colorida indicativa de sua classe toxicológica (Tabela 1).

1.4.2. Grupos Químicos

Em conformidade com Larine (1997) os pesticidas obedecem à seguinte distribuição química:

A. Organofosforados: ésteres derivados do ácido fosfórico, geralmente lipossolúveis, não cumulativos no organismo, persistem no meio ambiente de uma a doze semanas, degradam-se por hidrólise e são comumente empregados como inseticidas e acaricidas;

B. Carbamatos: ésteres do ácido carbâmico, lipossolúveis, pouco solúveis em água. Por apresentarem maior instabilidade que os organofosforados, são menos persistentes no organismo e no meio ambiente e são empregados como inseticida, fungicida, herbicida e nematicida;

C. Piretróides: ésteres derivados do ácido crisantêmico, não se acumulam no organismo, apresentam baixa lipossolubilidade e degradam-se rapidamente no meio ambiente. Empregados geralmente como inseticidas começaram a ser utilizados mais intensamente na década de 80, substituindo os organofosforados no controle de pragas e doenças agrícolas;

D. Organoclorados: possuem estrutura cíclica, orgânica, com cloro na molécula, lipossolúveis, cumulativos na cadeia alimentar e no organismo, altamente persistentes à degradação ambiental, permanecendo no solo em média de dois a cinco anos. Comumente empregados como inseticidas (formicidas e larvicidas). Estão proibidos no Brasil desde o ano de 2005, principalmente devido aos seus efeitos cumulativos e à sua persistência no ambiente, associados aos efeitos graves sobre a saúde humana. Vários estudos demonstraram que muitos produtos pertencentes a esta classe são carcinogênicos.

E. Dietilditiocarbamatos: largamente utilizados na agricultura como fungicidas não sistêmicos, em cereais, frutas, verduras e legumes. Controlam amplo espectro de fungos, principalmente em regiões quentes e úmidas.

F. Bipiridilos: sais de paraquat ou diquat, compostos orgânicos pouco solúveis, possuem baixa persistência nos organismos e no meio ambiente, são utilizados como herbicidas.

G. Ácidos fenoxiacéticos: compostos pelos herbicidas ácido 2,4–dicloro-fenoxiacético (2,4D) e 2,4,5–triclorofenoxiácético (2,4,5 T), lipossolúveis, persistem até 30 dias no solo. Alguns subprodutos destes dois ácidos, como a dioxina, são altamente persistentes no meio ambiente. Trata-se do grupo mais empregado entre os herbicidas.

H. Cloro e nitrofenóis: sais de pentaclorofenol (PCP), altamente solúveis em água, possuem elevada persistência no meio ambiente. Apesar do amplo espectro biocida, são utilizados quase que exclusivamente no tratamento de madeiras contra fungos e cupins. Assim como os ácidos fenoxiacéticos, apresenta a dioxina como impureza do processo de produção. Conhecido no Brasil como pó da China, está proibido para uso agropecuário por ser extremamente tóxico, nas fases aguda e crônica. No entanto, encontra-se autorizado apenas para o tratamento de madeiras em escala comercial.

I. Outros: cumarinas, brometo de metila, etc.

1.4.3. Principais classes de pesticidas

As três principais classes de pesticidas, por representarem em média 94,8% do consumo brasileiro no ano de 2009, são os inseticidas, fungicidas e herbicidas (SINDAG, 2010).

Tabela 2: Principais classes de pesticidas e grupos químicos aos quais pertencem.

Tipo de ação (Classe)	Principais grupos químicos	Produtos/substâncias
Inseticidas	Organofosforados	Azodrin, Malathion, Parathion, Nuvacron, Tamaron, Hostation, Lorsban
	Carbamatos	Carbaryl, Furadan, Lannate, Marshal
	Organoclorados	Aldrin, Endrin, DDT, BHC, Lindane
	Piretróides (sintéticos)	Decis, Piredam, Karate, Cipermetrina
Fungicidas	Ditiocarbamatos	Maneb, Mancozeb, Dithane, Thiram, Manzate
	Organoestânicos	Brestan, Hokko Suzu
	Dicarboximidas	Orthocide, Captan
Herbicidas	Bipiridílios	Gramoxone, Paraquat, Reglone, Diquat
	Glicina substituída	Roundup, Glifosato
	Derivados do ácido fenoxiacético	Tordon, 2,4-D, 2,4,5-T
	Dinitrofenóis	Bromofenoxim, Dinoseb, DNOC
	Pentaclorofenol	Clorofen, Dowcide-G

Fonte: SINDAG, 2010(modificada)

1.4.3.1. Inseticidas

A. Organoclorados

Estes inseticidas foram utilizados por várias décadas na saúde pública para o controle de vetores de doenças endêmicas, como a malária (MATOS *et al.*, 2002), assim como na agricultura. O DDT (inseticida) foi banido em vários países, a partir da década de 70. No Brasil, somente em 1992, após intensas pressões sociais, foram abolidos (BHC, Aldrin, Lindano, dentre outros). As restrições à sua utilização originam-se da grande capacidade residual dos mesmos e de uma possível ação carcinogênica (NUNES, TAJARA, 1998).

Principais características

São substâncias de lenta degradação com capacidade de acumulação nos seres vivos e no meio ambiente, podendo persistir por até 30 anos no solo. São altamente lipossolúveis e o homem pode ser contaminado não só por contato direto, mas também através da cadeia alimentar - ingestão de água e alimentos contaminados (VERDES *et al.*, 1990; REIGART, ROBERTS, 1999). Por serem altamente lipofílicos, são seqüestrados pelos tecidos corporais com alto teor lipídico (fígado, rins, sistema nervoso, tecido adiposo), ficando armazenados. São eliminados principalmente através das vias digestiva e urinária. Outras vias de excreção incluem a saliva, o suor e o leite materno (FORGET, 1989).

Efeitos sobre a saúde humana

Intoxicação aguda: sintomas no sistema nervoso central como irritabilidade, sensação de dormência na língua, nos lábios e nos membros inferiores, desorientação, dor de cabeça persistente (que não cede aos analgésicos comuns), fraqueza, vertigem, náuseas, vômitos, contrações musculares involuntárias, tremores, convulsões, coma e morte. Em caso de inalação, podem ocorrer sintomas como tosse, rouquidão, edema pulmonar, broncopneumonia e taquicardia (SVS, 1997; MATOS *et al.*, 2002).

Intoxicação crônica: alterações no sistema nervoso, alterações sanguíneas diversas, como aplasia medular, lesões no fígado, arritmias cardíacas e lesões na pele (Secretaria Nacional de Vigilância a Saúde-SVS, 1997).

Carcinogênese: A Agência Internacional para Pesquisa em Câncer-IARC classifica alguns como pertencentes ao grupo “2B” (possivelmente cancerígeno para a espécie humana). O DDT, por exemplo, pertence a este grupo por estar associado ao desenvolvimento de câncer de fígado, pulmão e linfomas em animais de laboratório.

Outros organoclorados pertencentes ao grupo 2B são clorodano, heptacloro, hexaclorobenzeno, mirex (IARC, 2005). A tabela 3 mostra a classificação da IARC para a carcinogenicidade dos pesticidas.

B. Organofosforados e carbamatos

São amplamente utilizados na agricultura e, dentre os inseticidas, são responsáveis pelo maior número de intoxicações agudas e por um grande número de mortes no Brasil (TRAPÉ, 2005).

Principais características

A absorção se dá através da pele, sendo distribuídos nos tecidos do organismo pela corrente sanguínea e sofrem biotransformação, principalmente no fígado. A principal via de eliminação é renal (MATOS *et al.*, 2002).

Os inseticidas organofosforados e carbamatos possuem ação semelhante no organismo: a inibição de enzimas colinesterases, especialmente a acetilcolinesterase. Estas enzimas estão presentes na transmissão de impulsos nervosos em diversos órgãos e músculos, e assim uma contaminação por estes pesticidas pode desencadear uma série de efeitos deletérios, inclusive podendo levar a óbito (TRAPÉ, 2005).

Efeitos sobre a saúde humana

Diferentemente dos organofosforados, os carbamatos são inibidores reversíveis das colinesterases, porém as intoxicações agudas podem ser igualmente graves. Ambos atuam não só no sistema nervoso central, mas também nos glóbulos vermelhos, no plasma e em outros órgãos (FUNASA, 1998).

Intoxicação aguda: os sinais e sintomas começam a surgir poucos minutos após a absorção do tóxico e podem alcançar seu máximo, inclusive levando a óbito dentro de algumas horas ou poucos dias (ALMEIDA, 1998). Os principais sinais e sintomas são: suor abundante, salivação intensa, lacrimejamento, fraqueza, tontura, dores e cólicas abdominais, visão turva e embaçada, pupilas contraídas – miose, vômitos, dificuldade respiratória, colapso, tremores musculares, convulsões (FUNASA, 1998).

Intoxicação crônica: outros sinais e sintomas podem persistir por meses após a exposição, como alterações neurológicas, comportamentais, cognitivas e neuromusculares (ECOBICHON, 1996).

Carcinogênese: Alguns organofosforados e carbamatos estão presentes na revisão da IARC (2005), que define o diclorvós (organofosforado) como pertencente ao grupo 2B (possivelmente cancerígeno para o homem), enquanto que malation, paration (organofosforados); aldicarb, carbaril, zectran (carbamatos) pertencem ao grupo 3: (não classificado como carcinogênico para o homem).

C. Piretróides

Tiveram seu uso crescente nos últimos 20 anos e, além da agropecuária, são também muito utilizados em ambientes domésticos (MATOS *et al.*, 2002; TRAPÉ, 2005). Seu uso abusivo vem causando aumento nos casos de alergia em crianças e adultos (FUNASA, 1998).

Principais características

São facilmente absorvidos pelas vias digestiva, respiratória e cutânea. Os sintomas de intoxicação aguda ocorrem principalmente quando sua absorção se dá por via respiratória. São compostos estimulantes do sistema nervoso central e, em doses altas, podem produzir lesões no sistema nervoso periférico (MATOS *et al.*, 2002; SVS, 1997).

Efeitos sobre a saúde humana

Intoxicação aguda: os principais sinais e sintomas incluem dormência nas pálpebras e nos lábios, irritação das conjuntivas e mucosas, espirros, coceira intensa, manchas na pele, edema nas conjuntivas e nas pálpebras, excitação e convulsões.

Intoxicação crônica: Segundo Matos *et al.* (2002), não estão descritas evidências de toxicidade crônica com o uso de piretróides. Outros autores, como Trapé (2005), citam alguns efeitos de exposições de longo prazo: neurites periféricas e alterações hematológicas do tipo leucopenias.

Carcinogênese: Os piretróides parecem não apresentar potencial cancerígeno para humanos. Como exemplo, a IARC classifica os pesticidas deltametrina e permetrina no grupo 3B (como sendo não carcinogênicos para o homem).

D. Herbicidas

São usados no combate a ervas daninhas. Nas últimas duas décadas, esse grupo tem tido sua utilização crescente na agricultura (FUNASA, 1998). Seus principais

representantes são paraquat, pentaclorofenol, derivados do ácido fenoxiacético e dinitrofenóis.

Principais características

Existem várias indicações de mutagenicidade, teratogenicidade e carcinogenicidade relacionados a estes produtos.

Efeitos sobre a saúde humana

Alguns herbicidas são muito nocivos à saúde humana, destacando-se:

• Bupiridilos (Paraquat)

Este produto é considerado um dos agentes de maior toxicidade específica para os pulmões. Pode ser absorvido por ingestão, inalação ou contato com a pele. Provoca lesões hepáticas, renais e fibrose pulmonar irreversível, podendo levar à morte por insuficiência respiratória em até duas semanas após a exposição, em casos graves. (MATOS *et al.*, 2002)

• Pentaclorofenol e Dinitrofenóis

Os principais sintomas de intoxicação aguda por estes produtos incluem dificuldade respiratória, hipertermia, fraqueza, convulsões e perda de consciência. O pentaclorofenol possui em sua formulação dioxinas como impurezas, substâncias extremamente tóxicas, cancerígenas e fetotóxicas (FUNASA, 1998).

• Derivados do ácido fenoxiacético

Um dos principais produtos é o 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 D), muito usado no Brasil em pastagens e plantações de cana de açúcar. O 2,4,5 triclofenoxiacético (2,4,5 T) tem uso semelhante ao 2,4 D, apresentando uma dioxina como impureza, responsável pelo surgimento de cloro-acnes, abortamentos, além de efeitos teratogênicos e carcinogênicos. Os efeitos crônicos incluem neuropatia periférica, disfunção hepática e aumento da probabilidade de desenvolver linfomas tipo Hodgkin e não-Hodgkin (MATOS *et al.*, 2002).

Carcinogênese dos Herbicidas

Estudos epidemiológicos demonstram diversas associações entre o uso de pesticidas e câncer em humanos, incluindo linfoma não-Hodgkin e câncer de tireóide (SOLOMON, 2000).

Dioxinas: a presença de dioxinas como impurezas nos herbicidas está associada ao desenvolvimento de distúrbios reprodutivos e alguns tipos de câncer, como os linfomas (TRAPÉ, 2005). Foi relatado que o 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-

dioxina-TCDD é o mais potente carcinogênico até hoje testado para roedores. Estudos em animais forneceram evidências conclusivas que o TCDD é um carcinógeno de múltiplos estágios, aumentando a incidência de tumores em locais distantes dos locais de tratamento. Em fevereiro de 1997, a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC) reavaliou as dibenzo-p-dioxinas policloradas, bem como os dibenzofuranos policlorados, por representarem possíveis riscos carcinogênicos para os seres humanos. “Com base nos mais recentes dados epidemiológicos, em populações humanas expostas, através de bioensaios de carcinogenicidade experimental em animais de laboratório e evidências de apoio sobre mecanismos relevantes de carcinogênese, a TCDD foi avaliada como sendo carcinogênica para seres humanos – Grupo 1 da IARC (IARC, 1991).

Tabela 3. Classificação IARC para carcinogenicidade de pesticidas

Grupo IARC	Descrição da classificação da IARC
Grupo 1	Carcinogênico para humanos
Grupo 2A	Provavelmente carcinogênico para humanos
Grupo 2B	Possivelmente carcinogênico para humanos
Grupo 3	Não classificável em relação à carcinogenicidade para humanos
Grupo 4	Provavelmente não carcinogênico para humanos

Fonte: IARC, 1991

1.5. Legislação brasileira x pesticidas

A Constituição Federal Brasileira atribuiu ao Poder Público a obrigação de controlar as substâncias que comportem risco à vida, à qualidade de vida e ao meio ambiente, no que se inclui o controle dos produtos fitossanitários e/ou pesticidas e a utilização de equipamentos de proteção individual. A regulamentação deste tema é tratada nas portarias 25/2001 e 86/2005, Ministério do Trabalho e Emprego-MTE.

A Lei nº 7. 802, de 11 de julho de 1989, relativa a diversas substâncias, dentre estas, os pesticidas, instituiu a exigência de que os mesmos sejam previamente

registrados para fins de produção, importação, exportação, comercialização e utilização, atendidas as diretrizes e exigência dos órgãos federais responsáveis.

Dentre estas previsões constitucionais encontra-se o Artigo 225, § 1º, inciso V estabelecendo que: “Todos tem direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial a sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e a coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para o presente e as futuras gerações. §1º incumbe ao Poder Público: [...] V- *controlar a produção, a comercialização e o emprego de técnicas, métodos e substâncias que comportem risco para a vida, a qualidade de vida e meio ambiente*” e o Artigo 196, que determina: “*A saúde é Direito de todos e dever do Estado, garantindo mediante políticas sociais e econômicas que visem a redução do risco de doença e de outros agravos e ao acesso universal igualitário às ações e serviços para sua promoção, proteção e recuperação*”.

Por este instituto legal, os setores da saúde e do meio ambiente possuem a prerrogativa legal de avaliarem se suas diretrizes e exigências estão satisfatoriamente atendidas para a concessão de determinado registro, avaliando integralmente as possíveis repercussões que o produto pesticida possa ter e assegurando à autoridade pública um nível adequado de informação sobre as características e nível tóxico de cada produto comercializado no país, de modo a garantir a sua qualidade e minimizar seus riscos para a saúde humana e ao meio ambiente. De acordo com os termos legais, especialmente no que se refere às situações dentro das quais fica proibida a concessão do registro, e que dizem respeito a aspectos relativos a periculosidade do produto a saúde humana e/ou ao meio ambiente, verifica-se que o registro constitui um procedimento básico de controle, destinado a impedir que produtos dotados de riscos inaceitáveis sejam produzidos, importados, exportados, comercializados ou utilizados. O estabelecimento de determinados padrões para os produtos é garantia de proteção a saúde pública, ao consumidor e ao meio ambiente, sendo regido pela Portaria Interministerial nº 17, de 16 de março de 2000, assinada pelos Ministros da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, da Saúde, do Meio Ambiente e pelo Chefe da Casa Civil da Presidência da República.

1.6. Exposição combinada: situações diversas

A contaminação e a mistura de pesticidas é situação muito presente na realidade do trabalho agrícola, seja por causa das impurezas, dos inertes, pela aquisição de produtos associados ou pelo uso simultâneo de várias substâncias (NOVATO - SILVA *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 1999; SILVA, 2000; SOARES *et al.*, 2003).

A imensa maioria dos estudos não considera a interação que os diversos compostos químicos podem estabelecer entre si e com sistemas biológicos orgânicos, sendo que essa interação pode até mesmo modificar o comportamento tóxico de um determinado produto, acarretando efeitos diversos sobre a saúde do grupo de trabalhadores expostos.

Este é um aspecto extremamente importante em relação a análise dos riscos e danos a saúde da população exposta e ao meio ambiente. Ressalte-se que a mistura de produtos se dá não apenas no campo, pela ação direta dos agricultores, mas também por meio das próprias empresas. De acordo com o SINDAG (2008) dos diversos pesticidas comercializados, vários representam misturas de ingredientes ativos, tais como 2,4-D + Diazinon (herbicida), Benalaxy + Mancozeb (fungicida) ou Deltametrina + Triazophos (inseticida).

A exposição combinada as substâncias químicas pode causar três tipos de efeitos sobre a saúde humana: independentes, sinérgicos (aditivos ou potencializados) e antagonísticos. Apesar de ainda pouco estudada, alguns trabalhos demonstraram que a resposta do organismo humano diante das exposições laborais combinadas pode ser influenciada por algumas características pessoais, tais como tabagismo, alcoolismo e o estado nutricional. (PERES *et al.*, 2001)

A. Substâncias químicas e temperaturas elevadas – o aumento da temperatura atmosférica aumenta a volatilidade e a pressão de vapor das substâncias químicas, aumentando sua disponibilidade para inalação e/ou absorção cutânea. Aumenta também a velocidade circulatória, contribuindo para maior absorção.

B. Substâncias químicas e esforço laboral – o esforço físico aumenta a ventilação pulmonar. Assim, o organismo se vê exposto a maiores quantidades de tóxicos existentes no ar.

Estes aspectos são relevantes, tendo em vista que os agricultores em geral desenvolvem as atividades de preparo e aplicação dos pesticidas numa situação em

que estão presentes, ao mesmo tempo, misturas de pesticidas, esforço físico e temperaturas elevadas.

1.7. A informação sobre as intoxicações por pesticidas

No Brasil, as informações em saúde encontravam-se dispersas em várias bases de dados de forma fragmentada e desarticulada. Como herança da vigilância epidemiológica das doenças infecciosas de notificação compulsória, privilegia-se o registro de doenças. Isto dificulta o conhecimento dos seus condicionantes e determinantes nas condições de vida e trabalho concretas dos trabalhadores (FREITAS *et al.*, 1986). Atualmente, as informações sobre saúde estão disponíveis na base de dados do sistema DATASUS. O sistema DATASUS foi criado e implantado em 1991. Este sistema é abastecido com os dados provenientes das secretarias de saúde dos estados e municípios.

A dificuldade de acesso dos agricultores às unidades de saúde, o despreparo das equipes de saúde para relacionar problemas de saúde ao trabalho em geral e a exposição aos pesticidas de forma particular, os diagnósticos incorretos, a escassez de laboratórios de monitoramento biológico e a inexistência de biomarcadores precoces e/ou confiáveis são alguns dos fatores que influenciam no sub-diagnóstico e no sub-registro. Portanto, pode-se afirmar que os dados oficiais brasileiros sobre intoxicações por pesticidas não retratam a gravidade de nossa realidade, como podemos constatar nos estudos de Freitas *et al.*, (1986), Peres *et al.*, (2001); Moreira *et al.*, (2002), dentre outros.

Entre as bases de dados de interesse na área de saúde do trabalhador podem-se destacar a Comunicação de Acidente do Trabalho (CAT), o Sistema de Mortalidade (SIM), Sistema de Internação Hospitalar (SIH) e o Sistema Nacional de Informação Tóxico-Farmacológica (SINITOX).

O SINITOX, criado em 1980 e vinculado à Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) é responsável pela coleta, compilação, análise e divulgação dos casos de intoxicação registrados pela Rede Nacional de Centros de Informação e Assistência Toxicológica (RENACIAT), atualmente composta de 36 unidades localizadas em 19 Estados e no Distrito Federal, que possuem a função de fornecer informação e orientação sobre o diagnóstico, prognóstico, tratamento e prevenção das intoxicações,

assim como sobre a toxicidade das substâncias químicas e biológicas e os riscos que elas representam à saúde

O SINITOX considera, desde 1999, casos de intoxicação e envenenamento causados por 17 agentes tóxicos, dentre eles pesticidas que são categorizados em: pesticidas de uso agrícola, pesticidas de uso doméstico, produtos veterinários e raticidas. Esta categorização é importante quando se deseja estudar o perfil de cada um desses agentes tóxicos. No entanto, para chamar a atenção das autoridades para o risco que o uso indiscriminado dos pesticidas representa a saúde das populações humanas é importante reunir essas quatro categorias em um único grupo, comumente denominado simplesmente de agrotóxicos ou pesticidas, que dessa forma adquire magnitude suficiente para se colocar como o terceiro principal agente tóxico em relação ao número de casos de intoxicação humana registrados pelo SINITOX, tanto ao país como um todo como a cada uma das cinco regiões geográficas, ficando atrás apenas dos medicamentos e dos animais peçonhentos. Com relação aos óbitos, não é preciso lançar mão desse artifício, pois os pesticidas de uso agrícola já concentram sozinhos a maioria dos óbitos.

O sexo masculino está presente na maioria dos óbitos para todos os tipos de pesticidas estudados, apresentando os maiores coeficientes de mortalidade. O risco de uma pessoa do sexo masculino morrer de intoxicação por pesticidas de uso agrícola é três vezes maior do que de uma pessoa do sexo feminino (SINITOX, 2010).

1.7.1. Classificação das intoxicações

Sabe-se que a exposição a um determinado produto químico em grandes doses por um curto período causa efeitos agudos, eventos amplamente descritos na literatura médica e científica. A associação causa/efeito é, geralmente, fácil de ser estabelecida (Tabela 4). Em linhas gerais, o quadro agudo varia de intensidade, desde leve até grave, podendo ser caracterizado por náusea, vômito, cefaléia, tontura, desorientação, hiper-excitabilidade, parestesias, irritação de pele e mucosas, fasciculação muscular, dificuldade respiratória, hemorragia, convulsões, coma e morte.

Diferente dos efeitos agudos, os crônicos são causados por exposições em longos períodos a baixas concentrações, são de reconhecimento clínico bem mais difícil, principalmente quando há exposição a múltiplos contaminantes, situação bastante comum no trabalho agrícola. Há, neste caso, maior dificuldade para o

reconhecimento de uma associação causa/efeito, prejudicando bastante o diagnóstico e tratamento do paciente intoxicado. Entre os inúmeros efeitos crônicos sobre a saúde humana estão descritas alterações imunológicas, genéticas, malformações congênitas, câncer, efeitos deletérios sobre os sistemas nervoso, hematopoiético, respiratório, cardiovascular, geniturinário, trato gastrointestinal, hepático, reprodutivo, endócrino, pele e olhos, reações alérgicas, alterações comportamentais (ALAVANJA *et al.*, 2005; COLOSSO *et al.*, 2003, GARCIA, 1996; SILVA *et al.*, 1999; SILVA, 2000).

1.7.1.1. Intoxicação aguda

As intoxicações por pesticidas geram custos sociais e econômicos bastante elevados, principalmente nos países em desenvolvimento. Segundo a Organização Internacional das Uniões de Consumidores- OIUC (2009), a cada quatro horas morre um trabalhador do setor agrícola de algum país em desenvolvimento. De acordo com a Organização Internacional do Trabalho (OIT, 2001), 14% das lesões ocupacionais, nesse mesmo setor, são ocasionadas por pesticidas. No Brasil os custos são altos, pois, além de ser o maior consumidor mundial de pesticidas, a legislação que trata da venda e consumo e os órgãos que fiscalizam o cumprimento destas leis são ineficazes.

No Brasil, as intoxicações agudas por pesticidas ocupam a terceira posição dentre os agentes causais, sendo a maioria dos casos por inseticidas organofosforados, piretróides, carbamatos e organoclorados (73%), raticidas (15,3%) e herbicidas (9,7%) (SINITOX, 2010).

As principais circunstâncias que ocasionam as intoxicações são ocupacionais, tentativas de suicídio e os acidentes (ALONZO, CORRÊA, 2002). No Estado do Ceará em 2009 foram registrados 1.667 casos de intoxicação aguda, destes 428 (25,67%) correspondem a intoxicações causadas por pesticidas. (SINITOX, 2010).

1.7.1.2. Intoxicação crônica

Quanto aos efeitos da intoxicação crônica (Tabela 5) é difícil atribuí-los a um só produto, pois os estudos mostram que as exposições crônicas envolvem uma mistura de várias substâncias, em concentrações e frequências de aplicações bastante variáveis. Diversos problemas de saúde estão relacionados à intoxicação crônica por compostos organofosforados: neurotoxicidade retardada (paralisia de nervos motores), distúrbios de personalidade e psiquiátricos, parkinsonismo, reflexos diminuídos,

redução da concentração, diminuição da memória, depressão, ansiedade, irritabilidade, polineuropatias, depressão da medula óssea e anemia aplástica, com possível risco de desenvolvimento subsequente de leucemias são relatados por Agapejev *et al.* (1986).

Os principais fatores responsáveis pelos danos causados pelo uso de pesticidas são a inexistência de uma política mais efetiva de fiscalização, controle, acompanhamento, aconselhamento técnico adequado na utilização destes agentes; o baixo nível de escolaridade, que torna difícil o entendimento, mesmo superficial, de informações técnicas; as práticas exploratórias de propaganda das firmas produtoras; o desconhecimento de técnicas alternativas e eficientes de cultivo; a pouca atenção dada ao descarte de rejeitos e de embalagens; e a utilização dos agrotóxicos e exposição continuada a esses produtos. Isso tudo torna o uso inadequado de pesticida um grande problema de saúde pública no meio rural (PERES, 1999; OLIVEIRA-SILVA *et al.*, 2000).

Diversos grupos populacionais estão sujeitos aos efeitos danosos dos pesticidas, seja por exposição direta ou indireta, todavia, os agricultores que entram em contato direto representam o grupo de maior risco. O contato direto ocorre na manipulação destes produtos, seja na preparação ou aplicação. O contato indireto ocorre de diversas formas, principalmente através de visitas à plantação, seleção da produção e outros contatos com as plantas que passaram por pulverizações. Mesmo os trabalhadores que mantêm apenas contato indireto sofrem efeitos agudos e crônicos causados pelos pesticidas. A população trabalhadora rural dificilmente se expõe a um único tipo de pesticida, portanto, o grande desafio à toxicologia nestas próximas décadas será a avaliação de indivíduos com múltiplas exposições por muitos anos (TRAPÉ, 2005).

Entre os fatores possíveis causadores da elevação da absorção dos inseticidas destacam-se como mais importantes: inadequada proteção individual; uso irregular dos equipamentos; uso repetido da mesma roupa contaminada durante dias; os hábitos no ambiente de trabalho; a inobservância de técnicas corretas de aplicação, inclusive durante os períodos de elevada temperatura ambiental, facilitando uma maior volatilização do princípio ativo e a conseqüente contaminação do meio ambiente laboral. Nos estudos de Soares *et al.*, (2003), os principais fatores de risco para a exposição são o não uso equipamento de proteção, lavagem de equipamentos em tanque de uso doméstico e uso de pulverizador costal manual.

Nas pequenas propriedades rurais o trabalho é basicamente familiar, fazendo com que toda a família manipule pesticidas e os trabalhadores começam a se contaminar com estes produtos ainda na infância, aumentando consideravelmente os riscos de sofrerem os efeitos nocivos da intoxicação crônica (MOREIRA *et al.*, 2002).

Tabela 4: Características das intoxicações agudas e crônicas por pesticidas.

Intoxicações	Aguda	Crônica
Características da Exposição	Única ou por curto período	Continuada por longo período
Sinais e Sintomas	Cefaléia, tontura, náusea, vômito, fasciculação muscular, parestesias, desorientação, dificuldade respiratória, coma, morte e hemorragias.	Ação neurotóxica retardada irreversível, distúrbios neuropsicológicos, lesão cerebral irreversível, tumores malignos, atrofia testicular, esterilidade masculina, formação de catarata, lesões hepáticas.

Fonte: (Calvert *et al.*, 2004; Keifer, 1997; Kamel, 2004) modificado

Tabela 5: Efeitos crônicos dos pesticidas sobre órgãos e sistemas humanos.

ÓRGÃO/SISTEMA	EFEITOS CRÔNICOS
Sistema nervoso	Síndrome asteno-vegetativa, polineurite, radiculite, encefalopatia, distonia vascular, esclerose cerebral, neurite retrobulbar, angiopatia da retina
Sistema respiratório	Traqueite crônica, pneumofibrose, enfisema pulmonar, asma brônquica
Sistema cardiovascular	Miocardite tóxica crônica, insuficiência coronária crônica, hipertensão, hipotensão
Fígado	Hepatite crônica, colecistite, insuficiência hepática
Rins	Albuminúria, nictúria, alteração do clearance da uréia, nitrogênio e creatinina
Trato gastrointestinal	Gastrite crônica, duodenite, úlcera, colite crônica (hemorrágica, espástica, formações polipóides), hipersecreção e hiperacidez gástrica, prejuízo da motricidade
Sistema hematopoiético	Leucopenia, eosinopenia, monocitose, alterações na hemoglobina
Pele	Dermatites, eczemas
Olhos	Conjuntivite, blefarite

Fonte: (Calvert *et al.*, 2004; Keifer, 1997; Kamel, 2004) modificado

1.8. Carcinogênese

Na Região Nordeste, as neoplasias representam a terceira causa de morte por doença, consistindo de 6,34% dos óbitos atestados, ficando apenas 0,02% atrás das doenças infecciosas e parasitárias (INCA, 2011). Além disso, as neoplasias estão proporcionalmente aumentando em relação às outras causas não naturais de mortalidade atingindo 14,5% do total das causas de mortes em 2010 (INCA, 2011).

A mutação no DNA é a alteração genuína do processo e que pode ser induzida externa ou internamente ao organismo. Os indutores externos são carcinógenos químicos (solventes aromáticos, clorados, agrotóxicos), físicos (radiações ionizantes e não ionizantes, campos eletromagnéticos) e biológicos (vírus, microorganismos). Os indutores internos podem ser entre outros, hormonais, imunológicos e enzimáticos que promovem mutações genéticas na estrutura do DNA. De modo geral, esses condicionantes estão presentes de forma interativa na promoção do processo de carcinogênese (RIBEIRO *et al.*, 2003).

Grande parte dos cânceres tem origem associada a fatores etiológicos ambientais ou hereditários. No caso do câncer hereditário, as mutações germinativas estão diretamente associadas a predisposição familiar para o desenvolvimento de tumores e, nesses casos específicos, o câncer é uma doença genética e hereditária (CAMARGO *et al.*, 1999). Assim, cerca de 5% a 10% dos cânceres são hereditários, provenientes de mutações na linhagem germinativa (FEARON, 1997). A susceptibilidade ao câncer pode se manifestar através das diferenças herdadas de uma classe especial de genes envolvidos com a proliferação celular, apoptose e/ou sistema de reparo do DNA, ou decorrente de alterações somáticas na expressão desses mesmos genes (PERERA, 1997).

Os fatores predisponentes ao câncer passaram a ser investigados com maior atenção a partir da década de 60, com a aceitação em 1965 do cigarro como sendo o maior causador de câncer de pulmão. Estudos epidemiológicos revelaram taxas de incidência de diferentes tipos de câncer nas diversas regiões do mundo. Por exemplo, no Japão, há uma maior incidência de câncer de estômago, devido aos hábitos alimentares, enquanto que a taxa de neoplasias de mama e de cólon é muito baixa. Nos Estados Unidos, essa proporção se inverte, mas quando um destes grupos étnicos migra de seu país de origem, pode deixar de desenvolver aquele tipo de câncer predominante da sua região original (COELHO, 1998).

Envelhecimento e estilo de vida não são suficientes para justificar o aumento global da incidência de câncer. Fatores ambientais contribuem de maneira mais forte do que normalmente é relatado para o aumento desta incidência. Produtos químicos relacionados a poluição ambiental parecem ser de fundamental importância, uma vez que podem induzir cânceres ligados a trabalhadores e outros tipos de neoplasias. As principais preocupações são: poluição do ar por partículas de carbono associados a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos; poluição do ar pela fumaça ambiental do tabaco, formaldeído e compostos orgânicos voláteis, como benzeno e 1,3-butadieno, o que poderá afetar principalmente as crianças; contaminação de alimentos por aditivos e contaminantes cancerígenos, como nitratos, pesticidas, dioxinas e organoclorados. Além destes, metais e metalóides cancerígenos, fármacos e cosméticos podem estar envolvidos. Embora a fração do risco atribuível a fatores ambientais ainda seja desconhecida, esta longa lista de fatores carcinogênicos e mutagênicos, especialmente apóia a hipótese segundo a qual inúmeros cânceres podem de fato ser causados pela recente modificação ambiental (BELPOMME *et al.*, 2007)

Estima-se que os vírus oncogênicos estejam envolvidos em todo o mundo em cerca de 16% de neoplasia (PISANI *et al.*, 1997), enquanto que variam de menos de 10% em países de alta renda para 25% na África (PARKIN *et al.*, 2001; TALBOT & CRAWFORD, 2005).

Pode-se supor que os cânceres relacionados a infecções provavelmente são mais freqüentes em países de alta renda do que é geralmente reconhecido, tanto que, além de vírus, algumas bactérias da microflora do trato gastrointestinal, incluindo *Helicobacter pylori* para neoplasia gástrica são reconhecidamente oncogênicos (IARC, 1995; ANDO *et al.*, 2006.). Alguns parasitas, como *Opisthorchis viverrini* para os cancros da vesícula biliar, *Schistosoma haematobium* para câncer de bexiga e algumas toxinas oncogênicas produzidas por fungos, incluindo aflatoxinas. (IARC, 1995) e, mais genericamente, vários tipos de inflamação (JACKSON, LOEB, 2001) tem sido reconhecidos como fatores de risco para carcinogênese.

A revolução industrial na segunda metade do século passado e suas conseqüências em domínios como a energia, transportes, agricultura, alimentação e saúde levou a sintetizar, produzir e introduzir no ambiente, milhões de substâncias químicas artificiais. Como resultado, de acordo com a Comissão Européia, cerca de 100.000 substâncias químicas tem sido até agora comercializadas, desde a última

guerra mundial, sem controle toxicológico suficiente. Tais produtos podem atuar como poluentes tóxicos e contaminam o ar, água, solo e alimentos. Muitas delas são cancerígenas, mutagênicas e/ou tóxicas para a reprodução (CLAPP *et al.*, 2005), podendo atuar como agentes mutagênicos, promotores ou ambos, ou ser co-carcinogêneos, o que significa que eles podem contribuir para a gênese do câncer e, portanto, para o aumento de sua incidência (EPSTEIN, 1994, 2004).

Acredita-se que cânceres profissionais representem 2–10% de todos os cânceres, mas esta porcentagem provavelmente é subestimada e pode ser tão alto quanto 15–20% em homens (CLAPP *et al.*, 2005). Em 1996, o Centro de Harvard para Prevenção de Câncer (HCCP) classificou 32 substâncias como carcinogênicas para humanos (HCCP, 1996).

Em um estudo, 28 agentes foram considerados carcinógenos profissionais definitivos em humanos, 27 carcinógenos profissionais prováveis e 113 como possíveis carcinógenos profissionais (SIEMIATYCKI *et al.*, 2004; CLAPP *et al.*, 2005).

Doll e Peto (1981) listaram somente 16 em 1981. Na Europa, pode haver 32 milhões de pessoas expostas a substâncias químicas carcinogênicas no trabalho (KAUPPINEN *et al.*, 2000). Destas substâncias, o amianto é um exemplo clássico. É um silicato de cálcio e magnésio hidratado. Era extensamente utilizado devido a sua resistência ao fogo e propriedades de retenção de calor. Não há nenhuma dúvida que amiantos são carcinogênicos e induzem cânceres ocupacionais, incluindo mesotelioma e aproximadamente 10% de cânceres do pulmão (IARC, 1977, 2002). Igualmente, diversos cânceres estão relacionados ao pó de madeira, afetando marceneiros (HAYES *et al.*, 1986; BLOT *et al.*, 1997, IARC, 1995).

Nas últimas décadas, várias centenas de pesticidas foram comercializados para a agricultura ou uso doméstico intensivo (biocidas). Muitos deles, especialmente os organoclorados, carbamatos e grupos carbinóis são classificados como cancerígenos prováveis ou possíveis, de acordo com a EPA dos EUA e a classificação da IARC (IARC, 1991), enquanto que vários são reconhecidos como cancerígenos a humanos (BELPOMME *et al.*, 2007).

Em crianças, vários estudos epidemiológicos revelaram aumento do risco relativo de câncer associado à exposição materna e paterna a pesticidas, seja exposição ocupacional ou não ocupacional (DANIELS *et al.*, 1997; ZAHM, WARD, 1998). O

aumento do risco foi observado em exposições paternas e maternas antes e durante a gravidez, bem como pós-natal. Exposição paterna a pesticidas está associada a um excesso de risco relativo de leucemia (MA *et al.*, 2002) e de tumores no sistema nervoso central, (CORDIER *et al.*, 2001; FEYCHTING *et al.*, 2001), bem como de tumores de Wilms (FEAR *et al.*, 1998). Além disso, uma associação positiva foi encontrada em vários estudos que avaliaram a exposição direta das crianças aos pesticidas (DANIELS *et al.*, 1997; ZAHM, WARD, 1998; US-EPA, 2003; MENEGAUX *et al.*, 2006). Coletivamente, estes estudos revelaram um aumento global no risco relativo de leucemia, linfomas não-Hodgkin, tumores cerebrais, tumor de Wilms, sarcoma de Ewing e tumores de células germinativas associadas às exposições dos pais ou de criança aos pesticidas. Por outro lado, em adultos, estudos epidemiológicos têm fornecido resultados conflitantes. A relação positiva entre pesticidas e câncer de mama ou de próstata tem sido invocadas (CHARLIER *et al.*, 2003; MUIR *et al.*, 2004; IBARLUZEA *et al.*, 2004; MILLS & YANG, 2006), enquanto em outros estudos não pode ser confirmada (POST *et al.*, 1999; STELLMAN *et al.*, 2000; GAMMON *et al.*, 2002; VAN MAELE-FABRY & WILLEMS, 2003). No entanto, uma forte associação entre pesticidas e o risco relativo de sarcoma (HARDELL *et al.*, 1995; DICH *et al.*, 1997) doença de Hodgkin e linfoma não-Hodgkin (HARDELL & ERIKSSON, 1999; ZHENG *et al.*, 2001; MCDUFFIE *et al.*, 2001; HARDELL *et al.*, 2003) foi encontrado para 1,1,1- tricloro-2,2-bis (p-clorofenil) etano (DDT) e clorofenóis.

1.8.1 Genotoxicidade dos pesticidas

Dentre os carcinógenos químicos estão os agrotóxicos, que podem induzir o câncer por mecanismos variados como genotoxicidade e promoção de tumores envolvendo mediadores hormonais; imunológicos e a produção de moléculas oxidantes (peróxidos) (RODVALL; DICH; WIKLUND, 2003). Para uma série de substâncias químicas, as evidências científicas relacionadas com esses mecanismos carcinogênicos ainda requerem maiores estudos na sua elucidação, entre elas os agrotóxicos, de modo geral, apresentam esses desafios (POTT, *et al.*, 2003). Essa associação está mais bem caracterizada nos cânceres de pulmão, mama, testículos, tireóide, próstata, ovário, e do sistema hematopoiético (linfomas não - Hodgkin, leucemias e mieloma múltiplo) (PIMENTEL, 1996).

Embora o Brasil seja o maior consumidor mundial de pesticidas, existem poucos trabalhos na literatura científica desenvolvidos por grupos brasileiros especificando os danos causados aos trabalhadores expostos cronicamente ou a relação entre a exposição e o desenvolvimento de câncer. Meyer *et al.* (2003) mostraram uma alta taxa de mortalidade para câncer de estômago, esôfago, laringe, câncer oral e leucemias em agricultores expostos a agrotóxicos na região Serrana do Rio de Janeiro. Já Koifman, Koifman e Meyer (2002) também descreveram o mesmo resultado nas neoplasias malignas de mama, ovário e próstata, em amostra de grupos populacionais expostos a pesticidas no período de 1985 a 1990.

Outros pesquisadores demonstraram relações entre a exposição aos pesticidas e o desenvolvimento de alguns tipos de neoplasias, como: exposição a inseticidas organoclorados e câncer de mama, aumento do risco ao câncer pancreático, linfoma não-Hodgkin, leucemias, além de câncer hepático (STELLMAN *et al.*, 2000; VIGREUX *et al.*, 1998; KALAJA *et al.*, 1996; DEMERS *et al.*, 2000). Segundo Bassil *et al.* (2007) há uma grande diversidade de resultados na associação de neoplasia maligna e agrotóxico, para certos tipos de câncer em humanos a associação com exposição aos agrotóxicos está bem demonstrada, no entanto, para outros ainda há carência de estudos com desenhos epidemiológicos adequados.

Estudos epidemiológicos sugerem relação entre classes sociais, trabalho e a exposição a agentes químicos, dentre estes, pesticidas, como fatores de risco para o surgimento de tipos específicos de tumores, alertando para a necessidade de implantação de políticas de controle ambiental no Brasil, com ênfase ao tabagismo e a exposição a agentes químicos (KOIFMAN, 2003).

A susceptibilidade ao câncer pode se manifestar através das diferenças herdadas de uma classe especial de genes envolvidos com proliferação celular, apoptose e/ou sistema de reparo do DNA, ou decorrente de alterações somáticas na expressão desses mesmos genes (PERERA, 1997).

Há muito tempo se associa o contato com algumas substâncias químicas ao aparecimento de câncer. Em 1876, Volkman observou incidência de câncer de pele em trabalhadores que manipulavam alcatrão e hulha (POTT, 1987). Uma maior incidência de câncer de bexiga em pessoas que trabalhavam na seleção manual de cristais de anilina (FLECK, 1992).

Atualmente, sabe-se que o câncer origina-se a partir de alterações (mutações) em genes, que codificam proteínas comprometidas com o controle da proliferação e da diferenciação celular ou de modificações em genes envolvidos nos mecanismos de reparo do DNA, levando à proliferação celular descontrolada, alterações das características celulares morfofuncionais e perda de sua capacidade de evoluir para a morte celular (apoptose). O câncer é, portanto uma doença genética, pois o processo de transformação maligna está relacionado a alterações em determinados genes, porém, apenas um pequeno percentual, 5% aproximadamente da incidência total de câncer, tem caráter hereditário, uma vez que a maioria das mutações que resultam em seu desenvolvimento atinge as linhagens somáticas, não repercutindo em riscos para geração seguinte. Diante dessa constatação fica explícito o fato que a grande maioria dos cânceres tem origem a partir da ação de determinados fatores ambientais de natureza química, física e biológica como os vírus (DOLL, PETO, 1981).

1.8.2 Carcinogênese no Brasil

No Brasil, as estimativas para o ano de 2011 apontam que ocorrerão 489.270 casos novos de câncer (INCA, 2011). Os tipos mais incidentes, a exceção do câncer de pele do tipo não melanoma, serão os cânceres de próstata e de pulmão no sexo masculino e os cânceres de mama e de colo do útero no sexo feminino, acompanhando o mesmo perfil da magnitude observada no mundo (INCA, 2011). A falta de conhecimento sobre os riscos para a saúde de indivíduos expostos no trabalho e de políticas educacionais são fatores fundamentais para o aparecimento do câncer.

Na literatura internacional, há reportado vários estudos sobre os efeitos genotóxicos produzidos em trabalhadores por exposição a pesticidas. Começando com o estudo da frequência de trocas de cromátides irmãs em linfócitos de sangue periférico até datas recentes em que se começou a utilizar desde medula óssea de camundongos (KRISHNA *et al.*, 1985) até células esfoliadas de mucosa bucal (BORTOLI *et al.*, 2009).

1.9. Biomarcadores de exposição

Os Biomarcadores de Exposição podem ser usados para confirmar e avaliar a exposição individual ou de um grupo, para uma substância em particular, estabelecendo uma ligação entre a exposição externa e a quantificação da exposição

interna. Segundo, AMORIM (2003) a ligação dos biomarcadores de exposição e efeito contribui para a relação da dose - resposta, refletindo a interação de substâncias químicas com os receptores biológicos.

A utilização de biomarcadores em pessoas expostas ocupacionalmente tem crescido devido à necessidade de se avaliar os riscos das exposições (KNUDSEN, HANSEN 2007). As pesquisas têm usado os testes de citogenética para avaliar o potencial genotóxico de populações expostas ocupacionalmente a pesticidas em vários países. Os danos citogenéticos estão diretamente relacionados ao surgimento de doenças genéticas, inclusive câncer, servindo também como parâmetros para adoção de medidas de controle e promoção da saúde dos trabalhadores (BOLOGNESI, 2002; BHALLI, 2006; BULL *et al.*, 2006; MUNIZ *et al.*, 2008).

1.9.1 Ensaio do cometa

O ensaio cometa é um método simples para analisar o ácido desoxirribonucleico (DNA), nas quebras de cadeia em células eucarióticas. As células incorporadas em agarose em uma lâmina são lisadas com detergente e sal para formar nucleóides contendo colóides de DNA ligada a matriz nuclear. Eletroforese em pH elevado resulta em estruturas semelhantes a cometas, observada por microscopia de fluorescência. A intensidade da cauda do cometa em relação a cabeça reflete a extensão de quebras de DNA. Os cometas são formados porque as regiões do DNA que contêm uma quebra desprendem-se da estrutura do colóide e tornam-se livres para migrar para o ânodo durante o processo de eletroforese.

Em 1970, Cook *et al.* desenvolveram uma abordagem para investigar a estrutura nuclear baseada na lise das células com detergente não-iônico e cloreto de sódio de alta molaridade. Este tratamento remove membranas, citoplasma, nucleoplasma e quase todas as histonas são solubilizadas pela solução salina elevada. O que resta é o nucleóide, consistindo uma matriz nuclear ou esqueleto, composto de ácido ribonucleico (RNA) e proteínas, juntamente com o DNA. A manutenção do colóide indica que a livre rotação do DNA não é possível. Estes autores propuseram um modelo com o DNA ligado em intervalos na própria matriz, de modo que seja efetivamente organizado como uma série de giros, em vez de uma molécula linear. A adição do brometo de etídio causa a expansão das alças para fora do nucleóide formando um halo. Um efeito similar foi observado quando a radiação ionizante foi

usada para relaxar os giros e a quebra de uma única fita foi suficiente para relaxar o colóide.

O ensaio cometa, também, em sua forma mais comumente usada, envolve a lise com detergente e sal, após a incorporação das células em agarose para que o DNA seja imobilizado e na sequência as lâminas são submetidas a eletroforese. A primeira demonstração de "cometas" (apesar de não usar a palavra) foi por Östling e Johanson (1984), que descreveram as caudas em termos de DNA como colóide relaxado, referindo-se ao modelo de nucleóide de Cook *et al.* (1976). Essencialmente, a cauda do cometa parece ser simplesmente um halo de fragmentos relaxados que foram arrastados para um lado do campo de eletroforese. Ostling e Johanson empregaram um pH inferior a 10. O ensaio cometa é mais comumente aplicado a célula de animais seja na cultura ou isolado do organismo (por exemplo, linfócitos do sangue ou de células de tecidos específicos). Entretanto, metodologias também tem sido desenvolvidas para examinar os danos ao DNA das células vegetais. A parede celular de celulose vegetal representa uma barreira a liberação de DNA para formar a cauda do cometa, mas, cortar fisicamente o tecido libera os núcleos para que estes sejam incorporados em agarose.

O processo de Östling e Johanson não foi amplamente adotado. Alguns anos mais tarde Singh *et al.* (1988) desenvolveu os procedimentos que envolvem o tratamento com pH elevado. Células lisadas em pH 10 com 2.5M NaCl, Triton X-100 e Sarkosyl por 1 h, seguindo com um tratamento com álcali (NaOH 0,3 M) e eletroforese em pH resultante elevado (> 13). Assim, cresceu a idéia de que a realização do teste do cometa em meio muito alcalino é essencial para revelar as quebras.

1.9.2. Aberrações cromossômicas

Aberrações cromossômicas (AC) representam a parte microscopicamente visível de um amplo espectro de alterações de DNA gerados por diferentes mecanismos de reparo da quebra de dupla fita do DNA. O método de hibridização *in situ* de fluorescência (FISH) descobriu complexidades inesperadas das AC. A distribuição intra e inter-cromossômica dos pontos de quebra não é aleatória. Os pontos de quebra que originam as AC ocorrem preferencialmente na cromatina ativa. Isso pode ser resultado da disposição dos cromossomos no núcleo interfásico e/ou de

sensibilidades diferentes de cromossomos em relação à formação de AC. Telômeros e seqüências repetitiva nos telômeros parecem desempenhar um papel importante na formação do AC. Regiões sub-telôméricas são pontos críticos para a formação de uma troca simétrica entre cromátides homólogas e aberrações nestas regiões estão associadas com anomalias congênitas humanas.

Visto que as aberrações cromossômicas induzidas são resultantes da interação com o DNA, podemos utilizar tais anomalias como indicadores de danos nesta molécula. Ou seja, por meio dos danos cromossômicos podemos avaliar a atividade mutagênica dos agentes. Os linfócitos do sangue circulante de mamíferos são um ótimo sistema para se testar uma substância quanto à sua capacidade em produzir aberrações cromossômicas. A técnica serve também para o monitoramento de populações expostas a drogas, seja por razões profissionais, terapêuticas ou por acidente. Supondo-se que haja uma correlação entre o dano induzido no sangue e em outras células somáticas, os linfócitos serviriam como um sistema sentinela para grupos de alto risco (RABELLO-GAY *et al.*, 1991; NORPPA, 2004)

1.9.2.1. Classificação das Aberrações Cromossômicas

As lesões cromossômicas são classificadas em estruturais e numéricas.

1.9.2.1.1. Aberrações estruturais

As aberrações estruturais podem ser divididas em dois grupos principais: as aberrações cromossômicas e as aberrações cromatídicas. As aberrações cromossômicas são aquelas em que a unidade de quebra e reunião é o cromossomo inteiro, isto é, as duas cromátides-irmãs; enquanto que apenas uma das duas cromátides-irmãs é atingida pela quebra ou troca quando se trata de uma aberração cromatídica (MOORE, BENDER, 1993).

Existe uma estreita relação entre os tipos de aberração de estrutura produzidos, a natureza do agente mutagênico utilizado e o estágio do ciclo celular no qual as células são expostas. No que diz respeito às substâncias químicas, estas podem ser divididas em duas classes: as que produzem aberrações em todas as fases do ciclo celular, S-independentes, e as que dependem da síntese de DNA para manifestar seu efeito, S-dependentes. As S-independentes induzem, tal como a radiação ionizante, quebras nas duas cadeias do DNA produzindo aberrações cromossômicas em G1,

cromatídicas em G2 e uma mistura dos dois tipos em S. As S-dependentes (como é o caso da hidroxiuréia) produzem, tal como a luz ultra-violeta, seu efeito na fase S ou quando as células passam por uma fase de síntese entre a exposição e a observação do efeito. As aberrações surgem devido a erros na duplicação do DNA, portanto, aquelas induzidas em G1 e S (observáveis na mitose subsequente), bem como em G2 (observáveis na segunda mitose após a exposição), são do tipo cromatídico (MOORE, BENDER, 1993; RABELLO-GAY, *et al.*, 1991).

Os dois grupos principais de aberrações estruturais descritas anteriormente podem ser subdivididas em vários tipos, como por exemplo:

a) As quebras cromatídicas (em uma cromátide) e cromossômicas (em ambas as cromátides) são definidas como uma descontinuidade visual ao longo do eixo longitudinal do cromossomo. Trata-se de uma interrupção real da cromatina com fragmentos visivelmente deslocados, incluindo fragmentos sem origem evidente (IPCS, 1985).

b) Os “gaps” são definidos como falhas que mantêm uma estreita conexão entre duas regiões coradas da cromátide. Ao contrário das quebras, os “gaps” não representam descontinuidades reais na cromatina. Embora o seu significado não seja bem compreendido, existem evidências que elas representam alterações ou defeitos na espiralização da cromatina ao nível da estrutura do cromossomo (BROGGER, 1982).

c) Os rearranjos são alterações cromossômicas que implicam na união simétrica ou assimétrica, completa ou incompleta de produtos de quebras isocromatídicas. Em geral, eles são reconhecidos pela formação de cromossomos dicêntricos, fragmentos, translocações recíprocas, cromossomos em anel, inversões e duplicações.

1.9.2.1.2. Aberrações numéricas

As aberrações numéricas são habitualmente classificadas em duas categorias: as euploidias, quando há uma alteração do conjunto cromossômico inteiro, e as aneuploidias, quando há uma alteração apenas parcial do conjunto cromossômico. Estas anomalias resultam essencialmente de uma interferência do agente mutagênico sobre o aparelho mitótico ou meiótico (microtúbulos do fuso). Esta interferência consiste, comumente, em uma inibição da polimerização dos microtúbulos. A importância da informação genética dos cromossomos perdidos, ou em excesso,

determina a capacidade da célula para sobreviver e se multiplicar (MITCHELL *et al.*, 1997).

Segundo Kucerova *et al.* (1982), teoricamente, as AC em linfócitos podem servir como um indicador de carcinogenicidade e de aumento de patogenia genética na progênie. Deste modo, o controle citogenético através do teste de AC assume um papel importantíssimo na análise qualitativa da mutagenicidade provocada pela exposição à população de compostos químicos, como pesticidas (ERGENE *et al.*, 2007; BONASSI *et al.*, 2008). Assim como a utilização de outros testes como o micronúcleo em linfócito de sangue periférico e em células esfoliadas de mucosa bucal em predizer o aumento do risco de câncer (IARMARCOVAI *et al.*, 2008; HOLLAND *et al.*, 2009), e o teste cometa que é considerado um teste rápido e sensível para detectar danos ao DNA causados por diferentes compostos (TICE *et al.*, 2000; FAUST *et al.*, 2004; BHALLI *et al.*, 2009).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Realizar biomonitoramento genotóxico dos agricultores expostos ocupacionalmente a mistura complexa de pesticidas nas comunidades rurais de Valparaíso e Jaburu I, respectivamente nos municípios de Tianguá e Ubajara, Estado do Ceará.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterização dos agricultores estudados;
- Identificar os pesticidas de uso mais freqüente pelos agricultores.
- Estimar os danos ao DNA em linfócitos sanguíneos periféricos dos agricultores expostos cronicamente aos pesticidas através do Teste do Cometa;
- Analisar e classificar as Aberrações Cromossômicas encontradas nos linfócitos dos agricultores expostos aos pesticidas;
- Investigar a presença de resíduos de pesticidas na água do reservatório Jaburu através de análises químicas, pois, este reservatório abastece a maioria das cidades da região da Ibiapaba–CE;

3. METODOLOGIA

3.1. Local de estudo

A Região da Ibiapaba é a maior macrorregião do Ceará e a que apresenta a maior diversidade de paisagens – mar, sertão e serras se fundem para formar um dos cenários mais belos do Estado. O agropolo Ibiapaba localiza-se no oeste do Estado do Ceará, compreendendo os municípios de Viçosa do Ceará, Tianguá, Ubajara, Ibiapina, São Benedito, Guaraciaba do Norte, Carnaubal, Croatá e Ipu (Figura 1). Tem uma população de 322.662 habitantes, área total de 4.121,20 Km² e densidade demográfica 78,29 hab/Km² (IBGE, 2010).

A serra de Ibiapaba é um maciço montanhoso em forma de chapada que se eleva à altura de aproximadamente 800 metros em seu ponto mais alto. Os ventos quentes e úmidos que vêm do sertão ao chegarem aos contrafortes da Ibiapaba se elevam e se esfriam formando um microclima especial que associado aos solos profundos da parte mais próxima da costa propiciam a existência de uma vegetação exuberante do tipo subperenifólia. Nas aluviões os solos tem um aproveitamento agrícola intensivo com a cultura de cana-de-açúcar e uma multiplicidade de culturas como frutas, hortaliças e grãos, na parte dos topos (IBGE, 2001).

Segundo dados da CEASA-CE (2009) sobre os produtos comercializados em suas instalações, a macrorregião da Ibiapaba destacou-se com 9.615,7 toneladas, seguida de Baixo Jaguaribe - 5.189,1 toneladas, Maciço de Baturité - 4.501,6 toneladas, Grande Fortaleza - 2.821,2 toneladas, Litoral de Aracati - 802,0 toneladas, e Cascavel - 554,7 toneladas.

A realidade dos agricultores destas regiões é bastante semelhante, por isso, a seleção dos voluntários foi direcionada aos municípios de Tianguá e Ubajara, mais especificamente, em duas comunidades rurais: Assentamento Valparaíso e Jaburu I, respectivamente.

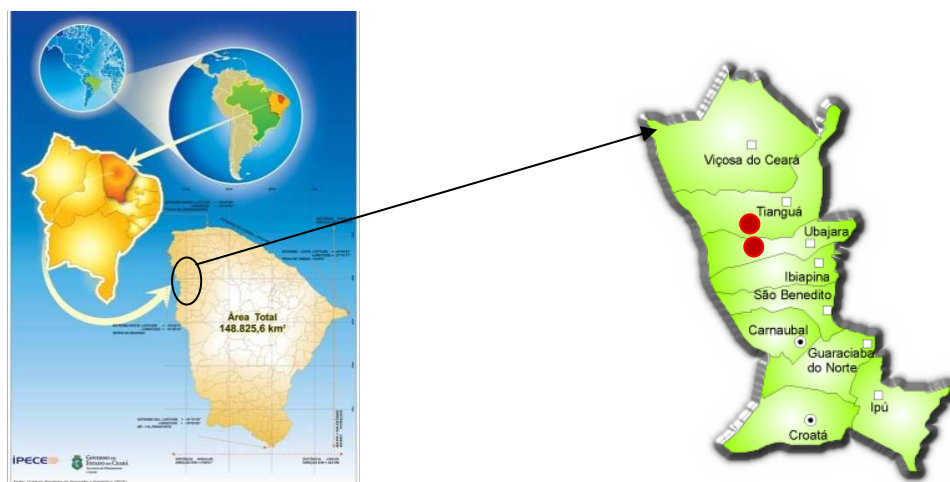


Figura 1- Localização das comunidades da Macrorregião da Ibiapaba-Ceará selecionadas para o estudo (Fonte: IBGE, 2010, IPECE, 2011).

O assentamento Valparaíso, situa-se no município de Tianguá, foi criado em 1982 através de parceria entre órgãos governamentais (INCRA) e a diocese local, atualmente é constituído por cerca de 70 famílias. A atividade econômica básica é a agricultura, marcadamente o cultivo de hortaliças, acerola e maracujá. A comunidade Jaburu I situa-se no município de Ubajara é constituída por agricultores residentes, casas de veraneio, além de fazendas e sítios. Está situada às margens do açude Jaburu. Este é um reservatório público de água, construído pelo governo federal na década de 80, sendo concluído em 1983. Deste açude é retirada a água que abastece muitos municípios da região da Ibiapaba, inclusive, Tianguá e Ubajara. Na comunidade Jaburu I as plantações estão, quase sempre, localizadas às margens do açude e utiliza-se a água do próprio açude para irrigação. Esta água, depois de utilizada retorna ao reservatório sem passar por qualquer tratamento, sugerindo uma contaminação por resíduos de pesticidas. O reservatório também serve como opção de pesca e lazer, sendo muito comum a presença de pescadores e banhistas.

A comunidade Jaburu I cresceu às margens do açude Jaburu, parte destas terras pertencem à União, pois, já haviam sido desapropriadas durante o processo de construção do açude e posteriormente foram retomadas por diferentes grupos de pessoas: agricultores, comerciantes, especuladores, dentre outros. Isso gerou um crescimento desordenado desta comunidade, mas atualmente, os órgãos públicos locais dão a assistência básica necessária, como, sistema de iluminação, água potável,

escolas, atendimento médico através do Programa de Saúde da Família (PSF) e transporte público.

Outra diferença quanto ao trabalho é que muitos agricultores da comunidade Jaburu I trabalham para terceiros ou empresas, ou seja, não possuem sua própria plantação. Isso acontece pelo fato de alguns não serem detentores de terras ou não reunirem condições financeiras para arcar com uma plantação. Já na comunidade Valparaíso os agricultores são os proprietários ou detentores das terras que cultivam, pois, na criação do assentamento, o terreno foi dividido em lotes e distribuído às famílias. Cada família recebeu uma quantidade de terras suficiente para explorar e desta retirar o seu sustento, porém, em alguns casos, a plantação é destinada a empresas. Quando isso ocorre, geralmente, a empresa financia todo o plantio, desde as sementes ou mudas, até os fertilizantes e pesticidas. Em contrapartida, o agricultor repassa toda a produção a essa empresa, normalmente, usando o preço vigente no mercado e estabelecendo-se um preço mínimo.

As duas comunidades são assistidas pelo Programa Saúde da Família (PSF) e nele encontram sua principal via de acesso à saúde. Em casos mais graves são encaminhados à sede do município de Tianguá ou Ubajara para receberem atendimento mais especializado. Porém, apesar de terem acesso à assistência médico-hospitalar não há um programa direcionado à prevenção ou tratamento de intoxicações causadas por pesticidas.

3.2. Caracterização das amostras

Inicialmente foram selecionados 35 agricultores, dos quais três não se submeteram a todos os procedimentos e foram excluídos da pesquisa. Ao final, 32 agricultores foram selecionados, 16 da comunidade Valparaíso e 16 da comunidade Jaburu I.

Os participantes foram esclarecidos sobre o projeto e assinaram o termo de consentimento esclarecido (Anexo 1), previamente aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, sob protocolo de 81/09 (COMEPE-UFC). Em seguida foram submetidos à aplicação de um questionário sócio-epidemiológico (Anexo 2), a fim de delinear o estudo a ser realizado.

3.3. Critérios de inclusão/exclusão

Para o estudo com os linfócitos humanos, foi utilizado sangue periférico de doadores voluntários, obedecendo aos seguintes critérios:

Critérios de Inclusão:

- Ser etilista ou tabagista;
- Ter entre 18 a 67 anos;
- Estar trabalhando há pelo menos 01 ano na lavoura com pesticidas;
- Usar ou não usar equipamento de proteção.

Critérios de Exclusão:

- Estar fazendo uso de algum medicamento;
- Está com alguma infecção (virótica ou bacteriana);
- Ter submetido a raios-X, tomografia ou qualquer outro procedimento radiológico a menos de 3 meses;
- Ter feito tratamento quimioterápico ou radioterápico em algum momento da vida;
- Sexo feminino

3.4. Coleta do material biológico

A coleta do material foi feita através de punção venosa por uma profissional (técnica em enfermagem) funcionária do Hospital Municipal de Viçosa do Ceará, nas dependências do próprio local de trabalho do agricultor selecionado. Após a coleta as amostras foram acondicionadas em cuba térmica resfriada com gelo e imediatamente transportadas às dependências do laboratório para serem processadas. No ato da coleta foram utilizados tubos *vacutainers* heparinizados e/ou com EDTA e a quantidade de sangue coletada foi de 10 mL. A amostra obtida foi usada exclusivamente para execução desta pesquisa e os dados obtidos foram encaminhados para revistas especializadas, sendo mantido o sigilo e respeitada a privacidade dos agricultores. Estes poderão a qualquer tempo solicitar informações sobre procedimentos e benefícios relacionados à pesquisa.

Para o grupo controle negativo, foram selecionados 31 voluntários doadores regulares de sangue no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará - HEMOCE, obedecendo aos critérios previamente descritos. Para controle positivo foram

selecionados 15 doadores regulares de sangue e seus linfócitos foram expostos a doxorrubicina, substância reconhecidamente genotóxica.

Todos os sujeitos participantes foram esclarecidos acerca dos objetivos da pesquisa, responderam a um questionário em que foram indagados sobre seus hábitos, idade, antecedentes ou qualquer outro fator que pudesse influir no resultado da pesquisa e assinaram um termo de consentimento, declarando estar ciente de todos os propósitos do estudo. O fluxograma do estudo nesse projeto seguiu o modelo de análise das possíveis lesões causadas pelos pesticidas (Figura 2).

3.5. Testes de genotoxicidade

No presente estudo a potencialidade genotóxica dos pesticidas foi avaliada por dois métodos, os quais são reconhecidamente sensíveis para detecção do dano ao DNA. O primeiro a ser usado foi a análise do cometa alcalino (SINGH *et al.*, 1988), em que a extensão da quebra do DNA foi avaliada através da análise dos linfócitos periféricos de indivíduos expostos ocupacionalmente aos pesticidas. O desenho experimental do estudo do cometa foi determinado pela proposta da análise levando-se em consideração a investigação do dano e o mecanismo de reparo. No resultado foi avaliado se houve ou não dano e foi estimado o tamanho desse dano ao DNA.

O segundo método foi o da análise de aberrações cromossômicas em cultura de linfócitos humanos, que foi estabelecido para a monitorização de populações expostas ocupacionalmente ou ambientalmente a agentes mutagênicos e carcinogênicos (PRESTON *et al.*, 1987).

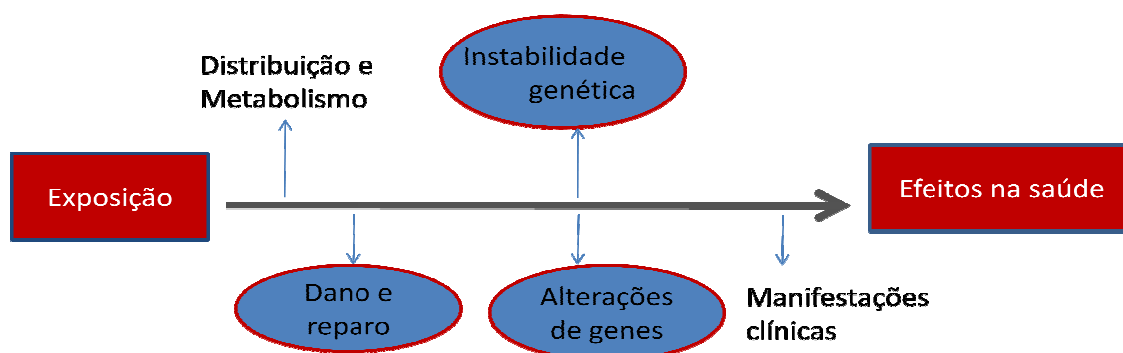


Figura 2 – Diagrama de pontos passíveis de análise pelo uso de biomarcadores (círculos azuis). (Fonte: Modificada de Au *et al.*, 1996).

3.5.1. Teste do cometa alcalino

3.5.1.1. Protocolo experimental

Neste estudo a análise de dano ao DNA pelo método do cometa alcalino foi conduzida como descrito por Singh *et al.*, (1988) com mínimas modificações (COLLINS, 2004; HARTMANN, SPEIT, 1997, ANDERSON *et al.*, 1994).

Nos protocolos executados foi realizada a análise estatística correspondente a cada estudo, evitando assim resultados falsos positivos.

3.5.1.2. Isolamento e manutenção dos linfócitos

Os linfócitos foram isolados através de gradiente de densidade. Uma amostra de 3 mL de sangue periférico foi diluída em 5mL de PBS. Essa solução foi adicionada a um tubo Falcon contendo 2 mL de ficoll e, posteriormente, centrifugada por 30 minutos a 1500 rpm. Após a centrifugação, a solução foi separada, em virtude da densidade do histopaque, em três camadas visíveis. Uma superior (soro), uma intermediária (linfócitos e histopaque) e uma inferior (hemácias). Em seguida, a região intermediária entre as hemácias e o soro, chamada “nuvem de linfócitos” foi aspirada e adicionada a um terceiro tubo contendo PBS, o qual foi centrifugado por 20 minutos a 1000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* de linfócitos foi ressuspendido em 2mL de PBS. Os linfócitos foram utilizados imediatamente após o processo de isolamento.

3.5.1.3. Preparação das lâminas

As lâminas foram previamente cobertas com agarose de ponto de fusão normal (0,5%) a uma temperatura de 60°C em solução de PBS livre de Ca^{2+} e Mg^{2+} , mantidos a temperatura ambiente até a solidificação da agarose de baixo ponto de fusão. Os linfócitos isolados foram embebidos em uma solução de agarose de baixo ponto de fusão (1,5%) a 37°C e adicionadas às lâminas pré-cobertas com agarose de ponto de fusão normal. Posteriormente, as lâminas foram cobertas com lamínulas para uniformizar a distribuição do material na lâmina e mantidas a 4°C para solidificação da agarose. Para cada amostra foram confeccionadas e analisadas quatro lâminas.

3.5.1.4. Lise celular

Após solidificação da agarose a laminula foi delicadamente removida e as lâminas imersas na solução de lise (5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, 1% N-Lauroyl sarcosine; a pH 10,0; 1% Triton X 100; 10% DMSO), protegida da luz e deixada à baixa temperatura (4°C) por no mínimo 1 h.

3.5.1.5. Neutralização e eletroforese

As lâminas foram removidas da solução de lise e neutralizadas por 15 minutos na solução de neutralização (0,4 M Tris, pH 7,5). Em seguida, foram dispostas horizontalmente na cuba de eletroforese e cobertas com a solução tampão de corrida a 4°C (1 mM Na₂EDTA; 300 mM NaOH; pH > 13) até cobertura total. As lâminas repousaram por 20 min. para permitir o desenrolamento do DNA e a expressão do dano antes da eletroforese. A eletroforese foi conduzida a baixa temperatura, 4°C por 20 min., usando 25 V e corrente de 300 mA. Todos esses passos foram conduzidos na ausência de luminosidade (a luz causa danos ao DNA). Após eletroforese as lâminas foram retiradas da cuba e mergulhadas numa solução tampão (0,4 M Tris, pH 7,5) durante 5 min, para neutralizar a alcalinidade (figura 3). Após a corrida em eletroforese as lâminas foram fixadas com etanol a 100%.

3.5.1.6. Análise dos dados

Após a fixação das lâminas em etanol 100%, aplicou-se 30µL da solução de Brometo de Etídio (20µg/mL) e cobriu-se com laminula para análise em microscópio de fluorescência (Zeiss) equipado com um filtro de excitação de 515–560 nm, um filtro de barreira de 590 nm e objetiva de 40x. A análise foi realizada de acordo com o padrão de escores previamente determinados pelo tamanho e intensidade da cauda do cometa, indicando o grau de quebra do DNA (Figura 4). Diretrizes e recomendações internacionais para o ensaio do cometa consideram que o escore visual dos cometas é um método de avaliação bem validado, apresentando uma alta correlação com as análises de imagens computadorizadas. Foram contados 100 cometas (100 cometas para cada replicata), que foram classificados de acordo com a porcentagem de DNA na cauda do cometa. O índice de dano (ID), sendo uma medida sensível de dano baseada na migração do DNA, variou de 0 (Sem dano: 100 células x 0) a 400 (Com dano

máximo: 100 células x 4) (COLLINS *et al.*, 1997; SILVA *et al.*, 2000; CAVALCANTI *et al.*, 2009).

Amostras de linfócitos isolados dos doadores componentes do controle negativo foram expostas a doxorrubicina (0,55 μ M) por 3 h antes do mesmo processo de criopreservação e avaliadas como controle positivo. A doxorrubicina é um agente químico reconhecidamente mutagênico e carcinogênico. (GUIMARÃES *et al.*, 2010)

O índice de dano (ID) foi obtido pela seguinte fórmula: $ID = \sum_{i=0}^4 n_i \times i$, onde n_i

é o número de células com nível de dano i (0, 1, 2, 3 ou 4). A frequência de dano (FD) representa a porcentagem de células que sofreram danos no DNA.

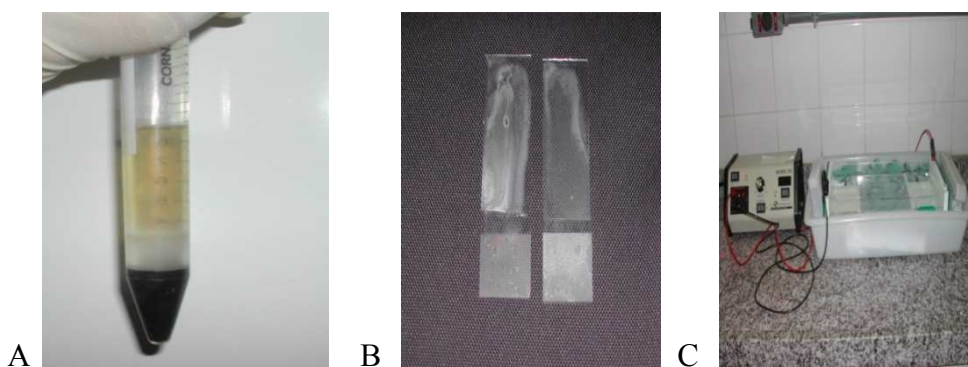


Figura 3: Método do Cometa: A – isolamento dos linfócitos; B – Preparação das lâminas; C – Eletroforese. (Fonte: RAMOS, M. E. S. P, 2004).

3.5.1.7. Análises Estatísticas

Os dados foram analisados a partir da média e do desvio-padrão. Para verificação da ocorrência de diferenças significativas entre os diferentes grupos os dados foram comparados por análise de variância (ANOVA) seguida por Teste de Tukey, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) no programa *GraphPad Prism* versão 5.0.

- 0 = sem danos (<5%)
- 1 = baixo nível de danos (5 – 20%)
- 2 = médio nível de danos (20 – 40%)
- 3 = elevado nível de danos (40 – 95%)
- 4 = dano total (95%)

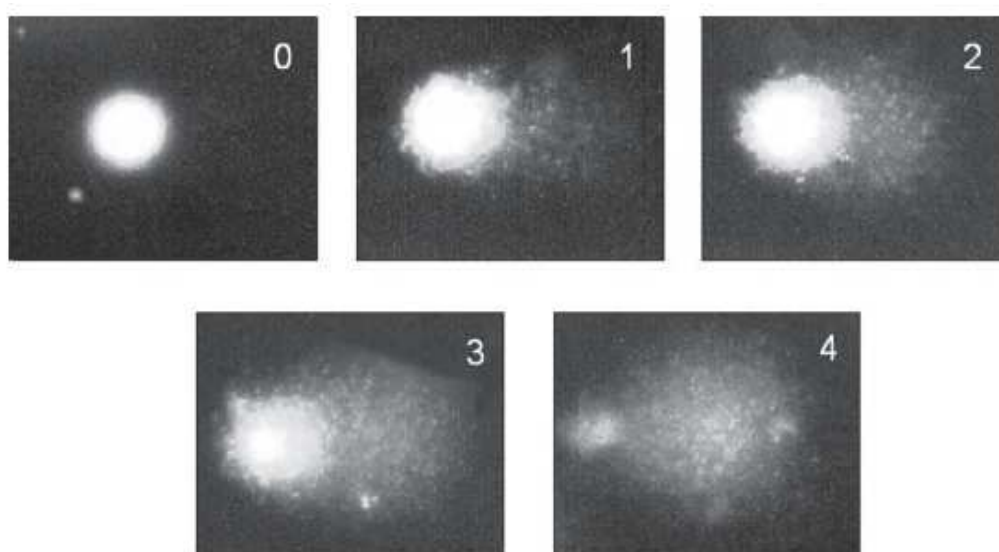


Figura 4: Tipos de cometas: Representação dos cometas corados com brometo de etídio e visualizados no microscópio de fluorescência. (Fonte: Modificada de Speit, Hartmann, 1999).

3.5.2. Aberrações cromossômicas

Uma grande variedade de agentes é capaz de induzir lesões no DNA celular e quando não são reparadas ou o são de forma inadequada podem resultar em aberrações cromossômicas. Tais aberrações podem ser visualizadas por microscopia óptica quando as células são observadas em metáfase. São denominados clastogênicos os agentes que induzem aberrações cromossômicas estruturais enquanto que aqueles que induzem alterações numéricas são denominados aneugênico, podendo tais agentes ser de natureza química, física ou biológica (LÉONARD, 1990).

A maioria das aberrações cromossômicas (AC) é letal para as células que as carregam ou para as células filhas, mas se não houver perda de material genético, a célula poderá sobreviver à divisão celular e transmiti-la às gerações futuras (WHO, 1985).

3.5.2.1. Protocolo experimental

As preparações metafásicas para a análise convencional de AC foram obtidas seguindo alguns passos: linfócitos humanos periféricos foram obtidos em vacutainers heparinizados. As culturas foram preparadas com 1 mL de plasma em 10 mL de cultura consistindo de 80% RPMI e 20% de Soro Fetal Bovino, antibiótico (100 UI/mL de penicilina e 100µg/mL de estreptomicina) e estimulados com 4% (de

fitohemaglutinina). Os frascos foram mantidos em estufa a 37 °C por 72 horas, na ausência de drogas e colchicina (16µg/mL, Sigma) foi adicionada 2 horas antes da fixação (até 70 horas). Os frascos voltaram à estufa. As metáfases foram preparadas usando a técnica modificada de Moorehead *et al.* (1960).

Na sequência, esse material foi levado para a centrífuga por 5 minutos a uma rotação de 1000 rpm, sendo descartado o sobrenadante, restando 1ml. Adicionou-se 4ml de KCl (0,075%), agitando o material, deixando em banho maria por 20 minutos, visando expandir a membrana celular para liberação e melhor visualização cromossômica. A seguir foi adicionado 0,5ml de fixador (na proporção de 3:1 de metanol para ácido acético a 100%), posteriormente foi realizado uma nova centrifugação a 1000 rpm descartando o sobrenadante, permanecendo 1ml.

Foram realizadas sucessivas centrifugações com posteriores remoções de sobrenadante, até a purificação e limpeza do material cromossômico (com 4 mL de fixador mais ou menos 3 vezes). Na terceira lavagem com o fixador o material foi para geladeira a uma temperatura em torno de 7,5°C, por 1 hora (CONGER, 1953). Em seguida o material foi ressuspendido e levado à centrífuga, retirou-se o sobrenadante e procedeu-se o gotejamento sobre 4 lâminas.

Para a realização da coloração convencional, as lâminas foram coradas com solução Giemsa (Wright) e tampão fosfato (pH = 6,8) na proporção de 1:3 durante 4 minutos. Em seguida lavou-se com água destilada, sendo colocadas para secarem a temperatura ambiente (BACHS *et al.*, 1992) (Figura 5).

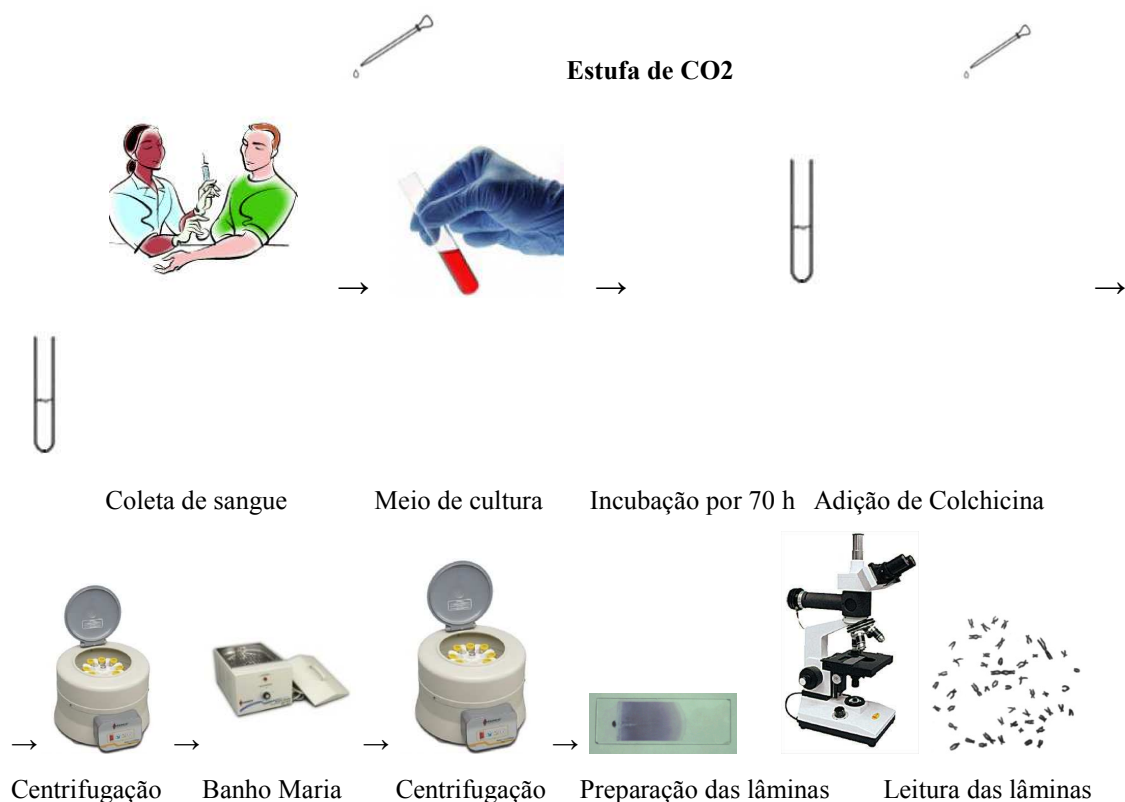


Figura 5 – Sequência esquemática do teste de aberrações cromossômicas em linfócitos de sangue periférico. (Fonte: RAMOS, M. E. S. P., 2004).

3.5.2.2 Análise dos dados

As lâminas foram analisadas em teste cego. A análise foi realizada em metáfases bem espalhadas e sem sobreposição. Foram analisadas no mínimo 150 metáfases por amostra, em microscópio óptico em objetiva de 100 X, para pesquisar a presença de aberrações cromossômicas.

3.5.2.3. Análises estatísticas

Para análise dos dados foram obtidas distribuições absolutas, percentuais e as medidas estatísticas: média e desvio padrão. Os testes estatísticos foram realizados utilizando-se a margem de erro de 5,0%.

3.6. Análise de resíduos de pesticidas na água do açude Jaburu, Planalto da Ibiapaba, Ceará.

A água do açude Jaburu foi submetida a análises para resíduos de pesticidas no Instituto de Pesquisas Tecnológicas de Pernambuco-ITEP. Para isso foi retirada uma amostra diretamente do reservatório e enviada, devidamente acondicionada, à sede do laboratório.

As substâncias investigadas nos ensaios foram: acefato, aldrin, aletrina, azinfós etílico, azinfós metílico, azoxistrobina, binfentrina, bromopropilato, captana, carbaril, carbendazim (benomil, tiofanato metílico), carbofenotiona, carbofurano, ciflutrina (1, 2, 3 e 4), cimoxanil, cipermetrina (cis e trans), ciproconazol, clordano (alfa e gama), clorfenvinfós, clorotalonil, clorpirifós, clorpirifós metílico, DDT total (o,p'-DDD, p,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'-DDT), deltametrina, diazinona, diclorvós, dicofol, dieldrin, difenoconazol (1 e 2), dimetoato, dissulfotom, endosulfam (alfa, beta e sulfato), endrim, esfenvarelato, etiona, etoprofós, etrinfós, fenamifós, fenarimol, fenitrotriona, fenpropatrina, fentiona, fentoato, fenvarelato, fluasifope-p-butílico, flutriafol, folpete, forato, HCB, HCH (alfa, beta e delta), heptacloro, heptacloro epóxido, imazalil, iprodiona, lambdacialotrina, lindano, malaoxona, malationa, metamidofós, metidationa, mevinfós (cis e trans), miclobutanil, mirex, monocrotofós, l-naftol, ometoato, oxifluorfem, paraoxona metílica, parationa etílica, parationa metílica, paraoxona etílica, permetrina (cis e trans), pirazofós, pirimifós etílico, pirimifós metílico, procimidona, procloraz, profenofós, propargito, propiconazol (I e II), tebuconazol, terbufós, tetradifona, tiabendazol, triazofós, triclorfom, trifluralina, vamidotona (sulfona e sulfóxido), vinclozolina, bioaletrina (1 e 2), fipronil, aldicarbe (sulfona e sulfóxido), boscalide, furatiocarbe, imidacloprido, iprovalicarbe, metomil, penconazol, espinosade (A e D), tiametoxam, tiodicarbe, bitertanol, carbosulfano, clorfenapir, clofentazina, cresoxim metílico, dimetomorfe, etefom, famoxadona, fenpiroximato, fosadona, fosmete, metalaxil, metconazol, piraclostrobina, piridabem, quintozeno, tetraconazol, tiaclopride, triadimefom, triadimenol, triflumizol, aldicarbe, acetamipride, aldicarbe total, buprofezina, clofentezina, ciprodinil, diclofluanida, diniconazol, diurom, dodemorfe, epoxiconazol, espiroxamina, etiofencarbe (sulfona e sulfóxido), etofenproxi, fenazaquina, fenhexamide, flusilazole, fostiazato, hexaconazol, linurom, metiocarbe (sulfona e sulfóxido), nuarimol, oxadixil, paclobutrazol, pencicurom, pirimicarbe, pirimicarbe

desmetil, propoxur, piridafentona, pirifenox, pirimetanil, piriproxifem, tebufenpirade, tridemorfe, trifloxistrobina, ciromazina, ametrina, bromuconazol, dazomete, tiobencarbe, quinalfós, 3-hidroxi-carbofurano.

3.7. Material utilizado na pesquisa

Aparelhos e Instrumentos Laboratoriais:

- Becker graduado capacidade 50mL
- Béqueres (SIMAX)
- Caixas para guardar lâminas
- Câmara umidificada
- Centrífuga (FANEM)
- Cubas
- Estante suporte para tubos de centrífuga
- Estufa
- Garrote
- Geladeira e *freezer*
- Lâminas e lamínulas para microscopia
- Microscópio de fluorescência
- Microscópio óptico binocular (EMBRAEME)
- Pipeta de Pasteur com pipetador
- Pipeta Sorológica Estéril 10mL
- Pipetador acoplamento de pipetas 10ml
- Proveta graduada capacidade 100mL
- Seringas descartáveis 1 mL
- Seringas descartáveis 10 mL e agulhas 25 x 7
- Seringas descartáveis de 10 mL e agulhas de 25 x 7
- Tubo Eppendor - 1,5 mL
- Tubo falcon 15 ml
- Tubos de ensaio de vidro (PIREX)
- Tubos Eppendor 1,5 mL
- Tubos para centrífuga 15 mL (Laborglas)

Drogas, Soluções, Líquidos e Corantes

- Ácido acético glacial 100%
- Agarose 0,5% LMP
- Agarose 1,5% (USO)
- Água destilada
- Álcool 70%
- Álcool 90%
- Colchicina (0,0016%)
- DMSO 5%
- Doxorrubicina 0,3 µg/mL (ZODIAC)
- Etanol 100%
- Ficoll Hypaue
- Fitohemaglutinina
- Gelo
- Giemsa eosina azul de metileno
- Heparina Sódica 5000 u/i
- Meio RPMI 1640
- Metanol
- PBS (Salina Fosfato Tamponada)
- Solução de Brometo de Etídio (GIBCO)
- Solução de EDTA
- Solução de Eletroforese
- Solução de Lise (USO)
- Solução de NaOH
- Solução KCl
- Solução Tampão de Neutralização
- Solução tampão fosfato
- Soro Fetal Bovino
- Tripsina em pó

Outros

- Algodão
- *Blood stop*
- Garrote
- Gazes
- Luvas descartáveis

4. RESULTADOS

4.1. Características da amostra estudada

Constatamos, através das entrevistas com os agricultores expostos a pesticidas, que os procedimentos para compra e consumo destes produtos não seguem as recomendações legais e que o descarte das embalagens fica sob a responsabilidade dos próprios agricultores que, comumente, as abandonam na própria plantação e periodicamente as queimam ou enterram. Não há qualquer acompanhamento por parte dos órgãos públicos e são os próprios agricultores, baseados em experiências, que decidem o destino das embalagens. As portarias 25/2001 e 86/2005 do Ministério do Trabalho e Emprego-MTE, definem todos os procedimentos a serem adotados, desde a comercialização até o descarte das embalagens.

O tempo de exposição individual dos agricultores estudados aos pesticidas foi bastante variável, porém, como a atividade de agricultura representa a forma de sustento destas pessoas o tempo de exposição é longo e a maioria começou a manipulá-los ainda na infância ou na adolescência. As características das duas populações estudadas e do grupo controle estão representadas na tabela 6.

A escolaridade está representada na tabela 7. Não foi relatado nenhum caso de câncer para os agricultores ou para seus parentes.

Tabela 6. Características da amostra estudada.

	Comunidades Rurais		
	Controle	^aComunidade I	^bComunidade II
Tamanho da amostra	31	16	16
Idade (anos) \pm E.P.M.	29.26 \pm 2.75	41,31 \pm 11,19	34,12 \pm 12,29
Faixa (idade máx. e mín.)	18 – 38	27-67	19-60
Tempo de exposição (anos) \pm E.P.M.	0	7,68 \pm 5,19	11,12 \pm 4,75
Intervalo (tempo máx. e mín.)	0	2-17	3-20
Uso de tabaco			
Não fumantes (%)	97.30 ^c	100 ^c	100 ^c
Fumantes (%)	2.70 ^c	0 ^c	0 ^c
Etilismo (álcool)			
Não Etilista (%)	92.64 ^c	100 ^c	100 ^c
Etilista (%)	7.36 ^c	0 ^c	0 ^c

^aComunidade I (Assentamento Valparaíso); ^bComunidade II (Jaburu I); ^c baseado em respostas de um questionário aplicado

Tabela 7. Escolaridade dos agricultores

Escolaridade (anos)	Quantidade	%
Até 4	11	34,4
5 a 10	20	62,5
Acima de 11	01	3,1
Total	32	100

A variedade de pesticidas que cada agricultor entra em contato também é muito diversificada, pois, há uma grande variação nos tipos de culturas no decorrer das estações anuais. Além disso, à medida que as pragas vão se tornando resistentes os pesticidas são substituídos por outros mais eficientes. Os pesticidas mais utilizados são justamente os que pertencem às classes toxicológicas mais perigosas, segundo a classificação da EPA (Tabela 8).

Tabela 8. As principais classes química e toxicológicas dos pesticidas utilizados pelos agricultores em ambas as comunidades.

Classe química do pesticida	Números de princípios ativos ^a	Classe toxicológica ^b	Frequência de uso em misturas
Organofosforados	7	I e III	> 62%
Carbamatos	1	III	> 3%
Ditiocarbamatos	1	III	> 46%
Tiocarbamatos	1	II	> 3%
Piretróides sintéticos	4	I e II	> 12%
Triazóis	1	II	> 3%
Benzimidazóis	1	IV	> 3%
Benzoiluréia	1	IV	> 6%
Inorgânicos	5	III e IV	> 6%

^anúmero de diferentes tipos de princípios ativos de cada classe química. ^brefere-se a um sistema de classificação (quatro classes), instituído pela United States Environmental Protection Agency (EPA)

A tabela 9 representa os tipos de pesticidas que os agricultores estiveram expostos e suas principais características.

Tabela 9. Pesticidas utilizados pelos agricultores e suas principais características.

NOME COMERCIAL	PRINCÍPIO ATIVO	USO	GRUPO QUÍMICO	CLASSE TÓXICA	% DE USO
AGRIMAICIN 500	Sulfato de cobre	Fungicida	Inorgânico	III	3,1
AGRINOSE	Oxicloreto de cobre	Fungicida	Inorgânico	IV	6,2
AGRITOATO 400	Dimethoate	Inseticida, acaricida	Organofosforado	I	12,5
ALSYSTIN	Triflumuron	Inseticida	Benzoiluréias	IV	6,2
BENLATE 500	Benzidamizol	Fungicida	Não classificado	III	3,1
CERCOBIN	Tiofanato metílico	Fungicida	Benzimidazol	IV	3,1
CUPRAVIT AZUL	Oxicloreto de cobre	Fungicida	Inorgânico	IV	6,2
CUPRAVIT VERDE	Oxicloreto de cobre	Fungicida	Inorgânico	IV	6,2
CURACON 500	Profenofôs	Inseticida, acaricida	Organofosforado	III	3,1
DEROSAL 500	Carbendazin	Fungicida	Benzimidazóis	III	3,1
DICOFOL	Dicofol	Acaricida	Organoclorado	II	6,2
FERSOL					
DIPEL	Bacillus thuringiensis	Inseticida	Não classificado	IV	3,1
ELSAN	Fentoato	Inseticida	Organofosforado	I	9,3
FASTAK 100	Alfa- cipermetrina	Inseticida	Piretróide	II	3,1
FOLIDOL	Paration metílico	Inseticida, acaricida	Organofosforado	I	37,5
FOLISUPER 600	Paration metílico	Inseticida, acaricida	Organofosforado	I	21,8
KARATÊ 50 CE	Lambda cialotrina	Inseticida	Piretróide	II	6,2
MANAGE 150	Imibenconazole	Fungicida	Triazol	II	3,1
MANZATE 800	Mancozebe	Fungicida	Ditiocarbamato	III	46,8
RECOP	Oxicloreto de cobre	Fungicida	Inorgânico	IV	3,1
STRON	Metamidofôs	Inseticida, acaricida	Organofosforado	II	12,5
TALCORD 250 CE	Permetrina	Inseticida	Piretróide	I	12,5
TAMARON	Metamidofôs	Inseticida, acaricida	Organofosforado	II	62,5
THIOBEL 500	Cloridrato de cartape	Inseticida	Tiocarbamato	II	3,1
THIODAN CE	Endossulfan	Lesmicida, moluscicida	Piretróide	II	3,1
VERTIMEC 18	Abamectina	Inseticida, acaricida	Avermectina	I	31,2

4.2. Uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI)

Os agricultores informaram conhecer os possíveis danos à saúde causados pela exposição aos pesticidas, porém, a maioria não demonstrou maiores preocupações.

Nenhum dos agricultores relatou usar os equipamentos de proteção individual de maneira adequada. Alguns usavam de maneira inadequada, seja por não utilizar o equipamento completo ou por improvisarem máscaras e roupas (Figura 6). Para os trabalhadores expostos a pesticida durante a pulverização em plantações os EPI recomendados são: macacão de segurança para proteção do tronco e membros superiores e inferiores contra respingos de produtos; respirador e purificador de ar para proteção das vias respiratórias contra poeiras e névoas; óculos de segurança para proteção dos olhos contra respingos de produtos químicos. Protetor facial de segurança para proteção da face contra respingos de produtos químicos; calçado de segurança para proteção dos pés e pernas contra respingos de produtos químicos e botas impermeáveis. (Portaria n.º 25, Ministério do Trabalho e Emprego, MTE, 2001).

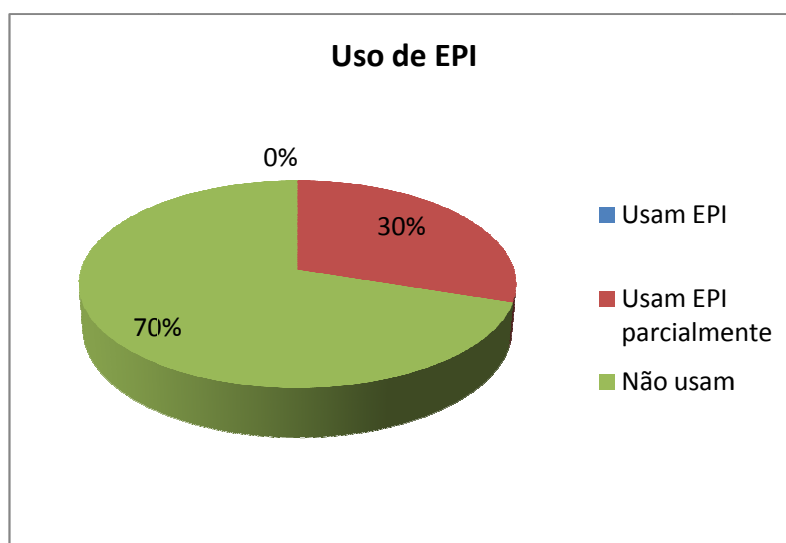


Figura 6 - Utilização de EPI pelos agricultores

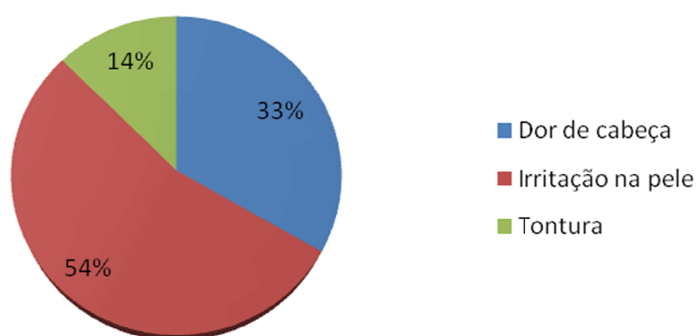
É comum os agricultores apresentarem sintomas de intoxicação após a aplicação dos pesticidas, 25% dos agricultores estudados relataram sentir sintomas após a aplicação de pesticidas (Tabela 10).

Tabela 10. Apresentaram sintomas de intoxicação após contato com pesticidas

	Quantidade	%
Não Sentem	24	75,0
Sentem	08	25,0
Total	32	100,0

Os sintomas relatados foram dor de cabeça, tontura, irritação na pele (Gráfico 7).

Tipos de sintomas

**Figura 7.** Sintomas de intoxicação relatados pelos agricultores após manuseio de pesticidas.

4.3. Análise da água do reservatório Jaburu, Planalto do Ibiapaba, Ceará

A análise da água do reservatório Jaburu foi feita de acordo com o protocolo descrito por Eaton *et al.* (1995). Os resultados da análise evidenciaram que resíduos dos pesticidas pesquisados não foram detectados (Anexo 3).

4.4. Teste do Cometa

O teste do cometa mostrou que as populações expostas ocupacionalmente aos pesticidas apresentaram em relação ao grupo controle negativo (não expostos) um discreto aumento ($P < 0,05$) nos índices e frequências de dano ao DNA (Figura 10). A análise realizada por estratificação com o intuito de correlacionar o aumento dos danos ao DNA (índice e frequência de dano) com o tempo de exposição revelou que não houve diferenças entre os diferentes estratos (Figura 8).

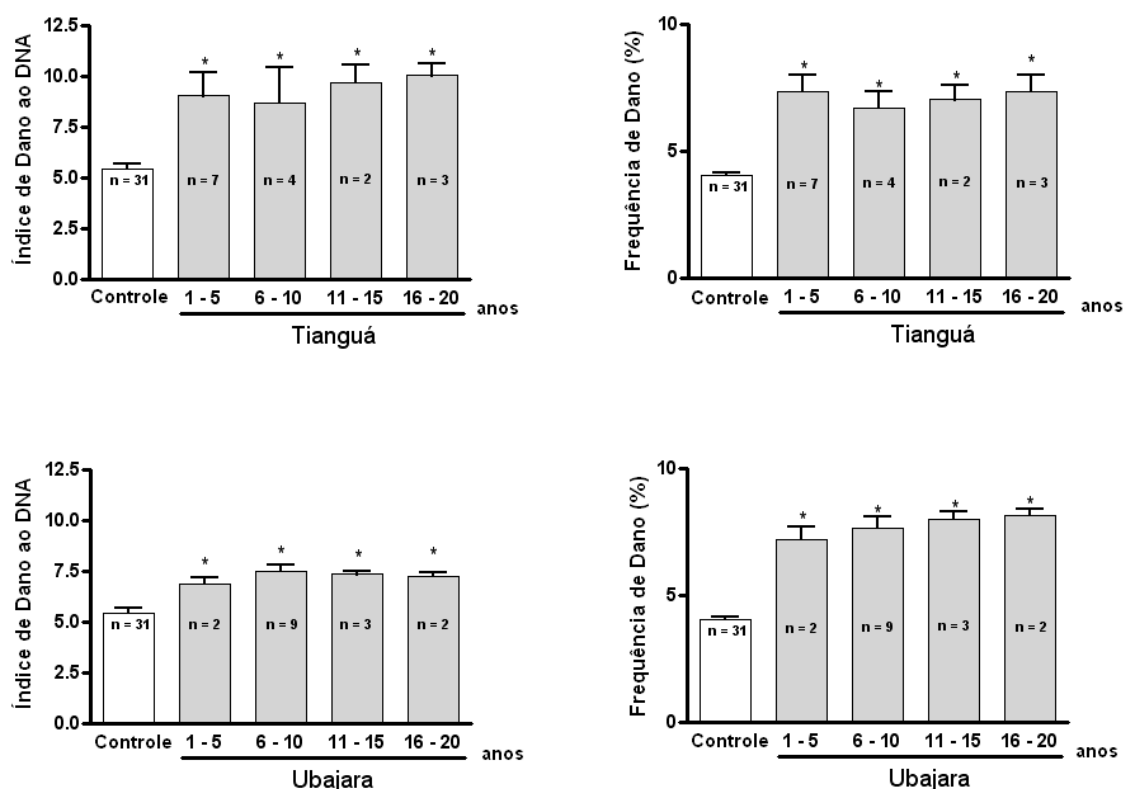


Figura 8 – Índice de danos (unidade arbitrária 0 a 400) e frequência de danos (%) ao DNA dos agricultores (n) expostos a pesticidas nas comunidades rurais de Tianguá e Ubajara-Ceará por tempo de exposição.. *valores significantes em relação ao grupo controle para $p < 0.05$ /ANOVA seguido pelo teste de Tukey. Unidade arbitrária (0)

Em relação a pequena parcela de etilistas e tabagistas no grupo controle negativo, não foi observado nenhum aumento no padrão da migração do DNA (lesões na molécula) entre fumantes e etilista quando comparados aos indivíduos controles que não possuíam tais hábitos (dados não mostrados). A doxorubicina (0,55 μ M), utilizado como controle positivo causou aumento significativo (35,30 vezes) na média de Índice de Danos (ID) e Frequência de Danos (FD) (21,89 vezes) em relação ao grupo controle da população (Tabela 11).

Tabela 11. Análise dos índices e frequências de danos ao DNA em linfócitos dos agricultores expostos a pesticidas e grupos controle das comunidades rurais nos municípios de Tianguá e Ubajara-CE, através do ensaio cometa alcalino.

Grupos	Tamanho da amostra	Índice de dados ao DNA	Frequência de danos ao DNA
		Média ± E.P.M.	Média ± E.P.M.
Controle	31	5.63 ± 2.77	4.22 ± 0.81
Comunidade I ^a	16	14.15 ± 0.95*	10.16 ± 0.92*
Comunidade II ^b	16	18.83 ± 0.68*	9.56 ± 0.82*
Doxorrubicina ^c	15	198.75 ± 5.16*	92.41 ± 7.21*

^aComunidade I (Tianguá); ^bComunidade II (Ubajara); ^ccontrole positivo (0.55 µM) aplicado em 15 voluntários selecionados do grupo controle. *valores significantes em relação ao grupo controle com p<0.05/ANOVA seguido por teste de Tukey.

4.4. Análise de aberrações cromossômicas

A Tabela 12 mostra o índice mitótico (IM), tipo e frequência de aberrações cromossômicas em linfócitos de indivíduos controles e expostos das duas comunidades rurais. Não foram encontradas variações significativas no IM entre as populações expostas e o grupo controle.

Em ambos os grupos, as alterações mais frequentes foram quebras cromossômicas, cromatídicas e *gaps*. Rearranjos, como cromossomos dicêntricos, em anel ou figuras triradiais foram raros. A frequência de alterações cromossômicas estruturais e numéricas (poliploidias e endoreduplicações) observados entre os indivíduos expostos não foi estatisticamente diferente da frequência observada na população controle. Além disso, as frequências de aberrações cromossômicas obtidas por estratificação (aberrações cromossômicas x tempo de exposição) não foram estatisticamente diferentes entre indivíduos expostos nas duas comunidades rurais e o grupo controle (Figura 9).

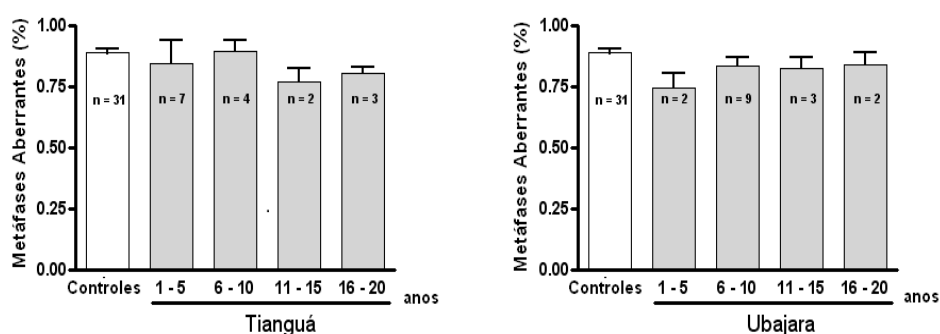


Figura 9. Frequência de aberrações metafásicas por tempo de exposição em agricultores de comunidades rurais nos municípios de Tianguá e Ubajara-CE.

A frequência de metáfases aberrantes também foi estatisticamente similar entre os grupos controle e exposto (Tabela 12).

Em relação aos de etilistas e tabagistas no grupo controle negativo, não houve diferença significativa nas frequências de aberrações cromossômicas entre a parcela de fumantes e não fumantes ou etilista e não etilista da população controle (dados não mostrados). A doxorubicina (0,55 μ M), utilizada como controle positivo aumentou significativamente (8,88 vezes) a frequência de metáfases aberrantes em relação ao grupo controle negativo (Tabela 12).

Tabela 12. Índice mitótico, tipo e frequência de aberrações cromossômicas em linfócitos de agricultores expostos a pesticidas e grupos controle em comunidades rurais nos municípios de Tianguá e Ubajara-CE.

Grupos	Amostra	IM (%) ^d	Aberrações cromossômicas						Aberrações metafásicas ^e
			Qct	Qcs	Gcr	P	E	Total %	Média \pm E.P.M.
Controle	31	4.77 \pm 0.25	0.52 \pm 0.01	0.42 \pm 0.01	0.57 \pm 0.10	0.12 \pm 0.01	0.16 \pm 0.01	0.31 \pm 0.01	0.92 \pm 0.21
Comunidade I ^a	16	4.00 \pm 0.11	0.75 \pm 0.11	0.68 \pm 0.1	0.87 \pm 0.21	0.17 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01	0.45 \pm 0.11	1.05 \pm 0.56
Comunidade II ^b	16	4.54 \pm 0.11	0.43 \pm 0.02	0.50 \pm 0.11	0.50 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01	0.15 \pm 0.01	0.33 \pm 0.01	0.83 \pm 0.15
Doxorrubicina ^c	15	2.81 \pm 0.10	4.37 \pm 0.17	3.28 \pm 0.01	6.82 \pm 0.75	1.75 \pm 0.10	0.81 \pm 0.01	3.63 \pm 0.21	8.17 \pm 1.15*

^aComunidade I (Tianguá); ^bComunidade II (Ubajara); ^ccontrole positivo (0.55 μ M) aplicado em 15 voluntários selecionados do grupo controle; ^d1000 células foram analisadas por indivíduo para IM; ^e150 células analisadas por indivíduo para aberrações cromossômicas; Gcr (gaps cromatídicos); Qct (quebras cromatídicas); Qcs (quebras cromossômicas); P (células poliplóides), E (endoreduplicação). *valores significantes em relação ao grupo controle para p<0.05/ANOVA seguido por teste de Tukey.

5. DISCUSSÃO

O biomonitoramento humano é um método de estudo eficiente e de custo reduzido e que permite obter informações a cerca da exposição humana a agentes químicos, supostos causadores de ação mutagênica e carcinogênica, tornando-se um instrumento ideal para avaliação e gestão de risco ao homem (ANGERER *et al.*, 2007).

Nas duas comunidades em que realizamos este estudo os pesticidas são utilizados para diversos fins nas plantações: fungicidas, larvicidas, inseticidas, dentre outros. De modo geral, há pouco ou nenhum critério técnico na escolha, fazendo com que a compra e utilização seja realizada sem nenhuma informação prévia ou recomendação legal. Rotineiramente, a indicação dos pesticidas é feita por outros agricultores ou pelos vendedores, nas empresas locais especializadas nesse tipo de comércio.

O descarte das embalagens também fica sob a responsabilidade dos próprios agricultores que, comumente, as abandonam na própria plantação e periodicamente as queimam ou enterram. Não há qualquer acompanhamento por parte dos órgãos públicos e são os próprios agricultores, baseados em experiências, que decidem o que fazer. As embalagens vazias representam para os agricultores apenas um problema de ordem técnica, pois, com o passar do tempo vão se acumulando às margens das plantações. O procedimento usado no descarte das embalagens pode ser uma importante fonte de contaminação ao meio ambiente e aos próprios agricultores.

Anualmente, cada agricultor entra em contato com vários tipos de pesticidas, pois, os diversos tipos de plantações exigem pesticidas diferentes para combater pragas específicas. Além disso, muitas vezes, há substituição periódica dos pesticidas utilizados, seja por perda de eficácia ou por questões monetárias. É comum encontrarmos trabalhadores que desconhecem o nome do pesticida que está utilizando, pois, outras pessoas comprem e lhe repassam. A concentração utilizada nas pulverizações passa longe das recomendações dos fabricantes. Quem determina a concentração é a resistência da praga que se quer combater. Quanto mais resistente for a praga maior será a concentração utilizada e isso ocorre com muita frequência devido à resistência naturalmente adquirida pelas pragas ao longo do tempo. Apesar de sabermos que o consumo de pesticidas na região é elevado e indiscriminado, não foram encontrados na literatura dados oficiais.

Os pesticidas são armazenados fora das residências, como foi constatado em entrevistas feitas com os agricultores. Isso se dá, em grande parte, não devido a conscientização por parte dos agricultores sobre os riscos que a exposição a esses produtos representam à saúde, mas pelo forte odor que estes exalam, o que incomoda aos residentes. Outras vezes são armazenados em compartimentos construídos próximos à plantação, especificamente para este fim.

Podemos destacar algumas diferenças estruturais entre as duas comunidades avaliadas, principalmente, quanto ao aspecto organizacional. A comunidade Valparaíso, por ter sido criada na forma de assentamento rural, recebeu antes e logo após a sua criação apoio de órgãos governamentais e da diocese local. Embora este apoio não prevaleça nos dias atuais restaram alguns conhecimentos. Há uma marcante organização social, além de estruturas como escolas, auditório e salão de eventos.

Quanto aos critérios e maneiras como são utilizados os pesticidas não foi observado diferenças consideráveis entre as duas comunidades, pois, todos os agricultores selecionados em ambas as populações têm consciência dos danos que podem ser causados pela utilização incorreta e indiscriminada de pesticidas. Nenhum dos agricultores relatou usar equipamentos de proteção individual (EPI), mesmo os que trabalham para empresas que disponibilizam esses equipamentos. Os argumentos para o não uso são diversos, peso dos equipamentos, temperaturas elevadas no momento da aplicação, dentre outros. Todos os pesticidas são aplicados por meio de pulverizadores costais o que aumenta o risco de contaminação dos aplicadores.

Os danos causados pela utilização de pesticidas estão ligados, invariavelmente, ao seu uso indiscriminado. Diversos trabalhos enfocam essa sistemática, Araújo *et al.*, (2000) estudando o impacto da utilização de pesticidas em plantações de tomate no município de Camocim de São Félix-PE avaliou diversos fatores ligados à utilização de pesticidas e constatou que não há critérios técnico-ambientais na escolha dos pesticidas a serem utilizados, uso de produtos não registrados no Ministério da Saúde, falta de EPI, ausência dos órgãos legais de fiscalização, falta de acompanhamento da saúde destes trabalhadores e comercialização da plantação com resíduos de pesticidas, alertando para a necessidade de políticas governamentais e educacionais mais eficientes, tendo em vista que a utilização de pesticidas está ficando cada dia mais comum e que algumas culturas familiares, como feijão e milho, antes isentas de pesticidas, agora estão sendo tratadas com estes produtos.

Segundo Costa (2006), o uso nos meios urbano e rural de pesticidas organofosforados é muito elevado e não há perspectiva de diminuição a curto ou médio prazo. Outras classes de pesticidas estão crescendo bastante no mercado, por exemplo, os piretróides e outras classes estão em desenvolvimento.

Os pesticidas têm demonstrado o seu valor, aumentando a produtividade agrícola mundial, reduzindo insetos, doenças endêmicas e na protecção ou recuperação plantações, florestas, produtos de madeira colhida, casas e fibras. Atualmente, os pesticidas são mais consumidos em países em desenvolvimento, particularmente aqueles em regiões tropicais que procuram entrar na economia global, fornecendo em todas as estações frutas e verduras frescas para os países em climas mais temperados (ECOBICHON, 2000; 2001).

A utilização de biomarcadores desempenha um papel fundamental na investigação de susceptibilidade genética e de mecanismos de indução de doenças, visto que podem ser usados para prever o desenvolvimento de doenças e para a implantação de programas de prevenção. Dentre estes, os biomarcadores que indicam as variações inter-individuais em resposta à exposição possuem um papel significativo na determinação dos indivíduos mais susceptíveis e precisam ser incorporadas aos estudos para uma melhor previsão de doenças de causa ambiental, sendo hoje o uso destes uma estratégia promissora (BONASSI, AU, 2002).

Estudos com biomarcadores genotóxicos em trabalhadores expostos a pesticidas têm-se centrado em parâmetros citogenéticos, inclusive aberrações cromossômicas, trocas de cromátides irmãs (TCI) e frequência de micronúcleos (MN). Na última década, o ensaio cometa foi estabelecido como um método rápido e sensível para detecção de quebras de fitas de DNA e reparo de excisão incompleta (REMOR *et al.*, 2009). Vários estudos anteriores indicaram um aumento de micronúcleos, AC e TCI em linfócitos periféricos de seres humanos expostos a misturas complexas de pesticidas (SHAHAM *et al.*, 2001; SAILAJA *et al.*, 2006; COSTA *et al.*, 2006; REMOR *et al.*, 2009; KEHDY *et al.*, 2007).

Diversos estudos demonstraram que agricultores expostos cronicamente a misturas de pesticidas apresentam aumentos nos índices de aberrações cromossômicas, Anwar (1997), Joksic *et al.* (1997), Gonzalez (1990); Bhunya e Jena (1993); Mohammad *et al.*, (1995); Scarpato *et al.*, 1996; Bolognesi (2002); Ascarrunz *et al.*,

(2006). Estudos realizados em populações do sexo feminino também foram observados aumento dos danos cromossômicos (VARONA *et al.*, 2003).

Animais expostos a pesticidas também sofrem danos no DNA. Estudos realizados em peixes (*Geophagus brasiliense*) de uma lagoa contaminada com resíduos de pesticidas demonstrou alterações significativas no teste do cometa (STECKERT *et al.*, 2009). Ratos expostos agudo e/ou cronicamente a malation aumentaram significativamente a quantidade de danos ao DNA do tecido cerebral (hipocampo) e de linfócitos extraídos do sangue periférico mensurados através do teste do cometa (REUS *et al.*, 2008). Moscas do gênero *Drosophila melanogaster* expostas a inseticidas organofosforados na fase larval apresentaram estatisticamente mais mutações nas asas. O resultado obtido revelou não só o aumento das mutações nos indivíduos expostos como também aumento na frequência das mutações proporcionais à concentração à qual o animal foi exposto (CAKIR, *et al.*, 2004). Miller *et al.* (1997) coletaram dados fornecidos por quatro companhias farmacêuticas, a partir de ensaios realizados em linhagens celulares de hamster chinês (CHO-K5, CHO-K1, V79) e linfócitos humanos, cuja comparação entre as frequências de aberrações cromossômicas e de micronúcleos mostrou uma correlação positiva (cerca de 80% de coincidência para 57 compostos testados). Tais resultados indicam a validade dos ensaios e a sensibilidade dos sistemas celulares empregados.

Hartmann *et al.* (2003), realizaram trabalho comparativo entre o teste do cometa alcalino e aberrações cromossômicas. Foram testadas 13 drogas que seguiam os protocolos para se tornarem medicamentos. Foram utilizadas células de hamster chinês e linfócitos obtidos de sangue periférico humano. O estudo demonstrou que os resultados do teste do cometa e as análises de aberrações cromossômicas foram muito semelhantes, independente do tipo de célula usada. No teste do cometa sete compostos foram positivos e seis negativos. Na análise de aberrações cromossômicas seis foram positivas e sete negativas, havendo, portanto, discrepância em apenas uma droga.

Estudos que analisaram os níveis de algumas enzimas séricas, principalmente as colinesterases, em indivíduos expostos agudo e/ou cronicamente a pesticidas mostraram alterações significativas em seus níveis.

Ali *et al.* (2008) realizou estudo enzimático em 69 trabalhadoras agrícolas paquistanesas expostas a pesticidas e encontrou baixos níveis de colinesterase sérica e níveis mais altos de fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e aspartato

aminotransferase, quando comparado ao grupo controle. Resultados semelhantes foram encontrados por Remor *et al.* (2009), que encontraram significativa diminuição de BChE e na atividade de ALA-D.

Danos genéticos foram investigados em uma população da Croácia que trabalhava na produção de pesticidas, através dos testes de aberrações cromossômicas, teste do micronúcleo em linfócito e teste cometa. Foi encontrado um aumento significativo de quebras cromossômicas, presença de cromossomos dicêntricos e troca de cromátides quando comparado ao grupo não exposto, além de diferenças nas frequências e distribuição de micronúcleos e aumento de lesões ao DNA observadas através do teste cometa, sugerindo que a exposição crônica a mistura de pesticidas poderia causar danos no genoma de células somáticas (GARAJ-VRHOVAC, ZELJEZIC, 2002). Porém, Pastor *et al.* (2002) avaliando populações que cultivavam vegetais na Hungria não encontraram diferenças estatisticamente significativas entre trabalhadores expostos a pesticidas e controle, quanto utilizaram as frequências de micronúcleos em linfócito de sangue periférico e em células esfoliadas de mucosa bucal.

REMOR *et al.* (2009) avaliando a genotoxicidade de uma complexa mistura de pesticidas utilizados por trabalhadores rurais de duas comunidades no Rio grande do Sul, através do Teste Cometa e Teste de Micronúcleo em células esfoliadas de mucosa bucal, puderam através do teste do cometa identificar índice e frequência de dano no grupo exposto estatisticamente mais elevado em relação ao grupo controle, porém nas análises do micronúcleo em células esfoliadas de mucosa bucal não foram detectados diferenças significantes entre controle e grupo exposto. Em ambos os testes não foram observados diferenças estatisticamente significante entre indivíduos jovens (≤ 38 anos) e indivíduos mais velhos (>38 anos), nem entre fumantes e não fumantes.

A susceptibilidade genética dos indivíduos ao efeito genotóxico dos pesticidas pode ser modulada por variações genéticas em proteínas envolvidas no metabolismo/detoxificação de xenobióticos e eficiência de reparo do DNA (WILKINSON, CLAPPER, 1997; AU *et al.*, 2001; GROVER *et al.*, 2003). Alguns estudos têm demonstrado a relação entre a suscetibilidade genética e marcadores em trabalhadores ocupacionalmente expostos a pesticidas (PITARQUE *et al.*, 1999, 2002; HERNANDEZ *et al.*, 2005; HEUSER *et al.*, 2007). Polimorfismos genéticos podem influenciar efeitos genotóxicos e, portanto, são uma consideração importante na

avaliação de risco ocupacional (NORPPA, 1997; IARMARCOVAI *et al.*, 2008; AU *et al.*, 1996). Estudo realizado por Rohr *et al.* (2010) em 108 agricultores expostos avaliou se os dois polimorfismos BER (XRCC1Arg194Trp e OGG1Ser326Cys) ou a combinação de genótipos destes polimorfismos com PON1Gln192Arg poderiam modificar a suscetibilidade individual de trabalhadores expostos a pesticidas através da medida da formação de micronúcleos e indução de danos ao DNA de leucócitos periféricos. Os resultados demonstraram que os indivíduos com o alelo variante (OGG1Cys) apresentaram maior dano de DNA, detectados pelo ensaio cometa, em relação aos indivíduos portadores do alelo de tipo selvagem OGG1Ser. Esses resultados demonstram que há várias variáveis que influenciam positiva ou negativamente no dano sofrido pelo DNA de indivíduos expostos cronicamente a pesticidas.

Biomonitoramento genético de populações expostas a agentes potencialmente cancerígenos é um sistema de alerta precoce para doenças genéticas ou câncer. Todas as populações têm um grau de risco de exposição, seja por uso de pesticidas agrícolas e não agrícolas ou por resíduos em alimentos. No entanto, os trabalhadores empregados na produção de pesticidas e os agricultores que os utilizam nas lavouras possuem um risco maior de exposição e, portanto, são mais propensos aos efeitos potenciais que os pesticidas causam sobre a saúde (SAILAJA *et al.*, 2006). Apesar do potencial genotóxico dos pesticidas ser considerado baixo, o monitoramento genotóxico em populações rurais pode ser uma ferramenta útil para estimar o risco genético de exposição a misturas complexas de pesticidas por longos períodos de tempo (MOLLER *et al.*, 2000).

A importância do uso do ensaio do cometa em estudos humanos em biomonitoramento se evidencia com o aumento do número de trabalhos em que se aplica o ensaio para a avaliação do dano ao DNA em indivíduos expostos a substâncias genotóxicas resultante do estilo de vida, poluição ambiental ou ocupação (FAUST *et al.*, 2004). Lesões no DNA medidas pelo ensaio do cometa refletem exposição recente a agentes clastogênicos (MATEUCA *et al.*, 2005).

O ensaio do cometa foi utilizado para determinar a extensão dos danos ao DNA em linfócitos de trabalhadores rurais com exposição ocupacional a uma mistura complexa de pesticidas (GARAJ-VRHOVAC, ZELJEZIC, 2001; MUNIZ *et al.*, 2008). Nosso estudo, mostrou que os danos ao DNA foi maior em linfócitos de

trabalhadores rurais, estando de acordo com os relatos citados acima. Estes dados sugerem que os trabalhadores rurais foram expostos aos componentes genotóxicos dos pesticidas. Além disso, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nos valores dos índices de danos ao DNA e frequências de danos ao DNA dos grupos expostos em relação ao tempo de exposição aos pesticidas (Figura 8).

Danos ao DNA revelados pelo ensaio cometa no presente estudo pode ter tido origem através da indução de quebras de fitas simples do DNA, reparos de fita-dupla da molécula do DNA, formações adutos ou formações de ligações cruzadas (covalentes) entre DNA-DNA e/ou DNA-proteínas (KING *et al.*, 1993).

Alguns autores sugerem que todas essas lesões de DNA podem resultar da interação de pesticidas ou seus metabólitos com a molécula do DNA (FAIRBAIRN *et al.*, 1995; SHAH *et al.*, 1997). Além disso, há evidências que sugerem que alguns pesticidas criam espécies reativas de oxigênio, que danificam o DNA e causam quebras de fita simples que podem ser detectadas pelo ensaio cometa (DAHLHAUS *et al.*, 1995; PETROVSKÁ, DUŠINSKA, 1999; GARAJ-VRHOVAC, ZELJEZIC, 2002). Apesar do risco associado à exposição aos pesticidas, os indivíduos são frequentemente expostos a uma mistura variável de produtos químicos. Assim, a variação complexa de exposições pode ser responsável pela diferença dos níveis de genotoxicidade entre os diferentes estudos de biomonitorização em pessoas expostas a pesticidas (PAZ Y-MINO *et al.*, 2004).

Estudos realizados com classes isoladas de pesticidas também têm demonstrado a capacidade destas substâncias de induzirem genotoxicidade. Agricultores hispânicos (aplicadores do sexo masculino) que utilizavam organofosforados em suas culturas de frutas apresentaram aumento significativo nos danos ao DNA (MUNIZ *et al.*, 2008).

As aberrações cromossômicas estão intimamente relacionadas a doenças como neoplasia, na qual se verifica uma correlação positiva entre a frequência de aberrações cromossômicas nos linfócitos e o desenvolvimento do câncer e, com cerca de 50% dos abortos espontâneos, os quais apresentam algum tipo de aberração cromossômica (NATARAJAN, 2002).

Em nossa análise, a investigação das AC foi utilizada para avaliar a extensão dos danos ao genoma dos trabalhadores envolvidos na manipulação de pesticidas. AC são particularmente perigosas para a célula porque a descontinuidade física do

cromossomo pode causar perda de informação genética e até mesmo a morte celular (CARBONELL *et al.*, 1995). Os resultados mostraram que a frequência de aberrações cromossômicas (principalmente cromossômicas, cromatídicas e *gaps*) observadas nos indivíduos do grupo controle não foi estatisticamente diferente da frequência observada em ambas as comunidades rurais (Tiangua e Ubajara). Além disso, não houve diferença significativa nas frequências de AC em relação ao tempo de exposição aos pesticidas (Figura 9). Alguns estudos têm relatado que a frequência de AC (PAZ Y-MINO *et al.*, 2004), MN (PACHECO, HACKEL, 2002) e TCI (GOMEZ-ARROYO *et al.*, 2000) aumentou significativamente quando níveis mais altos de quebras de fitas da molécula de DNA foi observado pelo teste do cometa (PAZ Y-MINO *et al.*, 2004), independente do tempo de duração da exposição aos pesticidas. No entanto, em nosso estudo, análises genéticas sugerem que a exposição a pesticidas na área em estudo não é suficiente para induzir AC estruturais ou interferências na formação do aparelho mitótico (ausência de AC numéricas).

Existe uma grande discussão na literatura a respeito da inclusão de *gaps* como verdadeiras lesões cromatídicas. Alguns autores argumentam que a contagem de *gaps* pode ser subjetivo e eles podem ser o resultado de artefatos técnicos, variabilidade dentro da mesma cultura e da variabilidade das condições de cultura (SCHINZEL, SCHMID, 1976; BROGGER, 1982). Os *gaps* foram incluídos em nosso estudo como um tipo de AC, uma vez que em um estudo de indivíduos expostos a pesticidas encontrou-se uma correlação entre o dano ao DNA, usando o ensaio cometa, e presença de *gaps* (PAZ Y-MINO *et al.*, 2004). *Gaps* parecem ser consequência de quebras de fita simples do DNA, que inibem a DNA polimerase durante a replicação (KAUFMAN, 1989).

Na presente investigação, excluímos usuários de tabaco e álcool nas duas comunidades rurais avaliadas. Portanto, a influência de fatores interferentes (tabagismo e os hábitos de consumo) sobre os efeitos genotóxicos e mutagênicos da exposição ocupacional aos pesticidas não foi investigada. Além disso, este estudo não demonstrou uma porcentagem significativamente maior de rupturas cromossômicas e de fitas de DNA (ensaio cometa) em fumantes e etilistas entre o grupo controle. Alguns autores têm afirmado que a ingestão de álcool ou tabaco não têm uma influência significativa sobre o número de AC (GARAJ-VRHOVAC, ZELJEZIC 2001; HEEPCHANTREE, W. *et al.*, 2005), de TCI e MN (GOMEZ-ARROYO *et al.*,

2000; KEHDY, *et al.*, 2007), e do aumento do comprimento da cauda do cometa (GARAJ-VRHOVAC, ZELJEZIC, 2000) em seres humanos expostos a pesticidas. Estudo realizado por Remor *et al.*, 2009 também não encontrou aumento significativo no número de aberrações cromossômica nem danos ao DNA demonstrados pelo teste do cometa entre fumante e não fumantes ou etilistas e não etilistas. Também não houve diferenças entre os parâmetros hematológicos, perfis lipídicos e frequência de micronúcleos neste estudo. Porém, Ergene *et al.* (2007), também estudando uma população exposta a uma mistura complexa de pesticidas encontraram aumentos significativos na frequência de trocas de cromátides irmãs e aberrações cromossômicas no grupo de tabagistas.

Uma vez que a clastogenicidade pode ser devido aos efeitos cumulativos de todos ou alguns dos pesticidas não é possível atribuir os danos a qualquer agente em particular. Os resultados deste estudo, bem como os resultados de pesquisas realizadas sobre outros indivíduos ocupacionalmente expostos a pesticidas, utilizando uma variedade de ensaios genotóxicos, sugerem que misturas de pesticidas em longo tempo de exposição ocupacional podem atuar como clastógenos na molécula de DNA de células somáticas (SAILAJA *et al.*, 2006). A falta de informações sobre o comportamento de substâncias tóxicas em misturas complexas é geralmente evitada admitindo-se que a toxicidade de uma mistura é simplesmente a soma dos efeitos esperados de cada componente da mistura, ou seja, que não existem interações sinérgicas ou antagônicas (ERGENE *et al.*, 2007).

Em resumo, apesar da frequência de AC estruturais observadas nos indivíduos do grupo controle não terem sido estatisticamente diferentes da frequência observada no grupo exposto, a taxa de dano da molécula de DNA (índice de dano) do grupo exposto foi maior do que aquele encontrado em nossa população controle. Nossos resultados mostraram uma associação entre a exposição a uma mistura complexa de pesticidas e um aumento nos danos ao DNA detectados pelo Ensaio do Cometa. Além disso, também é possível que os danos causados pelos pesticidas tenham sofrido reparo celular, o que poderia explicar a ausência de AC estruturais.

Embora as análises feitas na água do açude Jaburu tenham sido negativas para a presença de resíduos de pesticidas não está descartada a hipótese da presença destas substâncias no reservatório, pois, devido ao grande volume de água (210.000.000 m³) SRH-CE (2010), pode ter havido uma diluição superior ao nível de sensibilidade do

método utilizado pelo ITEP. Quando foi realizada a coleta da amostra de água o reservatório já havia excedido a sua capacidade máxima de armazenagem.

6. CONCLUSÃO

Nossos resultados mostraram uma associação entre a exposição a uma mistura complexa de pesticidas e um aumento nos danos do DNA detectados pelo Ensaio Cometa. Além disso, também é possível que os danos causados por pesticidas, detectados no ensaio do cometa, tenham sofrido reparo celular o que explicaria a ausência de AC estruturais e/ou numéricas.

Não foram encontrados resíduos de pesticidas na água do reservatório Jaburu pelos métodos utilizados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMOVAY, R. **Paradigmas do capitalismo agrário em questão**. São Paulo: Hucitec, 1992.

AGAPEJEV, S. Estudo das manifestações neurológicas em 93 doentes com intoxicação exógena por substâncias químicas não medicamentosas. **Arq. Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 233-242. 1986

AGÊNCIA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DOS ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA- US-EPA, 2003.

ALAVANJA, M.C.; BONNER, M.R. Pesticides and human cancers. **Cancer Invest.** 23, 700-711, 2005.

ALAVANJA, M.C.R. Biologic damage resulting from exposure to tobacco smoke and from radon: implication for preventive interventions. **Oncogene**. 21, 7365 – 7375, 2002.

ALI T.; BHALLI, J.A.; RANA, S.M.; KHAN, Q.M. Cytogenetic Damage in Female Pakistani Agricultural Workers Exposed to Pesticides. **Environmental and Molecular Mutagenesis**. 49, 374-380, 2008.

ALMEIDA J. Significados sociais, desafios e potencialidades da agroecologia, pp. 239-247. In: A Ferreira; A Brandenburg. **Para pensar outra agricultura**. Editora da UFPR, Curitiba, 1998.

ALONZO, H.G.A.; CORRÊA, C.L., Praguicidas. In: OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003. p. 437-458.

ALVES F. Progresso Técnico da Agricultura: mudança na organização e no processo de trabalho – o caso da cana-de-açúcar. In: Outras falas em processo de trabalho. **Escola Sindical**. Belo Horizonte, 2, 1992.117-145,

ANDERSON D.; YU T.W.; PHILIPS, B.J.; SCHMEZER, P. The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical generated DNA damage in human lymphocytes in the Comet Assay. **Mutation Research**. 307, 261-271, 1994.

ANDO, T.; GOTO, Y.; MAEDA, O.; WATANABE, O.; ISHIGURO, K.; GOTO, H. Causal role of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer. **World J. Gastroenterol.** 12, 181–186, 2006.

ANGERER, J.; EWERS U.; WILHELM, M.; Human biomonitoring: state of the art. **Int. J. Hyg. Environ. Health** 210, 201–228. 2007.

ANWAR, W. A. Biomarkers of human exposure to pesticides. **Environ. Health. Perspect.**, 105: 801-806. 1997.

ARAÚJO, A.C.P.; NOGUEIRA, D.P.; AUGUSTO, L.G.S. Pesticide impact on health: a study of tomato cultivation. **Journal of Public Health.** V. 34; N 3; p. 309-13. 2000

ASCARUNZ, M.E.; TIRADO, N.; GONZÁLEZ, A.R.; CUTI, M.; CERVANTES, R.; HUICHI, O.; JORS, E. Evaluación de riesgo genotóxico: biomonitorización de trabajadores agrícolas de Caranavi, Guanay, Palca y Mecapaca, expuestos a plaguicidas. **Cuadernos Hospital de Clínicas.** 51 (1): 1-15. 2006.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE DEFESA VEGETAL-ANDEF, 2010. <http://www.andef.com.br>. Acessado em 25/11/2010.

AU, W. W. Monitoring populations for DNA repair deficiency and for cancer susceptibility. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, n. 3, p. 579-584. 1996.

AU, W.W.; BADARY, O.A.; HEO, M.Y. Cytogenetic assays for monitoring populations exposed to environmental mutagens. **Occup. Med.** 16, 345-357. 2001.

AUGUSTO L.G.S. Uso dos agrotóxicos no semi-árido brasileiro. In: Peres, Frederico: É veneno ou remédio?: agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: **Fiocruz**, 2003.

BACHS O.; AGELL N.; CARAFOLI E. Calmodulin and calmodulinbinding proteins in the nucleus. **Cell Calcium** 16: 289–296, 1994.

BELPOMME, D. The multitude and diversity of environmental carcinogens. **Environ. Res.**, New York, v.105, n.3, p.414-429, 2007.

BHALLI, J.A.; KHAN, Q.M.; HAQ, M.A.; KHALID, A.M.; NASIM, A. Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in pesticide production industry. **Mutagen** 21:143–148. 2006a.

BHALLI, J.A.; RANA, S.M.; KHAN, Q.M. Cytogenetic damage in female Pakistani agricultural workers exposed to pesticides. *Environ. Mol. Mutagen.* 49:374–80. 2009

BHUNYA, S.P.; JENA, G.B. Studies on the genotoxicity of monocrotophos, an organophosphate insecticide, in the chick in vivo test system. **Biochim. Biophys. Acta.** 1113:259-270. 1993.

BLOT, W.J.; CHOW, W.H.; MCLAUGHLIN, J.K. Wood dust and nasal cancer risk. A review of the evidence from North America. **J. Occup. Environ. Med.** 39, 148–156, 1997.

BOLOGNESI C.; PERRONE E.; LANDINI E. Micronucleus monitoring of a floriculturist population from western Liguria, Italy. **Mutagenesis.** 17, 391-397, 2002.

BOLOGNESI, C.; MORASSO, G. Genotoxicity of Pesticides: potencial risk for consumers. **Trends in Food Science; Technology.** 11, 182-187, 2000.

BONASSI, S.; NORPPA, H.; CEPPI, M.; STRØMBERG, U.; VERMEULEN, R.; ZNAOR, A.; Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22,358 subjects in 11 countries **Carcinogenesis.** 29:1178–1183. 2008.

BONASSI, S.; AU, W.W. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. **Mutat. Res.** 511, 73-86, 2002.

BORTOLI, G.M.; AZEVEDO, M.B.; SILVA, L.B. Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. **Mutat. Res.** 675:1–4. 2009.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. **Organização Panamericana de Saúde/Organização Mundial de Saúde.** Brasília, 1997.

BRASIL, Ministério do Trabalho e Emprego. Brasília. Portaria n.º 25, 2001.

BRASIL, Ministério do Trabalho e Emprego. Brasília. Portaria nº 86, 2005.

BROGGER, A. The chromatid gap - a useful parameter in genotoxicity. **Cytogenet. Cell Genet.** 33, 14–19. 1982.

BULL, S.A.; ALLEN, V.M.; DOMINGUE, G.; JORGENSEN, F.; FROST J.A. Sources of *Campylobacter* spp. colonising housed broiler flocks during rearing. **Appl. Environ. Microbiol.** 72: 645-652. 2006.

ÇAKIR, S.; SARIKAYA, R. Genotoxicity testing of some organophosphate insecticides in the *Drosophila* wing spot test. **Food and Chemical Toxicology.** 33, 443-450, 2004.

CAMARGO, A.A.; NETO, E.D.; SIMPSON, A.J.G. Mutação e câncer. In: **Genética e Biologia Molecular para o Cirurgião**, 1a. ed.; Rossi, B.M. e Pinho, M. (eds.), Lemar – Livraria e Editora Marina, Brasil, 1999.p. 111-123.

CARBONELL, E.; VALBUENA, A.; XAMENA, N.; CREUS, A.; MARCOS, R. Temporary variations in chromosomal aberrations in a group of agricultural workers exposed to pesticides. **Mutat Res** 344:127–134. 1995.

CAVALCANTI B.C.; BEZERRA D.P.; MAGALHÃES H.I.F.; MORAES M.O.; LIMA M.A.S.; SILVEIRA E.R.; CÂMARA C.A.G.; RAO V.S.; PESSOA C, COSTA-LOTUFO LV. Kauren-19-oic acid induces DNA damage followed by apoptosis in human leukemia cells. **J Appl Toxicol** 29:560–568. 2009

CENTRAIS DE ABASTECIMENTO DO CEARÁ, CEASA-CE, 2010. Disponível em: <http://www.ceasa-ce.com.br/>. Acessado em 28/05/2010.

CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGIA. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE; MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia de vigilância epidemiológica. Brasília (DF): FUNASA; 1998. cap. 5.15.

CHARLIER, C.; ALBERT, A.; HERMAN, P.; HAMOIR, E.; GASPARD, U.; MEURISSE, M.; PLOMTEUX, G. Breast cancer and serum organochlorine residues. **Occup. Environ. Med.** 60, 348–351, 2003.

CHEDIACK, R. Salud ocupacional en el campo de los agroquímicos. In: Centro Pan-Americano de Ecología y Salud Organización Panamericana de La Salud (orgs.). **Plaguicida, salud y ambiente: memorias de los talleres de San Cristóbal de Las Casas. Chiapas**, México. 1986.119-139,

CLAPP, R.; HOWE, G.; LEFEVRE, M. Environmental and occupational causes of cancer: review of recent scientific literature. **The Lowell Center for Sustainable Production**, University of Massachusetts Lowell, 2005.

COELHO F.R.G.; IYEYASU, H.; KOWALSHI, L.P. Controle do Câncer. In: BRETANI, M.M. **Bases da Oncologia**. São Paulo: Marina, 1998. p.1-25.

COLLINS, A.R. The Comet assay for DNA damage and repair: principles, applications and limitations. **Mol. Biotechnol.** 26, 249–261, 2004.

COLLINS, A.; DUSINSKA, M.; FRANKLIN, M. Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation and applications. **Environ. Mol. Mutagen.** 30, 139–146, 1997.

COLLINS, A.R. The comet assay for DNA damage and repair. **Mol. Biotechnol.** 26, 249-261, 2004.

COLLINS, A.R.; DOBSON, V.L.; DUSINKÁ, M.; KENNEDY, G.; STETINA, R. The comet assay: what can it really tell us? **Mutat. Res.** 375, 183-193, 1997a.

COLOSSO C.; TIRAMANI M.; MARONI M. Neurobehavioral effects of pesticides: state of the art. **Neurotoxicology.** 24, 577- 591, 2003.

CONGER, A. Culture of pollen tubes for chromosomal analysis at the pollen tube division. **Stain Technology.**28:289-293. 1953.

COOK, P.R.; BRAZELL, I.A. Conformational constraints in nuclear DNA. **J. Cell Sci.** 22, 287–302, 1976.

CORDIER, S.; MANDEREAU, L.; PRESTON-MARTIN, S.; LITTLE, J.; LUBIN, F.; MUELLER, B.; HOLLY, E.; FILIPPINI, G.; PERIS-BONET, R.; MCCREDIE, M.; CHOI, N.W.; ARSLA, A. Parental occupations and childhood brain tumors: results of an international case-control study. **Cancer Causes Control.** 12, 865–874, 2001.

COSTA, L.G. Current issues in organophosphate toxicology. **Clinica Chimica Acta**. 366, 1-13, 2006.

COSTA, C.; TEIXEIRA, J.P.; SILVA, S.; ROMA-TORRES, J.; COELHO, P.; GASPAR, J.; ALVES, M.; LAFFON, B.; RUEFF, J.; MAYAN, O. Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. **Mutagenesis** v. 21 no. 5 pp. 343–350, 2006

CROSSEN, P.E.; MORGAN, W. F. Sister chromatid exchange in cigarette smokers. **Human Genetics**. Vol. 53, no. 3. 425-426. 1978

DAHLHAUS, M.; ALMSTADT, E.; HENSCHKE, P.; LUTTGERT, S.; APPLE, K.E.. Induction of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and single-strand break in DNA of V79 cells by tetrachloro-p-hydroquinone. **Mutat Res** 329:29–36. 1995.

DANIELS, J.L. Pesticides and childhood cancers. **Environ. Health Perspec.** 105 (10):1068-1077. 1997.

DEMERS, A.; AYOTTE, P.; BRISSON, J.; DODIN, S.; ROBERT, J.; DEWAILLY, E. Risk and aggressiveness of breast cancer in relation to plasma organochlorine concentrations. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** 9, 161-166, 2000.

DICH, J.; ZAHM, S.H.; HANBERG, A.; ADAMI, H.O. Pesticides and cancer. **Cancer Causes Control**. 8, 420–443, 1997.

DOLL, D.; PETO, R. The causes of cancer: qualitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. **J. Natl. Cancer Inst.** 66, 1191-1308, 1981.

EATON, A. D. (Ed.), CLESCERI, L. S. (Ed.), GREENBERG, A. E. (Ed.). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19 ed., Ed. Maryland: American Public Health Association, 1995.

ECOBICHON, D.J. Toxic effects of pesticides. *In*: Casarett, L.J., Duoll's. **Toxicology: the basic science of poisons**. 5. ed. New York, Curtis D. Klaassen. 22, 643-649, 1996.

_____. Our changing perspectives on benefit and risks of pesticides: A historical overview. **NeuroToxicology**. 21:211– 218. 2000.

_____. Pesticide use in developing countries. **Toxicology**. 160:27–33. 2001.

EPSTEIN, A.J.; SASCOG F. The multitude and diversity of environmental carcinogens. **Environmental Research**. 105, 414–429. 2004.

EPSTEIN, S.S. Environmental and occupational pollutants are avoidable causes of breast cancer. **Int. J. Health Serv**. 24, 145–150. 1994.

ERGENE, S.; ÇELİK A.; ÇAVAŞ, T.; KAYA, F. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. **Environment International**. 33, 877–885. 2007.

FAIRBAIRN, D.W.; OLIVE, P.L.; O'NEILL, K.L. The comet assay: A comprehensive review. **Mutat. Res**. 339:37–59. 1995.

FAUST, F.; KASSIE, F.; KNASMULLER, S.; BOEDECKER, R.H.; MANN, M.; MERSCH-SUNDERMANN, V. The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. **Mutat. Res**. 566, 209–229, 2004.

FAUST, F.; KASSIE, F.; KNASMÜLLER, S.; KEVEKORDES, S.; MERSCH-SUNDERMANN, V. Use of primary blood cells for the assessment of exposure to occupational genotoxicants in human biomonitoring studies. **Toxicology**. 198, 341–350, 2004.

FEAR, N.T.; ROMAN, E.; REEVES, G.; PANNETT, B.. Childhood cancer and paternal employment in agriculture: the role of pesticides. **Br J Cancer** 77:825–829. 1998.

FEARON E. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. **Science** 278:1043–1050. 1997.

FEYCHTING, M.; PLATO, N.; NISE, G.; AHLBOM, A. Paternal occupational exposures and childhood cancer. **Environ. Health Perspect**. 109, 193–196, 2001.

FLECK, J. Câncer: integração clínico biológica. Rio de Janeiro. **Médica e Científica**, 1992.

FORGET, G. Pesticides: necessary but dangerous poisons. **International Development Research Center Report**. 18, 4-5, 1989.

FREITAS, C.U. Projeto de vigilância epidemiológica do vale do Ribeira. **Revista de Saúde Ocupacional e Segurança**. 21, 107-108, 1986.

FUNDAÇÃO IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2000: Características da população e dos domicílios: resultados do universo. 2001.

FUNDAÇÃO IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; Censo Demográfico 2010.< <http://www.ibge.gov.br>. Acesso: 25 de Março de 2011.

GAMMON, M.D.; WOLFF, M.S.; NEUGUT, A.I.; ENG, S.M.; TEITELBAUM, S.L.; BRITTON, J.A.; TERRY, M.B.; LEVIN, B.; STELLMAN, S.D.; KABAT, G.C.; HATCH, M.; SENIE, R.; BERKOWITZ, G.; BRADLOW, H.L.; GARBOWSKI, G.; MAFFEO, C.; MONTALVAN, P.; KEMENY, M.; CITRON, M.; SCHNABEL, F.; SCHUSS, A.; HAJDU, S.; VINCEGUERRA, V.; NIGUIDULA, N.; IRELAND, K.; SANTELLA, R.M. Environmental toxins and breast cancer on Long Island. II. Organochlorine compound levels in blood. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.** 11, 686–697, 2002.

GARAJ-VRHOVAC, V.; ZELJEZIC, D. Assessment of Genome Damage in a Population of Croatian Workers Employed in Pesticide Production by Chromosomal Aberration Analysis, Micronucleus Assay and Comet Assay. **Journal of Applied Toxicology**. 22, 249-255, 2002.

GARAJ-VRHOVAC, V.; ZELJEZIC, D. Cytogenetic monitoring of croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. **Toxicology**. 62, 165-153, 2001.

GARCIA, E.G. Segurança e Saúde no trabalho rural com agrotóxicos: contribuição para uma abordagem mais abrangente. Dissertação de mestrado. Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GARCIA, J.E. Intoxicaciones agudas com plaguicidas: costos humanos y económicos. **Rev. Panam. Salud Publica**. Washington. 4, 1998.

GEHLEN, I. Políticas públicas e desenvolvimento social rural. **São Paulo em Perspectiva**. 18, 95-103, 2004.

GILMAN, G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: MacGrawHill. 2006.

GOMEZ-ARROYO, S.; DIAZ-SANCHEZ, Y.; MENESES-PEREZ, M.A.; VILLALOBOS-PIETRINI, R.; De LEON-RODRIGUEZ, J. Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. **Mutat. Res.** 466:117–124. 2000.

GONZALEZ, C.M.; LORIA, D.; MATOS, E. Genotoxicity of the pesticides propoxur and its nitroso derivative, no-propoxur, on human lymphocytes in vitro. **Mutat. Res.** 232, 45-49, 1990.

GRISOLIA, C.K. **Agrotóxicos: mutações, cancer, reprodução**. Editora Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

GROVER, P.; DANADEVI, K.; MAHBOOB, M.; ROZATI, R.; BANU, B.S.; RAHMAN, M.F. Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the Comet assay. **Mutagenesis**. 18, 201–205, 2003.

GUECHEVA, T.N.; HENRIQUES, J.A.P.; KVITKO, K. BER. Gene Polymorphisms (OGG1Ser326Cys and XRCC1 Arg194Trp) and Modulation of DNA Damage due to Pesticides Exposure. **Environmental and Molecular Mutagenesis**. 2010.

GUIMARÃES A.C.; ANTUNES, L.M.G.; RIBEIRO H.F.; SANTOS A.K.R.; CARDOSO P.C.S.; LIMA P.L.; SEABRA A.D.; PONTES T.B.; PESSOA C.; MORAES M.O.; CAVALCANTI B.C.; SOMBRA C.M.L.; BAHIA M.O.; BURBANO R.R. Cytogenetic biomonitoring of inhabitants of a large uranium mineralization area: The municipalities of Monte Alegre, Prainha, and Alenquer, in the State of Pará, Brazil. **Cell Biology and Toxicology** 28:403–419. 2010.

HARDELL, L.; ERIKSSON, M. A case-control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. **Cancer**. 85, 1353–1360, 1999.

HARDELL, L.; ERIKSSON, M.; AXELSON, O.; FLESCHE-JANYS, D. Epidemiological studies on cancer and exposure to dioxins and related compounds. In: Schecter, A., Gasiewicz, T.A. (Eds.). **Dioxins and Health**, Second Ed. Wiley, Hoboken, NJ, USA, 729–764, 2003.

HARDELL, L.; ERIKSSON, M.; DEGERMAN, A. Meta-analysis of four Swedish case-control studies on exposure to pesticides as risk-factor for soft-tissue sarcoma

including the relation to tumour localization and histopathological type. **Int. J. Oncol.** 6, 847–851, 1995.

HARTMANN, A.; PLAPPERT, U.; FRANZISKA P.; WILLI, S. Comparative study with the alkaline Comet assay and the chromosome aberration test. **Mutation Research.** 536, 27–38, 2003.

HARTMANN, A.; SPEIT, G. The contribution of cytotoxicity to DNA-effects in the single cell gel test (comet assay). **Toxicology Letters**, v. 90, p. 183–188, 1997.

_____. Comparative investigations of the genotoxic effects of metals in the single cell gel (SGC) assay and the sister chromatid exchange (SCE) test. **Environmental and Molecular Mutagenesis.** 23, 299–305, 1994.

HARVARD CENTER FOR CANCER PREVENTION, HCCP. Human causes of cancer: Harvard School of Public Health, http://www.hsph.harvard.edu/cancer/resources_materials/reports/index.htm, 1996. Acessado em: 02 de Fevereiro de 2011.

HAYES, R.B.; GERIN, M.; RAATGEVER, J.W.; DE BRUYN, A. Woodrelated occupations, wood dust exposure, and sinonasal cancer. **Am. J. Epidemiol.** 124, 569–577. 1986.

HEEPCHANTREE, W.; PARATASILPIN, T.; KANGWANPONG, D. A comparative biomonitoring study of populations residing in regions with low and high risk of lung cancer using the chromosome aberration and the micronucleus tests. **Mutation Research.** 587, 134–139 2005.

HERNÁNDEZ, A.F.; LÓPEZ, O.; RODRIGO, L.; GIL, F.; PENA G., SERRANO, J.L. Changes in erythrocyte enzymes in humans long-term exposed to pesticides influence of several markers of individual susceptibility. **Toxicol Lett.** 159, 13–21, 2005.

HEUSER, V.D.; ERDTMANN, B.; KVITKO, K.; ROHR, P.; DA SILVA, J. Evaluation of genetic damage in Brazilian footwear-workers: biomarkers of exposure, effect, and susceptibility. **Toxicology.** 232, 235–247. 2007.

HOLLAND, A.J. Boveri revisited: chromosomal instability, aneuploidy and tumorigenesis. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.** 10:478–487. 2009.

IARC (International Agency for Research on Cancer), IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Wood dust and Formaldehyde. Iarc Press, Lyon, 62, 1995.

IARC, Cancer Incidence in five continentes vol. IX, IARC PUBLICATIONS. 106, 893–908, 1998.

IARC. Occupational Exposure in Insecticide Application and Some Pesticides. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. IARC, 53, Lyon, 1991. pp. 179-250.

IARMARCOVAL, G.; BONASSI, S.; BOTTA, A.; BAAN, R.A.; ORSIERE, T. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature. **Mutat. Res.** 658, 215–233. 2008.

IBARLUZEA, J.M.J.; FERNANDEZ, M.F.; SANTA-MARINA, L.; OLEA-SERRANO, M.F.; RIVAS, A.M.; AURREKOETXEA, J.J.; EXPOSITO, J.; LORENZO, M.; TORNE, P.; VILLALOBOS, M.; PEDRAZA, V.; SASCO, A.J.; OLEA, N. Breast cancer risk and the combined effect of invironmental estrogens. **Cancer Causes Control.** 15, 591–600, 2004.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISA AGRONÔMICA-INRA, 2010. Disponível em: <http://www.inra.com/>. Acessado em 23/06/2010.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER-INCA. 2011. Publicações <http://www.inca.gov.br>. Acessado em 28/03/2011.

IPCS, 1980–2007. International Programmed on Chemical Safety. <http://www.who.int/pcs>. Acessado em 12/09/2009.

IPECE: Ceará em mapas. Disponível em: <http://www2.ipece.ce.gov.br/atlas/capitulo1/11/111x.htm>>. Acesso em: 07 jun 2011.

JACKSON, A.L.; LOEB L.A. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. **Mutat Res** 477:7-21. 2001.

JOKSIC, G.; VIDA KOVIC, A.; SPASOJEVIC-TISMA, V. Cytogenetic monitoring of pesticide sprayers. **Environ. Res.**, 75, 113–118. 1997.

KALOJA, K.L.; STEVENSON, D.E.; WALBORG, E.F.JR.; KLAUNIG, J.E. Selective dieldrin promotion of hepatic focal lesions in mice. **Carcinogenesis**. 17, 1243-1250. 1996.

KAMANYIRE, R.; KARALLIED, L. Organophosphate toxicity and occupational exposure. **Occupational Medicine**. 54, 69-75. 2004.

KAUPPINEN, T.; TOIKKANEN, J.; PEDERSEN, D.; YOUNG, R.; AHRENS, W.; BOFFETTA, P.; HANSEN, J.; KROMHOUT, H.; MAQUEDA BLASCO, J.; MIRABELLI, D.; DE LA ORDEN-RIVERA, V.; PANNETT, B.; PLATO, N.; SATELA, A.; VINCENT, R.; KOGEVINAS, M. Occupational exposure to carcinogens in the European Union. **Occup. Environ. Med.** 57, 10–18. 2000.

KAUFMAN, W.K. Pathways of human cell post-replication repair. **Carcinogenesis** 10:1–11. 1989.

KEHDY, F.S.G.; CERQUEIRA, E.M.M.; BONJARDINM, M.B.; CAMELO, R.M.; CASTRO, M.C.L. Study of the cytogenetic effects of occupational exposure to pesticides on sanitation in Belo Horizonte, Brasil. **Genetics and Molecular Research**. 6, 581-593. 2007.

KING, J.S.; VALGARGEL, E.R.; RUFER, J.T.; PHILLIPS, J.W.; MORAN, W.F. Non-complementary DNA double strand break rejoining in bacterial and human cells. **Nucleic Acids Res.**, 21, 1055–1059. 1993.

KNUDSEN, L.E.; HANSEN, A.M. Biomarkers of intermediate endpoints in environmental and occupational health, **Int. J. Hyg. Environ. Health**, 210, 461–470, ISSN 1438-4639. 2007.

KRISHNA, K.R.; SHETTY, K.G.; DART, P.J.; ANDREWS, D.J. Genotype dependent variation in mycorrhizal colonization and response to inoculation of pearl millet. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 86, n. 1, p.113-125, 1985.

KOIFMAN, S.; KOIFMAN, R.J. Environment and cancer in Brazil: an overview from a public health perspective. **Mutat Res** 544:305–311. 2003.

KUCEROVA, M.; BIANCHI N.O.; BREWEN J.G.; BUCKTON K.E.; FABRY L.; FISCHER, P.; GOOCH, P.C.; LÉONARD, A.; MUKHERJEE, R.N.; MUKHERJEE,

U.; NAKAI, S.; NATARAJAN A.T.; OBE, G.; PALITTI F.; POHL-RULLING J.; SCHWARZACHER H.G.; SCOTT D.; SHARMA T.; TAKAHASHI E.; TANZARELLA C.; VAN BUUL P.P. Evaluation of radiation-induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes in vitro: result of an IAEA-coordinated programme. **Mutat Res.** 96, 233-242, 1982.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3. Ed. São Paulo: Manole, 1997.

LEONARD, R.C.F.; DUNCAN, L.W.; HAY, F.G. Immunocytological detection of residual disease at clinical remission predicts metastatic relapse in Small Cell Lung Cancer. **Cancer Res.**, 50, 6545.1990.

MATEUCA, R.; AKA, P.V.; DE BOECK, M.; HAUSPIE, R.; KIRSCH-VOLDERS, M.; LISON, D. Influence of HOGG1, XRCC1 and XRCC3 genotypes on biomarkers of genotoxicity in workers exposed to cobalt or hard metal dusts. **Toxicol. Lett.** 156, 277–288, 2005.

MATOS G.B.; SANTANA, O.A.M.; NOBRE, L.C.C., Intoxicação por agrotóxico. In: Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador. Superintendência de Vigilância e Proteção da Saúde. Manual de normas e procedimentos técnicos para a vigilância da saúde do trabalhador. Salvador (BA): CESAT/SESAB. 2002. p. 249-280,

McDUFFIE, H.H.; PAHWA, P.; MCLAUGHLIN, J.R.; SPINELLI, J.J.; FINCHAM, S.; DOSMAN, J.A.; ROBSON, D.; SKINNIDER, L.F.; CHOI, N.W. Non-Hodgkin's lymphoma and specific pesticide exposures in men: cross-Canada study of pesticides and health. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.** 10, 1155–1163, 2001.

MEIRELLES L.C. CONTROLE DE AGROTÓXICOS: ESTUDO DE CASO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 1985/1995. Dissertação de mestrado. Programas de Pós-Graduação de Engenharia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1996.

MENEGAUX, F.; BARUCHEL, A.; BERTRAND, Y.; LESCOEUR, B.; LEVERGER, G.; NELKEN, B.; SOMMELET, D.; HEMON, D.; CLAVEL, J. Household exposure to pesticides and risk of childhood acute leukaemia. **Occup. Environ. Med.** 63, 131–134. 2006.

MENTEN, J.O.M.; SAMPAIO, I.A.; MOREIRA, H.; FLORES, D.; MENTEN, M. O setor de defensivos agrícolas no Brasil. 2010. Disponível em:< www.sindag.com.br>. Acesso em: 15 nov/ 2010

MILLER, B.; ALBERTINI, S.; LOCHER, F.; THYBAUD, V.; LORGE, E. Comparative evaluation of the in vitro micronucleus test and the in vitro chromosome aberration test: industrial experience. **Mutat. Res.** 392, 45–59. 1997.

MILLS, P.K.; YANG, R. Regression analysis of pesticide use and breast cancer incidence in California Latinas. **J. Environ. Health.** 68, 15–22. 2006.

MITCHELL, P.J.; BARKER, K.T.; SHIPLEY, J.; CROMPTON M.R. Characterisation and chromosome mapping of the human non receptor tyrosine kinase gene, *brk*. **Oncogene** 15: 1497–1502, 1997.

MOHAMMAD, O.; WALID, A. A.; GHADA, K. Chromosomal aberrations in human lymphocytes from two groups of workers occupationally exposed to pesticides in Syria. **Environ Res** 70, 24-9. 1995.

MOLLER, P.; KNUDSEN, L.E.; LOFT, S.; WALLIN, H. The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 9:1005–1015, 2000.

MOORE & BENDER. Time sequence of events leading to chromosomal aberration formation. **Environmental and Molecular Mutagenesis**. Volume 22, Issue 4, pages 208–213, 1993.

MOOREHEAD, P.S.; NOWELL, P.C.; MELLMAN, W.J.; BATTIPS, D.M.; HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparations of leukocytes cultures from human peripheral blood. **Exp. Cell. Res.** 20, 613-616, 1960.

MOREIRA, J.C.; SILVANA, J.C.; PERES, F.; LIMA, J.S.; MEYER, A.; OLIVEIRA-SILVA, J.J.; SARCINELLI, P.N.; BATISTA, D.F.; EGLER, M.; FARIA, M.V.C.; ARAÚJO, A.J.; KUBOTA A.H.; SOARES, M.O.; ALVES, S.R.; MOURA, C.M.; CURI, R. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo. **Ciência e Saúde Coletiva**. 7, 299-311, 2002.

MUIR, K.; RATTANAMONGKOLGUL, S.; SMALLMAN-RAYNOR, M.; THOMAS, M.; DOWNER, S.; JENKINSON, C. Breast cancer incidence and its possible spatial association with pesticide application in two counties of England. **Public Health**. 118, 513–520, 2004.

MUNIZ J.F.; MCCAULEY L.; SCHERER J.; LASAREV M.; KOSHY M.; KOW Y.W.; NAZAR-STEWART V.; KISBY G.E. Biomarkers of oxidative stress and DNA damage in agricultural workers: A pilot study. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 227, 97-107. 2008.

NATARAJAN, A.T. Chromosome aberrations: past, present and future. **Mutat. Res.** 504, 3-16, 2002.

NORPPA, H. Cytogenetic markers of susceptibility: influence of polymorphic carcinogen-metabolizing enzymes. **Environ. Health Perspect.** 105, 829-835, 1997.

NORPPA H. Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms. **Toxicol Lett.** 149:309-34. 2004

NOVATO-SILVA E. A study of immunological alterations in rural workers laboriously exposed to pesticides, p. 41. Anais do XV Congresso Mundial sobre Segurança e Saúde no Trabalho. São Paulo, 1999.

NOVATO-SILVA E.; SILVA J.M.; SOUZA R.A.; RODRIGUES F.A.L.; SILVA G.M.E. Educação para a saúde: o conhecimento como ferramenta de redução dos riscos da exposição ocupacional a agrotóxicos, p 6. Anais 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária. Belo Horizonte, 2004.

NOVATO-SILVA. Study of immunological alterations in rural workers laboriously exposed to pesticides. In: **Congresso Mundial sobre Segurança e Saúde no trabalho**. São Paulo, 15, 1999.

NUNES, M.V.; TAJARA, E.H. Efeitos tardios dos praguicidas organoclorados no homem. **Rev. Saúde Pública**. 32, 372-382, 1998.

OIT, Agricultura y sectores basados en recursos biológicos. In: **Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo**. 3, 64-68, 2001.

OLIVEIRA-SILVA, J.J.; ALVES S.R.; MEYER, A.; PEREZ, F.; SARCINELLI, P.N.; MATTOS, R.C.O. Influência de fatores sócio econômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro. 35, 130-135, 2000.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DAS UNIÕES DE CONSUMIDORES-OIUC. www.consumersinternational.org/ Publicações, 2009. Acessado em 01/12/2011.

OSTLING, O.; JOHANSON, K.J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. **Biochem. Bioph. Res. Co.** 123, 291-298, 1984.

PACHECO, A.O.; HACKEL, C. Chromosome instability induced by agrochemicals among farm workers in Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brazil. **Cad Saude Publ** 18:1675-1683. 2002.

PARKIN, D.M.; BRAY, F.; FERLAY, J.; PISANI, P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. **Int. J. Cancer.** 94, 153-156, 2001.

PASTOR, S., LUCERO, L.; GUTIÉRREZ, S.; DURBÁN, R.; GÓMEZ, C.; PÁRRON, T. Follow-up study on micronucleus frequency in Spanish agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis*, 17:79-82, 2002.

PAZ-Y-MINO, C.; AREVALO, M.; SANCHEZ, M.E.; LEONE, P.E. Chromosome and DNA damage analysis in individuals occupationally exposed to pesticides with relation to genetic polymorphism for CYP 1A1 gene in Ecuador. *Mutat Res* 562:77-89, 2004.

PERERA, F. P.; WEINSTEIN, I. B. Molecular epidemiology and carcinogen-DNA adduct detection: new approaches to studies of human cancer causation. **Journal of Chronic Diseases**, v. 35, p. 581-600, 1982.

PERERA, F.P. Environment and cancer: Who are susceptible? **Science.** 278, 1068-1071, 1997.

PERES, F. É veneno ou remédio?: os desafios da comunicação rural sobre os agrotóxicos. Rio de Janeiro (Dissertação) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, 1999.

PERES, F., ROZEMBERG, B.; ALVES, S.R.; MOREIRA, J.C.; OLIVEIRA-SILVA, J.J. Comunicação relacionada ao uso de agrotóxicos em região agrícola do Estado do Rio de Janeiro. **Revista de Saúde Pública.** 35, 564-570, 2001.

PERES, F.; MOREIRA, J.C.; DUBOIS, G.S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente. **Fiocruz.** Rio de Janeiro, 21-41, 2003.

PETROVSKA, H.; DUSINSKA, M. Oxidative DNA damage in human cells induced by Paraquat. *ATLA* 27:387–395, 1999.

PIMENTEL, D. Green revolution agriculture and chemical hazard. **The Science of the Total Environment**. 188, S86-S98, 1996.

PISANI, P.; PARKIN, D.M.; MUNOZ, N.; FERLAY, J. Cancer and infection: estimates of the attributable fraction in 1990. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.** 6, 387–400, 1997.

PITARQUE, M.; VAGLENOV, A.; NOSKO, M.; PAVLOVA, S.; PETKOVA, V.; HIRVONEN, A.; CREUS, A.; NORPPA, H.; MARCOS, R. Sister chromatid exchanges and micronuclei in peripheral lymphocytes of shoe factory workers exposed to solvents. **Environ. Health Perspect.** 110, 339–404, 2002.

PITARQUE, M.; VAGLENOV, A.; NOSKO, M.; HIRVONEN, A.; NORPPA, H.; CREUS, A.; MARCOS, R. Evaluation of DNA damage by Comet assay in footwear-workers exposed to toluene and other organic solvents. **Mutat. Res.** 441, 115–127, 1999.

PRESTON, R.J.; SAN SEBASTIAN, J.R.; McFEE A.F. The in vitro human lymphocyte assay for assessing the clastogenicity of chemical agents. **Mutat Res** 189:175–183. 1987.

POST, P.N.; STOCKTON, D.; DAVIES, T.W.; COEBERGH, J.W., Striking increase in incidence of prostate cancer in men aged 60 years without improvement in prognosis. **Br. J. Cancer.** 79, 13–17, 1999.

POTT, P. Cirurgical observations relative to cancer of the scrotum. In: Classics in oncology. **New York: American Cancer Society.** 9-17, 1987.

RABELLO-GAY, M.N. Teste do micronúcleo em medula óssea. Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese – Métodos e critérios de avaliação. São Paulo: FCA, 1991. 83-90,

REIGART, J.R.; ROBERTS J.R. Recognition and management of pesticide poisoning. Washington, DC, U.S. Environmental Protection Agency, 1999.

REMOR, A.P.; TOTTI, C.C.; MOREIRA, D.A.; DUTRA, G.P.; HEUSER, V.D.; BOEIRA, J.M. Occupational exposure of farm workers to pesticides: Biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. **Environment International**. 2009.

REUS, G.Z.; VALVASSORI, S.S.; NUERNBERG, H.; COMIM, C.M.; STRINGARI, R.B.; PADILHA, P.T.; LEFFA, D.D.; TAVARES, P.; DAGOSTIM, G.; PAULA, M.M.; ANDRADE, V.M.; QUEVEDO, J. DNA damage after acute and chronic treatment with malathion in rats. **J Agric Food Chem**. 56(16):7560–7565, 2008.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. Genética do Câncer humano. In: _____ **Mutagênese ambiental**. Canoas: Ed. ULBRA,. Cap. 2, p. 29-48. 2003

ROHR, P.; SILVA, J.; ERDTMANN, B.; SAFFI, J.; NIKOLOVA, T.G.; HENRIQUES, J.A.P.; KVITKO, K. BERGene Polymorphisms (OGG1Ser326Cys and XRCC1 Arg194Trp) and Modulation of DNA Damage due to Pesticides Exposure. **Environmental and Molecular Mutagenesis** 00:000^000. 2010.

SAILAJA, N.; CHANDRASEKHAR, M.; REKHADEVI, P.V.; MAHBOOBA, M.; RAHMANA, M.F.; VUYYURI, S.B.; DANADEVI, K.; HUSSAIN, S.A.; GROVER, P. Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. **Mutation Research**. 609, 74-80, 2006.

SANTOS, N.N.A. Danos citogenéticos e citológicos em indivíduos sob diferentes formas de exposição a mutágenos, avaliados pelo Teste do Micronúcleo (MN). Tese de Doutorado apresentada ao Dep. de práticas de Saúde da Universidade de São Paulo, 2003.

SAYAD J. Crédito Rural no Brasil. Ed. Fipe/Pioneira, São Paulo, 1984.

SCARPATO, R.; MIGLIORE, L.; HIRVONEN, A.; FALCK, G.; NORPPA, H. Cytogenetic monitoring of occupational exposure to pesticides: characterization of GSTM1, GSTT1, and NAT2 genotypes. **Environ. Mol. Mutagen**. 27, 263–269, 1996.

SCHINZEL, A.; SCHMID, W. Lymphocyte chromosome studies in humans exposed to chemical mutagens. The validity of the method in 67 patients under cytostatic therapy. **Mutat Res** 40:139–166. 1976.

SHAH, R.G.; LAGUEUX, J.; KAPUR, S.; LEVALLOIS, P.; AYOTTE, P.; TREMBLAY, M.; ZEE, J.; POIRIER, G.G. Determination of genotoxicity of the metabolites of pesticides guthion, sencor, lorox, reglone, daconil and admire by ³²P-postlabeling. **Mol Cell Biochem.** 169:177–184. 1997.

SHAHAM J, KAUFMAN Z, GURVICH R, LEVI Z. Frequency of sister chromatid exchange among greenhouse farmers exposed to pesticides. **Mutat Res.** 491:71–80. 2001.

SIEMIATYCKI, J.; RICHARDSON, L.; STRAIF, K.; LATREILLE, B.; LAKHANI, R.; CAMPBELL, S.; ROUSSEAU, M.C.; BOFFETTA, P. Listing occupational carcinogens. **Environ. Health Perspect.** 112, 1447–1459, 2004.

SILVA J.M. Familiar agriculture: production process and health conditions. Anais do XV Congresso Mundial sobre Segurança e Saúde no Trabalho. São Paulo, 40, 1999.

SILVA, A.S.; RIEDER, A.; DORES., E.F.G.C.; RODRIGUES, G.L.; MENDES, M.F.; SILVA, P.L.; LACERDA, R.G.; HACON, S. Agentes pesticidas causadores de intoxicação em três zonas habitacionais do município de Cáceres, Alto Pantanal, MT, Brasil In: **IV Simpósio sobre recursos naturais e sócio-econômicos do Pantanal, Corumbá-MS.** 2004. 23-26,

SILVA, J.; FREITAS, T.R.O.; HEUSER, V.; MARINHO, J.R.; ERDTMAN, B. Genotoxicity biomonitoring in coal regions using wild rodent *Ctenomys torquatus* by assay and micronucleus test. **Environmental and Molecular Mutagenesis.** 35, 270-278, 2000.

SILVA, J.M. Processo de trabalho e condições de exposição aos agrotóxicos: o caso dos horticultores de Baldim, Minas Gerais, Brasil. Belo Horizonte, (Dissertação) Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia, Belo Horizonte, 2000.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLA – SINDAG, 2010. <http://www.sindag.com.br/>. Acessado em 25/06/2010.

SINDICATO NACIONAL DAS INDÚSTRIAS DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLAS-SINDAG, 2008. Disponível em <http://www.sindag.com.br>. Acessado em 15/05/2009.

SINGH, M.P.; MCCOY, M.; TICE, R.R.; SCHNEIDER, P. A simple technique for quantitation of low levels of DNA in individual cells. **Exp. Cell Res.** 175, 184-191, 1988.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TOXICO FARMACOLÓGICAS-SINITOX. Registros de Intoxicações. <http://www.fiocruz.br/sinitox>. 2010.

SOARES, W.; ALMEIDA, R.M.V.R.; MORO, S. Trabalho rural e fatores de risco associados ao regime de uso de agrotóxicos em Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro. 19, 1117-1127, 2003.

SOLOMON, G. Pesticidas and human health: a resource for health care professionals. California: **Physicians for Social Responsibility**. 2000.

SPEIT, G.; HARTMANN, A. The comet assay (single-cell gel test). A sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. **Methods in Molecular Biology**, v. 113, p. 203-212, 1999.

STECKERT, A.V.; CAROLINE, E.; SILVANO, J.; DAL-PIZZOL, F.; ANDRADE, V.M. Markers of pesticide exposure in irrigated rice cultures. **J Agric Food Chem.** 57, 11441-11445, 2009.

STELLMAN, S.D.; DJORDJERVIC, M.V.; BRITTON, J.A.; MUSTAC, J.E.; CITRON, M.L.; KEMENY, M.; BUSCH, E.; GONG, L. Breast cancer risk in relation to adipose concentrations of organochloride pesticides and polychlorinated biphenyls in Long Islkand, New York. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** 9, 1241-1249, 2000.

SZNELWAR, L.I, Analyse ergonomique de l'exposition de trava illeurs agri coles aux pesticides. Essai ergotoxicologique. (versão em português). Tese de doutorado. Consevatoire National Des Arts Et Metiers. Paris, 1993.

TALBOT, S.J.; CRAWFORD, D.H. Viruses and tumours—an update. **Eur. J. Cancer.** 40, 1998–2005.

TICE, R. R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J. C.; SASAKI, Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivogenetic toxicology testing. **Environ. Mol. Mutagen.** 35, 206–221, 2000.

TRAPÉ, A.Z., Exposição ocupacional a formulação contendo glifosato/ Occupational exposure to glyphosate formulations. **Rev. bras. toxicol.** 18, 114-116, 2005.

VAN MAELE-FABRY, G.; WILLEMS, J.L. Occupation related pesticide exposure and cancer of the prostate: a meta-analysis. **Occup. Environ. Med.** 60, 634–642, 2003.

VARONA, M.; CARDENAS, O.; CRANE, C.; ROCHA, S.; CUERVO, G.; VARGAS, J. Alteraciones citogenéticas em trabalhadores com riesgo ocupacional de exposicion a plaquicidas em cultivos de flores em Bogotá. **Biomédica.** 23, 141-152, 2003.

VERDES, J.A.A. Plaguicidas organoclorados, Metepe (México): **Centro Panamericano de Ecología humana y salud**, 1990.

VIGREUX, C.; POUL, J.M.; DESLANDES, E.; LEBAILLY, P.; GODARD, T.; SICHEL, F.; HENRY-AMAR, M.; GAUDUCHON, P. DNA damaging effects of pesticides measured by the single cell gel electrophoresis assay comet assay and the chromosomal aberration test in CHOK1 cells. **Mutat Res** 419, 79–90, 1998.

ZAHM, S.H.; WARD, M. ; BLAIR, A. Pesticides and cancer. **Occupational Medicine: State of the Art Reviews.** 12 (2): 269-89, 1998.

WHO. WHO Guide to short-terms for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals IPCS. **Environ. Health Criteria.** Prepared by ICPEMC. Finland, 51, 1985.

WILKINSON, J. T.; CLAPPER, M.L. Detoxication enzymes and chemoprevention. **Proc Soc Exp Biol Med** 216:192–200, 1997.

ZHENG, T.; ZAHM, S.H.; CANTOR, K.P.; WEISENBURGER, D.D.; ZHANG, Y.; BLAIR, A. Agricultural exposure to carbamate pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma. **J. Occup. Environ. Med.** 43, 641–649, 2001.

ANEXOS

**ANEXO 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO –
TCLE**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE**PROJETO: Biomonitoramento genético de agricultores expostos a pesticidas nos municípios de Tianguá e Ubajara – Ceará.**

O RENORBIO- Rede Nordeste de Biotecnologia em parceria com a Universidade Federal do Ceará está desenvolvendo uma pesquisa que permitirá avaliar os possíveis efeitos genotóxicos e carcinogênicos da exposição humana a pesticidas (agrotóxicos) na Serra da Ibiapaba-CE. Esta pesquisa será realizada pelo monitoramento dos agricultores desta região através da identificação de possíveis alterações genéticas em amostra de sangue periférico.

Você está sendo admitido nesta pesquisa, e para tal, há a necessidade da remoção de material biológico. Parte do material será encaminhado para exames laboratoriais, necessários à investigação. O restante do material não utilizado será armazenado para novos exames, se necessário.

A obtenção da amostra de sangue para a pesquisa não implicará em riscos adicionais para a saúde. A amostra do material será identificada no laboratório por código que preserva sua privacidade e identidade. A inclusão dos resultados em publicação científica garantirá o anonimato ao voluntário.

É necessário esclarecê-lo que não existem benefícios ou direitos financeiros a receber sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. Se você não concordar em doar o material para pesquisa, sua decisão não influenciará, de nenhum modo, no seu atendimento ou tratamento.

Caso você tenha alguma dúvida sobre este documento ou em relação à pesquisa, por gentileza, entre em contato com a Prof^a. Cláudia, pelo telefone, 85 3366 8255 ou com Jean Paiva, pelo telefone 86 9429 5015. Uma cópia deste documento será arquivada em seu prontuário e, se desejar, uma cópia lhe será fornecida.

Jean Carlos Gomes Paiva

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo da mesma, assim como seus riscos e benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame.

Nome do Agricultor

ANEXO 2 – QUESTIONÁRIO SÓCIO-EPIDEMIOLÓGICO

QUESTIONÁRIO SÓCIO-EPIDEMIOLÓGICO

IDENTIFICAÇÃO DO ENTREVISTADO

Data: __/__/____ N° de identificação _____

Nome _____

Data de Nascimento _____

Localidade de Nascimento _____

Idade _____ Sexo _____

Cor: () branco () mulato claro () mulato médio () mulato escuro ()
negro

Endereço residencial _____

Mora no local em que trabalha? Quanto tempo? _____

Ocupação atual _____

Tempo na atividade _____

Ocupação anterior _____

Tempo na atividade _____

USO DE PESTICIDAS AGRÍCOLAS

1. O que você cultiva?

2. Usa algum tipo de pesticida? Quais os nomes?

3. Qual a frequência de uso destes pesticidas?

4. Há quanto tempo você faz uso de pesticidas na lavoura?

5. Qual o último dia que usou?

6. Onde e como você armazena esse produto na plantação?

7. De que maneira você aplica os pesticidas sobre as plantações?

8. O que você faz com os vasilhames dos pesticidas?

9. Usa algum equipamento de proteção no momento da aplicação? Quais?

10. Sente algum efeito colateral após a aplicação? Descreva.

OUTRAS QUESTÕES

Câncer

1. Na sua família houve algum caso de câncer? Qual o grau de parentesco?
2. Qual o tipo de câncer?
3. Ele(a) está vivo(a)?
4. Você fuma? Há quanto tempo?
5. Você toma bebidas alcoólicas? Qual a frequência?
6. Com o que costuma se alimentar?
7. Grau de instrução?

**ANEXO 3 – ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS NA ÁGUA
DO RESERVATÓRIO JABURU, PLANALTO DA IBIAPABA, CEARÁ**

ANEXO 4 – PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS

PAIVA, J.C.G.; CABRAL, I.O.; SOARES, B.M.; SOMBRA, C.M.L.; FERREIRA, J.O.; MORAES, M.O.; CAVALCANTI, B.C.; PESSOA, C. Biomonitoring genetic of farmers exposed to pesticides in the municipalities of Tiangua and Ubajara (Ceará, Brazil). **Environmental and Molecular Mutagenesis**. 52:492-501. 2011.