



Agência Nacional de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

**Consulta Pública nº 89, de 27 de novembro de 2009.**  
**D.O.U de 30/11/09**

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso das atribuições que lhe confere o inciso IV do art. 11 e o art. 35 do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso V e nos §§ 1º e 3º do art. 54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em 24 de novembro de 2009,

adota a seguinte Consulta Pública e eu, Diretor Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Fica aberto, a contar da data de publicação desta Consulta Pública, o prazo de 30 (trinta) dias para que sejam apresentadas críticas e sugestões relativas à proposta de Regulamento Técnico, para o ingrediente ativo Metamidofós, contido na Relação de Monografias dos Ingredientes Ativos de Agrotóxicos, Domissanitários e Preservantes de Madeira, em anexo.

Art. 2º Informar que a proposta Regulamento Técnico, bem como a Nota Técnica do Ingrediente Ativo Metamidofós estará disponível, na íntegra, durante o período de consulta no endereço eletrônico [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) e que as sugestões deverão ser encaminhadas por escrito para o seguinte endereço: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, SIA, Trecho 5, Area Especial 57, Lote 200, Brasília, DF, CEP 71.205.050 ou Fax: (061)3462-5726 ou E-mail: [toxicologia@anvisa.gov.br](mailto:toxicologia@anvisa.gov.br).

Art. 3º Findo o prazo estipulado no art. 1º a Agência Nacional de Vigilância Sanitária articular-se-á com os Órgãos e Entidades envolvidos na reavaliação toxicológica de acordo com a RDC 48, de 07 de julho de 2008, visando à consolidação do texto final.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO

### **Anexo de Proposta de Regulamento Técnico**

#### **RESOLUÇÃO RDC N.º , DE DE NOVEMBRO DE 2009**

*Proposta de regulamento técnico para o ingrediente ativo Metamidofós em decorrência da reavaliação toxicológica*

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o inciso IV do art. 11 do Regulamento aprovado pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso II e nos §§ 1º e 3º do art. 54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em.....de ..... de 2009, e

considerando o disposto na Constituição Federal, de 05 de outubro de 1988, em seu artigo 5º, XXXIII e LX, relativos ao direito à informação e publicidade dos atos da administração pública;

considerando o disposto na Constituição Federal, de 05 de outubro de 1988, em seu artigo 200, incisos I, II e VII;

considerando o disposto na Lei nº. 8.080, de 19 de setembro de 1990, em seu art. 6º, incisos I e alíneas, VII, IX e § 1º e incisos;

considerando o disposto na Lei nº. 9.782, de 26 de janeiro de 1999, em seu artigo 8º e parágrafos, que determina a regulamentação, o controle e a fiscalização dos produtos que envolvam risco à saúde pública;

considerando o disposto na Lei nº 9.784, de 29 de janeiro de 1999; que regula o processo administrativo no âmbito da Administração Pública Federal;

considerando a Lei nº 10.603, de 17 de dezembro de 2002, que dispõe sobre a informação não divulgada submetida para aprovação da comercialização de produtos;

considerando o disposto na Lei nº. 7.802, de 11 de julho de 1989, art. 3º, § 6º, alíneas “c”, “d” e “e”, combinado com disposto no Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002, artigos 2º, inciso VI; art. 6º, inciso I; art. 19, parágrafo e incisos e art. 31 e incisos;

considerando o disposto na Instrução Normativa Conjunta nº. 02, de 27 de setembro de 2006, que estabelece procedimentos para fins de reavaliação agronômica ou toxicológica ou ambiental dos agrotóxicos, seus componentes e afins;

considerando a RDC nº10, de 22 de fevereiro de 2008, que estabelece a reavaliação toxicológica de produtos técnicos e formulados à base do ingrediente ativo Metamidofós;

considerando a RDC 48, de 07 de julho de 2008, que estabelece os procedimentos administrativos para a reavaliação toxicológica;

considerando o impacto dos agrotóxicos de forma difusa e coletiva e a importância da ampla participação da sociedade através do instrumento de consulta pública;

considerando que o ingrediente ativo metamidofós apresenta características neurotóxicas, imunotóxicas e provoca toxicidade sobre o sistema endócrino, reprodutor e desenvolvimento embrionário;

considerando que o ingrediente ativo metamidofós se enquadra dentre os agrotóxicos com características proibitivas de registro;

considerando que o metamidofós no cenário internacional, tem sido alvo de proibições em diversos países e severas restrições devido aos riscos para a saúde humana;

adota a seguinte Resolução e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Cancelar os informes de avaliação toxicológica de todos os produtos técnicos e formulados à base do ingrediente ativo metamidofós a partir da data de publicação desta Resolução.

Art. 2º Manter a monografia do ingrediente ativo metamidofós até a data de janeiro de 2010 para fins de programas de monitoramento de resíduos de agrotóxicos nos alimentos.

Art. 3º Indeferir os pleitos de avaliação toxicológica, em tramitação nesta Agência, de produtos técnicos e formulados à base de metamidofós, com vistas à obtenção de registro de produtos, devido ao enquadramento do ingrediente ativo dentre as proibições de registro do art. 3º, § 6º, alíneas “c”, “d” e “e”, da Lei 7.802, de 11 de julho de 1989.

Art.4º Solicitar ao Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento que suspenda as importações de produtos técnicos e formulados à base de metamidofós a partir da publicação desta Resolução.

Art. 5º Esta Resolução entra em vigor na data da sua publicação.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO



**NOTA TÉCNICA**  
**REAVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO INGREDIENTE ATIVO METAMIDOFÓS**

<b>1. APRESENTAÇÃO E MOTIVAÇÕES PARA REAVALIAÇÃO</b>	<b>2</b>
<b>2. INTRODUÇÃO</b>	<b>3</b>
<b>2.1 IDENTIDADE QUÍMICA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO METAMIDOFÓS</b>	<b>5</b>
<b>2.2 PRODUÇÃO E USO</b>	<b>7</b>
<b>2.3 RELEVÂNCIA PARA A SAÚDE PÚBLICA</b>	<b>8</b>
<b>2.4 IMPUREZAS RELEVANTES DO PONTO DE VISTA TOXICOLÓGICO</b>	<b>13</b>
<b>3. TOXICOCINÉTICA</b>	<b>14</b>
<b>3.1 VIAS DE EXPOSIÇÃO E ABSORÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>3.2 DISTRIBUIÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>3.3 BIOTRANSFORMAÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>3.4 EXCREÇÃO</b>	<b>16</b>
<b>4. AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA</b>	<b>18</b>
<b>4.1 TOXICIDADE AGUDA</b>	<b>18</b>
<b>4.2 TOXICIDADE SUBCRÔNICA</b>	<b>22</b>
<b>4.3 TOXICIDADE CRÔNICA</b>	<b>32</b>
<b>4.3.1 Estudos de mutagenicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade</b>	<b>32</b>
<b>4.4 TOXICIDADE SOBRE O SISTEMA ENDÓCRINO, REPRODUTIVO E DESENVOLVIMENTO</b>	<b>37</b>
<b>4.4.1 Toxicidade sobre o sistema endócrino</b>	<b>37</b>
<b>4.4.2 Toxicidade reprodutiva</b>	<b>40</b>
<b>4.4.3 Toxicidade sobre o desenvolvimento</b>	<b>42</b>
<b>4.5 IMUNOTOXICIDADE</b>	<b>49</b>
<b>4.5.1 Efeitos imunossupressores do metamidofós</b>	<b>50</b>
<b>4.6 NEUROTOXICIDADE</b>	<b>51</b>
<b>4.6.1 Mecanismos de ação</b>	<b>51</b>
<b>4.6.2 Manifestações clínicas do metamidofós</b>	<b>54</b>
<b>4.6.3 Estudos experimentais de neurotoxicidade do metamidofós</b>	<b>65</b>
<b>5. ASPECTOS REGULATÓRIOS – A SITUAÇÃO INTERNACIONAL DO REGISTRO DO METAMIDOFÓS</b>	<b>72</b>
<b>6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES</b>	<b>72</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>78</b>

## **1. Apresentação e motivações para reavaliação**

A Nota Técnica visa cumprir uma das etapas da reavaliação toxicológica, prevista na RDC nº 10/2008 e detalhada na RDC nº 48/2008. Esta nota técnica foi elaborada pelos especialistas da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ.

A partir da data de sua publicação, a mesma ficará em Consulta Pública por 30 dias, conforme disposto na RDC nº 48/2008, e as contribuições, após consolidadas, serão analisadas conjuntamente pela comissão de reavaliação integrada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) e MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento).

O controle da produção, da comercialização e do emprego de técnicas, métodos e substâncias que comportem risco para a vida, para a qualidade de vida e para meio ambiente, são incumbências do Poder Público, atribuídas pelo artigo 225 da Constituição Federal, e regulamentado no caso específico dos agrotóxicos, pela Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989.

De acordo com a Lei nº 7.802/89, os agrotóxicos, como o nome aduz, são substâncias que comportam risco à vida e à saúde, tanto para os trabalhadores expostos a essas substâncias, quanto para os consumidores de culturas tratadas e para a população em geral. Estes produtos necessitam de uma detalhada avaliação para obtenção de registro, a qual é procedida pelos Ministérios da Agricultura, da Saúde e do Meio Ambiente, cada um em suas respectivas áreas de atuação.

O legislador reconheceu a possibilidade de efeitos danosos dos agrotóxicos ao estabelecer, no § 6º do art. 3º da Lei nº 7.802/89, as proibições de registro. Dessa forma os agrotóxicos, para a obtenção do registro, são avaliados quanto aos impactos à saúde humana, ao meio ambiente e de eficácia agrônômica.

A ANVISA é o órgão responsável no âmbito do Ministério da Saúde pela avaliação da toxicidade dos agrotóxicos e seus impactos à saúde humana, emitindo um parecer toxicológico favorável ou desfavorável à concessão do registro pelo Ministério da Agricultura. Os estudos exigidos para efetuar a avaliação toxicológica dos agrotóxicos seguem parâmetros e metodologias adotadas internacionalmente, em particular pela ONU/OMS – Organização Mundial de Saúde, OECD – Organization for Economic Co-operation and Development, USA/EPA – Environmental Protection Agency e ONU/FAO – Food and Agriculture Organization. A avaliação toxicológica

leva também em conta as condições brasileiras de uso e consumo de culturas tratadas com agrotóxicos e o impacto desses produtos na saúde humana de trabalhadores e consumidores.

Uma vez concedido o registro de determinado agrotóxico, este possui validade *ad eternum*, sem previsão de qualquer prazo para renovação ou revalidação do mesmo. Entretanto, como o conhecimento técnico científico sobre os ingredientes ativos e especialmente sobre o surgimento de perigos e riscos associados ao uso, a Lei nº 7.802/89 e o Decreto nº 4.074/02 prevêm a reavaliação toxicológica.

Em relação aos aspectos toxicológicos, a reavaliação de agrotóxicos ocorre quando há alguma alteração de perigo ou risco à saúde humana, em comparação aos avaliados durante a concessão de registro. Essas alterações podem ser detectadas através do avanço dos conhecimentos científicos, alertas em função de observações epidemiológicas que apontem as situações não evidenciadas nos estudos experimentais conduzidos em animais de laboratório, entre outras possibilidades.

O órgão federal responsável pelo aspecto a ser reavaliado, neste caso em específico suspeita de danos à saúde, diante de alertas ou suspeitas de efeitos adversos que se configuram dentre os proibitivos de registro, publicou a reavaliação do metamidofós, cuja análise técnica é o objeto da presente nota.

## **2. Introdução**

A partir do início da década de 1990, no Brasil, há um crescente aumento no uso do metamidofós. Já foram registrados casos de uso abusivo e indiscriminado em Minas Gerais (MOREIRA, 1995) e casos de contaminação em culturas de hortaliças em São Luís, MA (ARAÚJO, 2000).

O metamidofós é um organofosforado inseticida/acaricida que apresenta efeito residual de 10 a 12 dias. Sua modalidade principal de ação nos insetos e nos mamíferos é pela diminuição da atividade da enzima acetilcolinesterase, importante para a função do sistema nervoso. Esta enzima é essencial na transmissão normal de impulsos nervosos.

O metamidofós, assim como diversos outros compostos inseticidas (por ex.: parationa etílica e metílica, fosmete, forate, triclorfom, malationa, clorpirifós, acefato), pertence ao grupo químico dos organofosforados (OP), que são inibidores da

acetilcolinesterase (AChE) e provocam efeitos tóxicos sobre os diferentes sistemas dos seres vivos expostos (EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005).

Os primeiros compostos organofosforados foram preparados por alquimistas na Idade Média, mas seu estudo sistemático teve início no século XIX, por Lassaigue em 1820, com a esterificação do ácido fosfórico. Vinte e cinco anos mais tarde, uma série de derivados de fosfinas foi preparada por Thénard e colaboradores e a partir destes trabalhos o progresso da investigação dos compostos de fósforo foi acelerado (SANTOS, 2007).

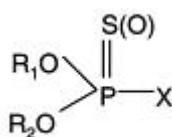
A partir da segunda metade do século XIX, seu desenvolvimento foi dominado por pesquisadores britânicos e alemães (TOY, 1976; STODDART, 1979). A descoberta das propriedades tóxicas e inseticidas de alguns compostos de fósforo por Schrader e colaboradores, em 1930, criou novos compostos organofosforados nas indústrias (STODDART, 1979).

Observou-se durante a I Guerra Mundial que indivíduos asfixiados com o gás mostarda (bis (2- cloroetil sulfeto) tinham como conseqüências danos na medula óssea e nos linfócitos. Estudos em animais durante a II Guerra Mundial demonstraram que a exposição à mostarda nitrogenada, análoga ao composto bis (2-cloroetil) amino, a mecloretamina, destrói os linfócitos (TEICHER; SOTOMAYOR, 1994).

A qualidade inseticida dos organofosforados foi primeiramente observada na Alemanha durante a II Guerra Mundial em um estudo dos gases sarin, soman e tabun, extremamente tóxicos para o sistema nervoso (ROSATI et al, 1995).

Os compostos organofosforados foram introduzidos como biocidas na década de 1970, inicialmente apresentados como substitutivos dos organoclorados apesar de possuir alta toxicidade (WOODWELL et al, 1967; PEAKALL et al, 1975; MURPHY, 1986). Foi também a partir dessa época que aumentou de forma drástica o número de casos de intoxicação por OP, mesmo em baixas doses (ARAÚJO et al, 2007).

Os OP são ésteres fosfóricos compostos por um átomo de fósforo pentavalente, derivado do ácido fosfórico, do ácido tiosfosfórico ou do ácido ditiosfosfórico (BRASIL, 1997). Sua estrutura química está representada na figura 1.



**Figura 1:** Estrutura química geral dos organofosforados (OP).

O átomo de fósforo da molécula do OP é polarizável e os radicais R1 e R2 são grupos aril ou alquil que se ligam diretamente ao átomo de fósforo, formando fosfinatos, ou através de um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfatos e fosforotioatos (HOLLINGWORTH, 1976; CHAMBERS, 1995; COCKER et al, 2002).

O R1 pode estar diretamente ligado ao átomo de fósforo e o R2 pode estar ligado por um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfonatos ou tiosfosfonatos. Ainda, os fosforamidatos apresentam no mínimo um grupo -NH<sub>2</sub> na molécula. Os grupos amino dos fosforamidatos podem ser: não-substituídos, mono ou dissubstituídos. Os átomos que podem formar ligação dupla com o fósforo podem ser: oxigênio, enxofre, selênio, cloro, flúor e os cianofosforados, como, sarin, soman e tabun (HOLLINGWORTH, 1976; CHAMBERS; CARR, 1995; ECOBICHON, 1996).

Cocker et al (2002) estudaram a importância das características estruturais dos compostos organofosforados e mostraram que estão relacionadas com suas diferentes atividades tóxicas, tais como o tipo de heteroátomo ou grupo funcional ligado ao átomo de fósforo e seu estado de oxidação. Assim, na estrutura geral dos OP a parte 'X' da molécula (ver figura 1) possibilita a sua diferenciação em produtos específicos. Os inseticidas OP são usados frequentemente na forma "thio" (P=S) que por dessulfuração metabólica oxidativa produz a forma P=O.

Foi comprovado que a toxicidade elevada para a espécie humana de diversos organofosforados está relacionada às ligações P=O presentes em sua estrutura molecular ou em seus metabólitos. Esta ligação possibilita maior transferência de elétrons do fósforo para o oxigênio, resultando em cargas mais intensas nos dois elementos e, como consequência, interações mais fortes entre o organofosforado com o centro esterásico da enzima acetilcolinesterase (COCKER et al, 2002).

## **2.1 Identidade química e propriedades físico-químicas do metamidofós**

O metamidofós apresenta as seguintes características:

**Nome técnico ou comum:** METAMIDOFOS (methamidophos)

**Número CAS:** 10265-92-6

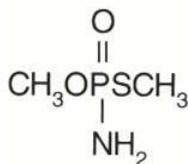
**Nome químico:** O, S - dimetil fosforamidotioato (IUPAC/CA apud ANVISA, 2002)

**Sinonímia:** Fosforo amido tioato O,S – dimetílico

**Estado físico, aspecto e odor:** sólido cristalino de odor acre

**Fórmula molecular:** C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>2</sub>OS

**Fórmula estrutural:**



**Peso molecular:** 141,12 u.m.a.

**Pressão de vapor:**  $3 \times 10^{-4}$  mmHg a 30 °C

**Coefficiente de partição:** (n-octanol/água): -1,74

**Ponto de fusão:** 46,1 °C

**Solubilidades (em g/l a 20 °C):**

- a) em água, > 200;
- b) em isopropanol, 200;
- c) em diclorometano, < 200;
- d) em hexano, em torno de 0,1-1 e
- e) em tolueno, 2-5 (1)

**Grupo químico:** Organofosforado

**Classe:** Inseticida, acaricida

**Classificação toxicológica:** Classe I (extremamente tóxico)

Fontes: ANVISA, 2002; TOMLIN, 1994; HASSAL, 1990; FARM CHEMICAL HANDBOOK, 1994 - 1995; KIDD; JAMES, 1991; LIMA et al, 2001.

O metamidofós é ainda um produto da degradação e metabólito do ingrediente ativo acefato (ANTONIUS et al, 1994; TREVISAN, 2002; HSDB, 2002).

Este composto é altamente tóxico aos mamíferos, aves e insetos. Produz desgaste dos EPI como respirador, óculos de proteção para químicos, luvas de borracha e roupa protetora impermeável (FARM CHEMICAL HANDBOOK, 1994 - 1995; KIDD; JAMES, 1991).

## 2.2 Produção e uso

A utilização dos agrotóxicos no Brasil tem trazido sérias conseqüências, tanto para o meio ambiente como para a saúde do trabalhador rural e consumidores das culturas tratadas com essas substâncias. Essas conseqüências são, na maioria das vezes, condicionadas por fatores como alta toxicidade dos produtos, uso inadequado e falta de utilização de equipamentos de proteção coletiva e individual. Esta situação é agravada pelas precárias condições socioeconômicas e culturais da grande maioria dos trabalhadores rurais, o que amplia sua vulnerabilidade frente à toxicidade dos agrotóxicos (SILVA et al, 1999; SOBREIRA; ADISSI, 2003).

O Brasil está entre os países com maior consumo de agrotóxicos no mundo, sendo estimado em 2,5 a 3 milhões de toneladas por ano (MOREIRA et al, 2002). É o maior consumidor da América Latina, com consumo estimado em 84 % da quantidade comercializada nesta região (CPDA, 2008). Atualmente ocupa o primeiro lugar em consumo no mundo (ANDEF, 2009).

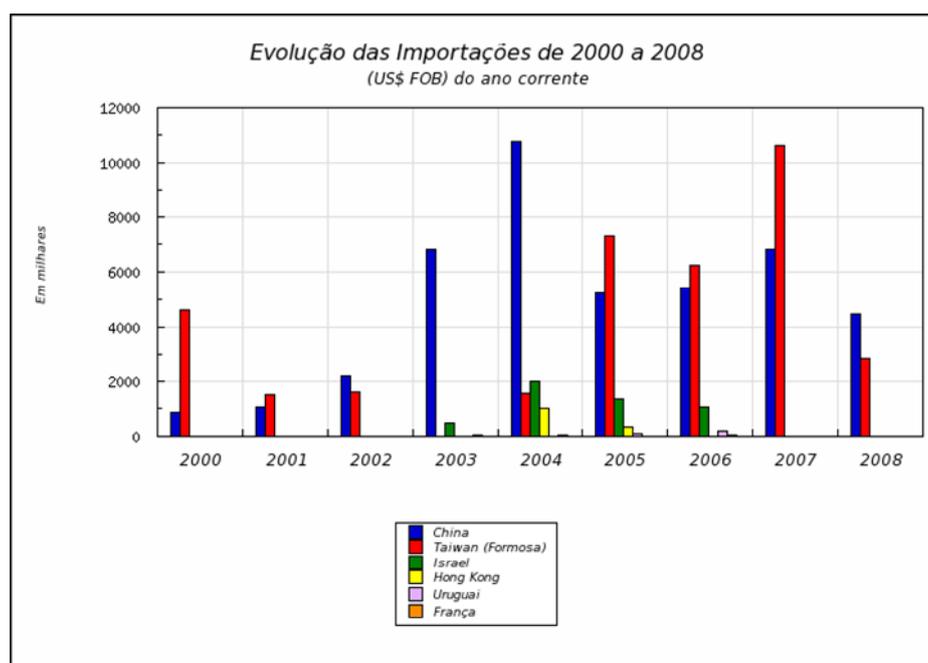
Em 2001, foi criado pela ANVISA o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA, com a finalidade de avaliar de forma contínua os níveis de resíduos de agrotóxicos em alimentos *in natura*, identificando os que excedem os limites máximos de resíduos (LMR) autorizados pela legislação ou aqueles cujo uso não é autorizado (ANVISA, 2009). Os resultados dessas avaliações são divulgados anualmente, sempre referentes às amostras coletadas no ano anterior.

Entre diversos resultados do PARA, evidencia-se a utilização de agrotóxicos não autorizados ou com restrições estabelecidas pelos órgãos reguladores. A detecção de resíduos de metamidofós em culturas para as quais o seu uso não é autorizado (alface, arroz, cenoura, mamão, morango, pimentão, repolho e uva) ou está restringido pela ANVISA (tomate de mesa) é um bom exemplo dessa situação. Resíduos de outros agrotóxicos não autorizados com sérias implicações na saúde humana, como o endossulfam em amostras de batata, mamão, morango, pimentão e uva, o dicofol em pimentão, e parationa metílica em laranja, também foram detectados.

Assim o PARA, em 2008, veio confirmar que o uso de agrotóxicos não autorizados (NA) e a presença de resíduos acima do limite máximo permitido (LMR), continuam freqüentes, sugerindo que medidas mais eficientes devem ser implementadas, corroborando a decisão da ANVISA de reavaliar uma série dessas substâncias, proposta pela RDC nº 10 de 22/02/08 (ANVISA, 2009).

O metamidofós é utilizado para o controle de insetos e outros animais tais como besouros, pulgas, minhocas, carrapatos, ácaros, lagartas, moscas e percevejos. É utilizado em culturas como algodão, batata, feijão, tomate (rasteiro) apenas para fins industriais, tabaco, pimentão, milho, brócolis, couve-flor, repolho, morango, pêsego e soja (HASSAL, 1990; BRASIL; 1997).

Na figura 2 verifica-se a evolução das importações de metamidofós no período de 2000 a 2008 em diversos países do mundo. Em 2007, a China proibiu cinco organofosforados: metamidofós, parationa etílica; parationa metílica, monocrotofós e fosfamidon. (SISCOMEX, 2008). Desde então, grande parte dos estoques da China tem sido enviada para o Brasil. Em 2008, produtores brasileiros importaram US\$ 15,8 milhões em metamidofós (Aliceweb, 2009).



**Figura 2:** Evolução das importações de metamidofós de 2000 a 2008.  
Fonte: Acriweb acesso ao SISCOMEX em 13 de agosto de 2009.

### 2.3 Relevância para a saúde pública

A partir do uso disseminado dos organofosforados, vários efeitos adversos foram descritos em populações humanas e em outras espécies animais (GALLOWAY; HANDY, 2003).

Algumas condições como idade, gênero, via e dose de exposição contribuem para uma maior suscetibilidade individual, de maneira que crianças, idosos e mulheres em idade fértil constituem grupos populacionais de especial risco aos agrotóxicos (OLIVEIRA, 2004).

Regiões onde não existe infra-estrutura suficiente para regular e controlar eficazmente o uso de agrotóxicos, como a América Latina, África e Ásia, problemas decorrentes do uso de agrotóxicos na agricultura são ainda mais graves (NUNES; RIBEIRO, 1999).

Garcia (2001) encontrou uma relação direta entre as curvas de crescimento de registro de intoxicações e as vendas de agrotóxicos. Alves Filho (2002) corrobora estes dados de relação entre a quantidade de agrotóxicos utilizada com os valores das vendas dos produtos e os índices de intoxicação.

Em relação ao contexto de vulnerabilidades quanto à exposição, há grande subnotificação de intoxicações por agrotóxicos no Brasil. Estima-se que para cada caso registrado de intoxicação por agrotóxico ocorrem outros 50 sem notificação, ou com notificação errônea (OPAS, 1996; SOBREIRA; ADISSI, 2003). Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde, 70% das intoxicações por agrotóxicos ocorridas no mundo são devidas a exposições ocupacionais (OLIVEIRA-SILVA, 2001). Segundo dados do IBGE (2004), das 84.596.294 pessoas com mais de 10 anos no Brasil, 17.733.835 (cerca de 20%) tinham o trabalho agrícola como principal ramo de atividade, revelando o grande potencial de exposição a substâncias tóxicas na população brasileira do campo.

Com relação aos óbitos registrados no SINITOX - Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas, do Ministério da Saúde e da ANVISA, (disponibilizado pela FIOCRUZ desde 1996 e uma das fontes de informação sobre notificação de casos de intoxicações por agentes químicos) os três principais agentes químicos responsáveis por intoxicações são agrotóxicos de uso agrícola, raticidas e medicamentos. O percentual de letalidade por agrotóxicos, no período de 1997 a 2001 foi em torno de 3% (SINITOX, 2003).

Com relação aos casos de intoxicação ocupacional por agrotóxicos, o percentual de intoxicações foi bem maior, em média 28% do total de casos nos anos apresentados, revelando a enorme vulnerabilidade dos trabalhadores (Tabela 1) (SINITOX, 2007).

**Tabela 1:** Distribuição do número de casos de intoxicações por agrotóxicos e letalidade no período de 1997-2007, no Brasil, segundo dados do SINITOX (Série 1997- 2007)

<b>Ano</b>	<b>Casos de intoxicação humana por agrotóxicos</b>	<b>Casos em circunstâncias ocupacionais</b>	<b>Letalidade (%)</b>
<b>2007</b>	6.179	1.514	24,70
<b>2006</b>	6.757	1.926	28,50
<b>2005</b>	6.870	1.745	25,40
<b>2004</b>	6.034	1.744	28,90
<b>2003</b>	5.945	1.748	31,40
<b>2002</b>	5.591	1.788	28,50
<b>2001</b>	5.384	1.378	25,44
<b>2000</b>	5.127	1.378	26,87
<b>1999</b>	4.674	1.499	32,07
<b>1998</b>	5.268	1.663	31,57
<b>1997</b>	5.474	1.457	26,62

Fonte: Série SINITOX, 1997 -2007 (<http://www.fiocruz.br/sinitox>).

Casos de intoxicações têm sido relatados na literatura, especialmente em decorrência de consumo de alimentos contaminados com metamidofós, em exposições ocupacionais e em tentativas de suicídio (GOH et al, 1990; LUNG, 1990; MCCONNELL; HRUSKA, 1993; CORNWALL et al, 1995; CHAN et al, 1996; GÜVEN et al, 1997; CHAN, 2001; WU et al, 2001; RECENA; PIRES; CALDAS, 2006; KHAN et al, 2008; SUMI; OODE; TANAKA, 2008).

Em levantamento bibliográfico realizado por Faria et al (2007) sobre estudos epidemiológicos de intoxicação por agrotóxicos no Brasil foram destacados diversos problemas contextuais, de vulnerabilidade e de suscetibilidade na atividade de aplicação de agrotóxicos e de modos de aplicação.

Os trabalhadores estão entre os grupos populacionais mais afetados pelos agrotóxicos, e muito disso se deve aos contextos produtivos. Um estudo realizado por Waichman (2008) em municípios do Estado do Amazonas (Manaus, Iranduba, Careiro da Várzea e Manacapuru) verificou que os agricultores vêm usando intensivamente os agrotóxicos na produção de hortaliças. O estudo concluiu que os agricultores não estavam preparados para o uso adequado desta tecnologia, ignorando os riscos dos agrotóxicos para saúde humana e para o ambiente.

Todas estas situações revelam a complexidade do contexto em que se dá a utilização dos agrotóxicos na atividade agrícola, e estão diretamente associadas à toxicidade desses compostos.

Um estudo realizado em seis propriedades produtoras de tomate em Camocim de São Félix – PE revelou que 13,2 % (n=159) dos trabalhadores entrevistados informavam ter sofrido algum tipo de intoxicação. Desses, 45 referiram mal-estar durante a aplicação de produtos, 70% das mulheres citaram problemas na gestação acarretando perda do feto e ainda 39,4% fizeram referência à perda de um filho no primeiro ano de vida (ARAÚJO, NOGUEIRA e AUGUSTO, 2000).

Em Minas Gerais, entre 1991 e 2001, um estudo realizado por Soares et al (2003) apontou o alto grau de risco de agravos à saúde a que estão sujeitos trabalhadores rurais em contato com agrotóxicos, encontrando 50% dos entrevistados (n=1064) moderadamente intoxicados.

Oliveira-Silva (2001), em estudo realizado em Nova Friburgo – RJ, identificou que 10% dos trabalhadores investigados apresentavam sinais e sintomas de intoxicação. Esse mesmo autor estimou que o número esperado de intoxicações agudas por agrotóxicos entre trabalhadores agrícolas brasileiros seria de 360.000 casos a cada ano somente no meio rural.

A exposição aos organofosforados ocorre tanto em áreas rurais quanto em zonas urbanas, o que coloca a população geral exposta aos danos causados por essas substâncias. Exemplo de exposição urbana é dado por um estudo de coorte retrospectivo que apontou o uso de organofosforados em orquidário na área urbana de Petrópolis (RJ) como responsável pela intoxicação de pelo menos 16 moradores de locais próximos ao orquidário. Esse mesmo estudo aponta que pessoas que ficaram mais tempo expostas às substâncias, por passarem mais tempo em casa, tiveram mais chance de se intoxicar (OLIVEIRA; GOMES, 1990).

No meio urbano do Estado do Rio de Janeiro foram registrados 12,6% de casos fatais de intoxicações pelo Instituto Médico Legal – IML entre os anos de 2000-2001, com evidências científicas de associação com agrotóxicos (OLIVEIRA-SILVA, 2003).

No Rio Grande do Sul, um estudo de base populacional, descreveu o perfil sócio-demográfico e a prevalência de algumas morbidades. Entre os resultados obtidos destaca-se que 75% dos trabalhadores utilizavam agrotóxicos, a maioria organofosforados (FARIA et al, 2007). A utilização caracterizou-se como intensa durante sete meses do ano (em 85% dos estabelecimentos); o tipo de agrotóxico

utilizado variou conforme a cultura e 12% dos trabalhadores que utilizavam estes produtos referiram intoxicação pelo menos uma vez na vida e a prevalência de transtornos psiquiátricos foi de 36%. Nas propriedades maiores (25 a 100 ha) e onde se utilizavam mais agrotóxicos, observou-se um aumento do risco para intoxicações. Nesse mesmo Estado, um estudo transversal sobre saúde mental de agricultores da Serra Gaúcha mostrou uma forte associação entre intoxicações por agrotóxicos e o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos menores (FARIA et al, 1999).

Pires, Caldas e Recena (2005b) estudaram no Mato Grosso do Sul, no período de 1992 a 2002, as intoxicações provocadas por agrotóxicos na microrregião de Dourados. Foi observada correlação entre a prevalência de intoxicações e de tentativas de suicídio pela exposição a agrotóxicos, principalmente nas culturas de algodão e feijão. Os municípios de Dourados, Fátima do Sul e Vicentina se apresentaram como mais críticos na microrregião de Dourados. Os inseticidas foram a principal classe de agrotóxicos envolvidos nas ocorrências, principalmente organofosforados e carbamatos, corroborando com outros estudos (SENANAYAKE; PEIRES, 1995; SAADEH et al, 1996; SOTH; HOSOKAWA, 2000; SOARES; ALMEIDA; MORO, 2003).

Vários pesquisadores brasileiros identificaram o metamidofós como um dos agrotóxicos mais consumidos no Brasil. São exemplos os casos da lavoura do Vale de São Lourenço – RJ (MOREIRA et al, 2000) e o da contaminação da água de consumo humano e açudes em Camocim de São Félix – PE (SILVA, 1999). Neste último município, as concentrações estavam acima do limite do padrão de potabilidade e o plantio de hortaliças constitui a base da economia local, onde o metamidofós é corriqueiramente utilizado (SILVA, 1999).

Intoxicações envolvendo direta ou indiretamente o metamidofós no Brasil foram analisadas mediante dados do Sistema Nacional de Agravos Notificados – SINAN por Benatto (2002). Segundo esse autor, foi registrado no período de 1996 a 2000 um total de 5.654 casos suspeitos de intoxicação, com 2.931 casos confirmados (51,43%). O número de óbitos registrado foi de 227, correspondendo a uma letalidade de 7,73% no período. As intoxicações se concentraram em indivíduos do sexo masculino entre 15 e 49 anos, sendo confirmadas pelo critério clínico epidemiológico em 60% dos casos; 61,74% das intoxicações receberam atendimento hospitalar; 29,46% atendimento ambulatorial; 7,03% atendimento domiciliar e 1,77% dos casos não receberam nenhum atendimento. Os acidentes de trabalho representaram 53,5% das circunstâncias de intoxicação, seguidos pelas tentativas de suicídio (28,2%) e intoxicações acidentais com

12,9%. Dentre os 128 princípios ativos envolvidos nas intoxicações o glifosato, o paraquat e o metamidofós foram os principais agentes tóxicos, correspondendo a 26,2% do total.

Um estudo realizado no Núcleo Rural de Vargem Bonita – DF, área de produção intensiva de hortaliças, revelou que a intoxicação por metamidofós foi encontrada em cinco (62,5%) dos oito trabalhadores que aplicavam o produto. Estes revelaram que logo após a aplicação do inseticida, e por cerca de 24h após esta, sentiam dores de cabeça, tontura e enjôo (CASTELO BRANCO, 2003). Estas mesmas queixas foram reveladas por agricultores de Nova Friburgo - RJ (BULL; HATHWAY, 1986) e do Vale do São Francisco – PE (ARAÚJO et al, 2000).

Estudo realizado por Araújo (1997) na produção de tomate industrial na região do sub-médio do vale do Rio São Francisco-PE mostrou que 11% das amostras estavam impróprias para consumo devido aos níveis de metamidofós fora dos padrões permitidos.

Nas sucessivas avaliações do programa PARA da ANVISA o metamidofós é encontrado na análise de resíduos de diversos alimentos para os quais esse produto não é permitido (tomate de mesa, morango e alface). O aumento nos resíduos de agrotóxicos encontrados em tomate, alface e morango em 2007 pode ser correlacionável com o súbito acréscimo observado na importação de agrotóxicos por países da América do Sul, incluindo o Brasil (ANVISA, 2008).

Os resultados das avaliações do PARA de 2008 (ANVISA, 2009) revelaram o uso não autorizado de metamidofós em culturas de alface, arroz, batata, feijão, laranja, mamão, morango, pimentão, repolho, tomate e uva. Trata-se de grande problema de saúde pública, pois esses alimentos são geralmente consumidos crus.

#### **2.4 Impurezas relevantes do ponto de vista toxicológico**

A Tabela 2 descreve as impurezas toxicologicamente relevantes e seus respectivos limites máximos toleráveis. Além disso, o metamidofós também é considerado como impureza relevante para os produtos técnicos de acefato e seu limite máximo tolerável é de 5,0 g/Kg.

**Tabela 2:** Principais impurezas do metamidofós de importância toxicológica e os Limites Máximos Toleráveis, de acordo com a Instrução Normativa Conjunta nº 2/2006.

Impureza	Limite Máximo
O,O-dimetil fosforamidotioato	90,0 g/kg
Homólogos N-metila	80,0 g/kg
O,O,O-trimetil fosforotioato	70,0 g/kg
O,O,S-trimetil fosforotioato	20,0 g/kg

### 3. Toxicocinética

#### 3.1 Vias de exposição e absorção

A exposição a agrotóxicos organofosforados pode ocorrer através das vias digestiva, respiratória e dérmica. Através dessas vias, o metamidofós é rapidamente absorvido em mamíferos (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1993; CHAN; CRITCHLEY, 1998; HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2003). Os agrotóxicos inibidores da colinesterase são bem absorvidos por todas as vias de exposição em decorrência da alta lipossolubilidade desses compostos. Por serem de constituição lipoprotéica, as membranas biológicas são facilmente transpostas por compostos lipossolúveis tais como os organofosforados (RISHER; MINK; STARA, 1987; FERRER, 2003).

O metamidofós tem efeitos sistêmicos, sendo altamente tóxico por todas as vias de exposição (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1993; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996; HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2003; TOMASZEWSKA; HEBERT, 2003; CALIFORNIA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2005).

Diversos fatores podem interferir na absorção dos organofosforados, modificando a toxicocinética e toxicidade desses compostos. Fatores genéticos ou comportamentais como ingestão de bebidas alcoólicas também modificam a absorção e distribuição desses compostos (CALIFORNIA DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 1999; ATHANASOPOULOS; KYRIAKIDIS; STAVROPOULOS, 2004).

### **3.2 Distribuição**

Nos mamíferos, após absorção, o metamidofós é rapidamente distribuído atingindo as maiores concentrações no fígado. O alvo primário dos compostos organofosforados é o sistema nervoso (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1993).

Os compostos organofosforados atravessam facilmente a barreira hematoencefálica, provocando manifestações neurológicas (FERRER, 2003). Também têm a capacidade de transpor facilmente a placenta (VILLENEUVE et al, 1972; ABU-QARE et al, 2000).

### **3.3 Biotransformação**

De acordo com os metabólitos encontrados em ratos expostos ao metamidofós marcado com isótopos radioativos, concluiu-se que, durante a biotransformação, esse OP sofre hidrólise e desmetilação (CROSSLEY; TUTASS, 1969).

A reação de hidrólise do metamidofós se forma a partir da quebra da ligação P-N, amônia e O,S-dimetil fosforotioato. Esse metabólito, por sua vez, sofre desmetilação, formando metil de dihidrogênio fosfato e ácido fosfórico (CROSSLEY; TUTASS, 1969). Após a exposição de ratos a uma única dose de metamidofós, foram encontrados na urina O,S-dimetil ácido fosforotióico, S- ácido fosforotióico, O-metil ácido fosfórico amido, S-metil ácido fosforamidotióico e ácido fosfórico (FAKHR et al., 1982).

A degradação do metabólito metil mercaptano foi avaliada em ratos e observou-se como produto da oxidação final sulfato e CO<sub>2</sub> no ar expirado e na urina (DERR; DRAVES, 1983). Nesse estudo os ratos foram tratados por via intraperitoneal com 1,1 µmol/l de metil mercaptano marcado com isótopo radioativo.

Alterações fisiológicas e bioquímicas associadas à gravidez também podem resultar em modificações na farmacocinética dos organofosforados. Durante a gravidez ocorre uma redução no metabolismo de diversas enzimas e proteínas relacionadas à degradação dos organofosforados, resultando em aumento da concentração e circulação desses compostos. Esses eventos resultam na inibição exacerbada da acetilcolinesterase, provocando hiperestimulação colinérgica, tanto na mãe quanto no feto (ABU-QARE et al, 2000).

A biotransformação do metamidofós foi estudada em ratos expostos a uma dose única no 18º dia de gravidez. Os animais foram sacrificados após o tratamento (10 e 30 minutos e 1; 3; 6; 12; 24 e 48 horas) e amostras de urina, fezes, ar expirado e tecido dos fetos foram analisados. O metamidofós foi o produto encontrado em maior quantidade na urina, fezes e em todos os tecidos fetos analisados. A degradação do metamidofós consistiu em reação de desaminação, formando desamino-metamidofós, seguida de desmetilação que produziu metil de dihidrogênio fosfato, metil hidrogênio fosforamidato, S-metil hidrogênio fosforamidotioato e ácido fosfórico. Os metabólitos desamino-metamidofós e S-metil hidrogênio fosforamidotioato formaram metil mercaptano que foi convertido em CO<sub>2</sub> na última etapa de degradação do metamidofós (SALAMA, 1990).

Os metabólitos do metamidofós, desamino-metamidofós, metil de dihidrogênio fosfato, metil hidrogênio fosforamidato e S-metil hidrogênio fosforamidotioato também foram encontrados em filhotes lactentes. Nesse estudo as mães receberam a dose de metamidofós logo após o parto e os animais foram sacrificados 1, 3, 6, 12, 24 e 48 h após o tratamento. O ácido fosfórico também foi encontrado no fígado, rins, útero, pulmões e plasma dos filhotes (SALAMA, 1990).

### **3.4 Excreção**

Nos mamíferos, o metamidofós é rapidamente eliminado, principalmente na forma de metabólitos ácidos pela urina e através do ar exalado como CO<sub>2</sub>, sendo eliminado em menor proporção pelas fezes (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1993; HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2003).

O metamidofós é rapidamente biotransformado via desaminação e/ou demetilação, sendo quase que completamente eliminado nas primeiras 24 horas. Também são eliminados metabólitos do metamidofós como o metil dihidrogênio fosfato, o ácido fosfórico e o O,S-dimetil hidrogênio fosforotioato (TOMASZEWSKA; HEBERT, 2003; CALIFORNIA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2005).

A seguir são apresentados os estudos de toxicocinética aportados na ANVISA.

## Estudo 1

Autor: Crossley; Tutass, 1969 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2002.

Espécie: Ratos Sprague-dawley

Número de animais: Não especificado

Doses:  $^{14}\text{C}$ Metamidofós 0,16 a 0,19mg/kg e  $^{32}\text{P}$ Metamidofós – 0,210 mg/kg

Via: Oral (entubação)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 99,5%

Os animais foram tratados com 0,5 mg/kg/dia de metamidofós duas semanas antes do teste e em seguida receberam uma única dose da substância teste radiomarcada. Fêmeas foram tratadas com a dose de 0.18 mg/animal de  $^{14}\text{C}$ -Metamidofós e machos e fêmeas foram tratados com  $^{32}\text{P}$  Metamidofós em uma única dose de 0,21 mg/animal (2,7 mCi). Para os animais tratados com  $^{14}\text{C}$  foram coletados  $\text{CO}_2$  expirado, urina e fezes para análise; para os animais tratados com  $^{32}\text{P}$  foram coletadas apenas urina e fezes. Animais foram sacrificados nos dias 6 e 9, para avaliação de órgãos e tecidos. Em ambos, o [S-methyl- $^{14}\text{C}$ ]- e [ $^{32}\text{P}$ ]- metamidofós foram rapidamente absorvidos, distribuídos, metabolizados e eliminados. Duas fases podem ser apontadas através da taxa de eliminação: o primeiro período de rápida eliminação, durando 1-3 dias, durante os quais mais do que 50% da dose administrada foi eliminada. As taxas de  $^{14}\text{C}$  indicam que mais de 34% da dose é eliminada pela respiração em 24h, indicando que o metamidofós está sujeito uma etapa de rápido metabolismo envolvendo pelo menos S-desmetilação. Na avaliação do  $^{32}\text{P}$ , também se observa um período de rápida eliminação, em que cerca de 70% da dose é eliminada em 24h, predominantemente através da urina. As fezes continham pequenas quantidades que foram eliminadas por mais de 28 dias. No segundo período a eliminação ocorre mais lentamente, em que 1-2% da dose foi eliminada diariamente. Ao avaliar as taxas no período de 5 dias após a exposição, apenas 50% da dose administrada foi recuperada (39% como  $^{14}\text{CO}_2$ ) e o resto predominantemente na urina). As doses restantes nos animais após a primeira fase, de rápido metabolismo e eliminação consistiram em vestígios de metamidofós, seus metabólitos e componentes naturais do organismo que continham as substâncias radiomarcadas, derivadas da biotransformação completa do metamidofós. A distribuição da radioatividade é relativamente uniforme em todo corpo, embora alguns órgãos apresentem valores mais elevados como: fígado, pulmão e rins, sendo locais de ativo metabolismo e eliminação. O metabolismo do metamidofós é hidrolítico, envolve uma

primeira etapa de quebra do P-N, para a forma O,S-dimetil fosforotioato. Isto é seguido de duas desmetilações para gerar, respectivamente, metil dihidrogênio fosfato e ácido fosfórico, sendo a urina a via de eliminação predominante para estes compostos.

#### **4. Avaliação Toxicológica**

Em geral os efeitos agudos dos OP surgem poucas horas após a exposição. O quadro clínico dessas intoxicações pode variar quanto à gravidade, rapidez de instalação e/ou duração dos sintomas, na dependência da via de absorção e da magnitude da exposição (ECOBICHON, 2001; KAMANYIRE; KARALLIEDDE, 2004).

Os distúrbios neurocomportamentais são os mais frequentemente observados em indivíduos cronicamente intoxicados. Os sintomas do tipo neuro-comportamentais em geral são insônia, sonambulismo, sono excessivo, ansiedade, retardo de reações, dificuldade de concentração e uma variedade de seqüelas neuropsiquiátricas, labilidade emocional, distúrbios de linguagem, apatia, irritabilidade, alucinações, delírios, tremores, reações esquizofrênicas, alterações no EEG, neuropatia periférica, parestesias, hiporreflexia, deficiência na coordenação neuro-motora e depressão (KLAASSEN, 1991; ALMEIDA; SOARES, 1992; BRASIL, 1997; ECOBICHON, 2001). A maioria desses sintomas muitas vezes deixa de ser relacionada com a exposição aos agrotóxicos, sendo confundidos com agravos à saúde por outras causas.

##### **4.1 Toxicidade aguda**

Os mecanismos de ação dos organofosforados e sua toxicidade aguda são bem conhecidos e caracterizam-se pelos efeitos muscarínicos (ou colinérgicos), nicotínicos e neurológicos. O principal efeito da exposição aguda se relaciona a inibição da enzima acetilcolinesterase e seu conseqüente acúmulo nas fendas sinápticas (ECOBICHON, 2001).

Conforme Kamanyire e Karalliedde (2004) embora a inibição da acetilcolinesterase seja o principal mecanismo na toxicologia dos organofosforados, a suscetibilidade individual, a inibição de outros sistemas enzimáticos e os efeitos diretos dos organofosforados nos tecidos também são importantes. As conseqüências da inibição de outros sistemas enzimáticos por compostos organofosforados ainda são incertos, entretanto já se tem conhecimento do comprometimento de carboxiesterases

tissulares no soro, fígado, intestino e outros tecidos. As carboxiesterases parecem contribuir para a degradação metabólica dos organofosforados e a inibição dessas enzimas contribui para potencializar sua toxicidade.

Esses autores citam alguns efeitos já evidenciados em animais e que também podem acometer humanos:

- Inativação por fosforilação de outra beta esterase,
- Alteração da recomposição de neurotransmissores, como por exemplo o GABA e glutamato;
- Aumento do número de receptores GABA e dopaminérgicos,
- Atuação como agonista dos receptores muscarínicos M2/M4,
- Inibição de enzimas mitocondriais e da geração de ATP,
- Indução a degranulação celular, provavelmente causando a liberação de histamina e compostos histamínicos,
- Inibição de óxido nítrico,
- Interferência com o surfactante nos pulmões,
- Inibição da fosfolipase A2,
- Interferência na imunidade celular e humoral, por exemplo, na função dos linfócitos T.

Os sinais e sintomas das intoxicações agudas por organofosforados variam em relação ao tipo de ação e ao órgão alvo. No Sistema Nervoso Autônomo, os efeitos muscarínicos ocorrem no aparelho digestivo, com perda de apetite, náuseas, vômitos, dores abdominais, diarréia e defecação involuntária; no aparelho respiratório: rinorréia, hiperemia de vias aéreas superiores, broncoespasmo e, aumento da secreção brônquica, E edema pulmonar; no sistema circulatório: bradicardia, bloqueio aurículo-ventricular; no sistema ocular: lacrimejamento, dor ocular, congestão da conjuntiva, distúrbio de visão, espasmo ciliar, dor no supercílio e miose; no aparelho urinário: diurese freqüente e involuntária; nas glândulas exócrinas: transpiração excessiva, salivação extrema. Outras alterações observadas são: micção involuntária, sudorese, ereção peniana, bradicardia e hipotensão (ECOBICHON, 2001).

Na síndrome nicotínica, o quadro clínico se constitui geralmente pela presença de fadiga e fraqueza generalizada, câibras, contrações involuntárias, fasciculações disseminadas e paralisia muscular, incluindo os músculos respiratórios, e hipertensão arterial transitória (ECOBICHON, 2001).

A ação no Sistema Nervoso Central (SNC) leva aos sintomas de distúrbios do sono, dificuldade de concentração, comprometimento da memória, ansiedade, agitação, tremores, disartria, confusão, ataxia, fala indistinta, perda dos reflexos, convulsões generalizadas, torpor, depressão respiratória, paralisia respiratória central com respiração de Cheyne-Stokes e coma. Observa-se também ação vasomotora em outros centros cardiovasculares e no bulbo que provocam hipotensão, podendo evoluir para coma e morte (KLAASSEN, 1991; BRASIL, 1997; ECOBICHON, 2001).

A toxicidade aguda do ingrediente ativo metamidofós foi avaliada com base nos estudos encaminhados à ANVISA, com o objetivo de suportar os registros dos produtos técnicos e formulados à base de metamidofós. Os estudos foram conduzidos em animais experimentais através da exposição pelas vias oral, inalatória, dérmica e ocular. Os dados de doses letais (oral e dérmica) e concentrações letais estão sumarizados na Tabela 3.

**Tabela 3:** Estudos de Toxicidade aguda do ingrediente ativo metamidofós.

Espécie	Linhagem	Via	Pureza (%)	DL50 (mg/kg) ou CL50 (mg/l)	Referência
Rato	-	Oral	-	29,9 <sup>1</sup>	Dossiê de registro submetido à ANVISA Kimmerle & Lorke (1967)
Rato	-	Oral	70	15,75*	Dossiê de registro submetido à ANVISA Bautista <i>et al</i> (1993)
Rato	-	Oral	70	♀ - 18,7 ± 1,4	Dossiê de registro submetido à ANVISA Godinho; Vassilieff (1994a)
Rato	-	Oral	73	16	Dossiê de registro submetido à ANVISA (Vargas; Rodrigues (1994a))
Camundongo	-	Oral	-	29,6 <sup>2</sup> (26,7– 32,9)	Dossiê de registro submetido à ANVISA Kimmerle & Lorke (1967)
Camundongo	-	Oral	-	♂ - 23	Mihail, F. (1981) <i>apud</i> IPCS (2002)
Camundongo	Swiss-Webster	Oral	95	♀ - 16	Cavalli, R.D. & Hallesy, D.W. (1968a) <i>apud</i> IPCS (2002)
Camundongo	Kunming	Oral	90,4	♂ - 12 ♀ - 11	Guo <i>et al</i> (1986a) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Wistar	Oral	90,4	♂ - 23 ♀ - 14	Guo <i>et al</i> (1986a) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Wistar	Oral	95,3 (±) racêmica	♂ - 16	Flucke, W. (1990a) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Wistar	Oral	98,5 (+) enantiômero	♂ - 14	Flucke, W. (1990a) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Wistar	Oral	97,8 (-) enantiômero	♂ - 16	Flucke, W. (1990a) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Sprague-Dawley	Oral	95	♂ - 16 ♀ - 13	Cavalli, R.D. & Hallesy, D.W. (1968b) <i>apud</i> IPCS (2002)
Coelho	-	Oral	90	20	Kimmerle, G. (1967) <i>apud</i> IPCS (2002)
Porquinho da Índia	-	Oral	90	40	Kimmerle, G. (1967) <i>apud</i> IPCS (2002)
Gato	-	Oral	90	20	Kimmerle, G. (1967) <i>apud</i> IPCS (2002)
Cão	-	Oral	90	20	Kimmerle, G. (1967) <i>apud</i> IPCS (2002)

Galinha	White Leghorn	Oral	95,3 (±) racêmica	♀ – 25	Flucke, W. (1990b) <i>apud</i> IPCS (2002)
Galinha	White Leghorn	Oral	98,5 (+) enantiômero	♀ – 43	Flucke, W. (1990b) <i>apud</i> IPCS (2002)
Galinha	White Leghorn	Oral	96,5 (-) enantiômero	♀ – 82	Flucke, W. (1990b) <i>apud</i> IPCS (2002)
Galinha	White Leghorn	Oral	74	♀ – 30	Kruckenber, S.M. <i>et al.</i> (1979) <i>apud</i> IPCS (2002)
Galinha	White Leghorn	Oral	72,5	♀ – 48	Pauluhn, J. & Kaliner, G. (1984) <i>apud</i> IPCS (2002)
Galinha	White Leghorn	Oral	74	♀ – 50	Flucke, W. (1985) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Wistar (albino)	Dérmica	64,5	♂ – 162,0 ♀ – 108,0	Dossiê de registro submetido à ANVISA - Heimann (1981)
Rato	-	Dérmica	70 <sup>2</sup>	65,0 ± 10,3	Dossiê de registro submetido à ANVISA Moraes (1994)
Rato	-	Dérmica	73	170	Dossiê de registro submetido à ANVISA Vargas; Rodrigues (1994b)
Rato	Wistar	Dérmica	64,5	♂ – 160 ♀ – 110	Heimann, K.G. & Nash, G. (1981) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Sherman	Dérmica	-	♂ – 180 ♀ – 150	Gaines, T.B. & Linder, R.E. (1986) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Wistar	Dérmica	90,4	♂ – 360 ♀ – 380	Guo, L. J. <i>et al.</i> (1986a) <i>apud</i> IPCS (2002)
Coelho	New Zealand White	Dérmica	75	♂ – 120	Cavalli, R.D. & Hallesy, D.W. (1968c) <i>apud</i> IPCS (2002)
Coelho	New Zealand White	Dérmica	73,2	♂ – 120 ♀ – 69	Hixson, E.J. (1980a) ) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	-	Inalatória (4 horas de exposição)	73	0,43	Dossiê de registro submetido à ANVISA Navarro; Machado (1995)
Rato	-	Inalatória (4 horas de exposição)	-	0,162	Dossiê de registro submetido à ANVISA Kimmerle & Lorke (1967)
Rato	-	Inalatória	90	213 mg/m <sup>3</sup>	Dossiê de registro submetido à ANVISA Pauluhn (1987)
Rato	Wistar	Inalatória (4 horas de exposição)	72	6,88 ± 1,7mg/L	Dossiê de registro submetido à ANVISA Nascimento; Vassilieff (1999)
Rato	Sprague-Dawley	Inalatória (1 horas de exposição)	75,1	♂ – 360 ♀ – 240	Sangha, G.K. (1983) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Sprague-Dawley	Inalatória (4 horas de exposição)	70,5	♂ – 63 ♀ – 77	Sangha, G.K. (1984) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Wistar	Inalatória (4 horas de exposição)	75,7	♂ e ♀ – 210	Pauluhn, J. (1987) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	-	Intraperitoneal	90	♂ – 21 ♀ – 26	Kimmerle, G. (1967) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Sprague-Dawley	Intraperitoneal	-	♀ – 8	Crawford, C.R. & Anderson, R.H. (1973) <i>apud</i> IPCS (2002)
Rato	Holtzman	Intraperitoneal	98	♂ – 15	Robinson, C.P. & Beiergrohlein, D. (1980) <i>apud</i> IPCS (2002)
Camundongo	-	Intraperitoneal	-	5	Kao, T.S. & Fukuto, T.R. (1977) <i>apud</i> IPCS (2002)
Galinha	White Leghorn	Intraperitoneal	90	♀ – 10	Kimmerle, G. (1967) <i>apud</i> IPCS (2002)

\*Na dose 15,75 mg/kg, 5 de 6 animais machos e 4 de 6 fêmeas, testados, foram a óbito.

<sup>1</sup> – Intervalo de segurança: Limite inferior – 26,9 mg/Kg de peso; Limite superior: 33,2 mg/Kg de peso.

<sup>2</sup> – Intervalo de segurança: Limite inferior – 26,7mg/Kg de peso; Limite superior: 32,9 mg/Kg de peso.

<sup>3</sup> – Produto diluído em solução aquosa a 2,5%

Os estudos agudos conduzidos com o metamidofós mostraram elevada toxicidade pelas vias oral, dérmica e inalatória. As principais alterações observadas nos estudos de DL<sub>50</sub> oral foram: sialorréia, piloereção, tremores, convulsões, depressão

aguda na atividade colinesterásica, exoftalmia com aumento de secreção e sangramento ocular e nasal, lacrimejamento, hiperreflexia, convulsão clônica, entre outras.

Ratos expostos pela via inalatória apresentaram, durante o período de exposição, as seguintes alterações: tremores, apatia, dispnéia (moderada a intensa), diminuição da mobilidade, opacidade da córnea, dificuldades respiratórias, exoftalmia, hiperreflexia, sialorréia, aumento de secreção nasal e ocular. A necropsia revelou ainda os seguintes achados: pulmões distendidos e congestos, corrimento nasal seroso, pulmões levemente hiperêmico e com áreas hemorrágicas, edema pulmonar, pelve renal avermelhada, fígado, baço e rins pálidos, pontos hemorrágicos e focos de úlceras no estômago, mucosa intestinal avermelhada e com presença de sangue no lúmen.

Animais expostos ao metamidofós pela via dérmica apresentaram os seguintes sinais clínicos: síndrome colinérgica com tremores musculares generalizados, salivação, exoftalmia, motilidade parcialmente reduzida, apnéia e dispnéia intensa, ataques convulsivos, miose, taquipnéia, redução da atividade geral e da vivacidade, fasciculação, hiperreflexia, convulsão clônica, sialorréia, epistaxe, sangramento ocular bilateral, incoordenação motora, lacrimejamento com lágrimas sanguinolentas e edema nas extremidades (somente em machos). Dados da necropsia dos animais mortos durante o estudo revelaram: pulmões distendidos (provável edema pulmonar), congestão hepática, presença de muco escuro no intestino delgado, úlceras estomacais, alterações estruturais no fígado, aspecto de palidez no baço e rins. Em alguns machos foi observado intenso rubor e endurecimento dos testículos e epidídimos.

Com relação à via ocular, o metamidofós foi altamente irritante para os olhos de coelhos. Os testes de sensibilização dérmica foram considerados negativos. E os estudos de irritação dérmica mostraram que o metamidofós foi levemente irritante para a pele de coelhos.

## **4.2 Toxicidade subcrônica**

Após exposições agudas ou crônicas a organofosforados podem ser desencadeadas três tipos de seqüelas neurológicas: a síndrome intermediária, a polineuropatia retardada e efeitos neurocomportamentais (FALK et al, 1999; RAY, 1998; RAY; RICHARDS, 2001).

A síndrome intermediária tem sido descrita como uma complicação tardia de casos de intoxicação aguda. O sintoma principal é uma paralisia que afeta

principalmente músculos flexores do pescoço, músculos proximais dos membros superiores ou inferiores e músculos respiratórios. Acontece também diarreia intensa, com perda severa de potássio, agravando o quadro de intoxicação. Esta síndrome apresenta risco de morte, devido à depressão respiratória associada. A síndrome intermediária é a principal causa de morte por falência respiratória decorrente de intoxicação aguda por organofosforados. (JAYAWARDANE et al, 2008; FALK et al, 1999).

Embora Ray (1998) refira que essa síndrome apareça entre 5 e 18 dias, outros autores têm demonstrado que o quadro se instala predominantemente num período em torno de 24 a 96 horas após a intoxicação (SENANAYAKE; KARALLIEDDE,1987; JAYAWARDANE et al, 2008; KAMANYIRE; KARALLIEDDE,2004).

Senanayake e Karalliedde (1987) avaliaram 10 indivíduos que desenvolveram a síndrome após um quadro bem definido de efeitos colinérgicos de intoxicação aguda. Os autores observaram que a síndrome evoluiu com paralisia de músculos proximais, flexores cervicais, nervos motores cranianos e respiratórios, num período entre 24 a 96 horas após a intoxicação. Os sintomas de paralisia evoluíram por até 18 dias. A eletromiografia evidenciou redução da força muscular em estimulações de baixa frequência sugerindo uma deficiência pós-sináptica.

JAYAWARDANE et al (2008), consideram essa síndrome como sendo parte da intoxicação aguda, referindo que ela pode aparecer em um período que varia desde ANTES DE 24 horas até superior a 96 horas após a exposição. Esse estudo envolveu a avaliação eletrofisiológica de 78 indivíduos com sintomas definidos de intoxicação aguda por OP e evidenciou que o diagnóstico da síndrome intermediária pode se dar a partir do comprometimento de pelo menos e dos seguintes grupos musculares: flexores cervicais, proximais dos membros superiores ou inferiores, extraocular, facial. Nesse estudo, a maioria dos casos evoluiu para o quadro de síndrome intermediária 24 horas após a exposição. O desenvolvimento de um padrão decrescente da força muscular, especialmente dos flexores do pescoço e proximais dos membros, indica que a falência respiratória é iminente.

Segundo Ray (1998), a polineuropatia retardada decorre do comprometimento dos axônios distais dos neurônios sensoriais, motores e autonômicos, bem como do SNC. Kamanyire e Karalliedde (2004) referem que o quadro decorre do comprometimento de longos nervos, tratos nervosos ou do sistema nervoso como um todo, causando fraqueza muscular periférica que acomete membros superiores e

inferiores, com um variável grau de redução da capacidade sensorial. Essa incapacidade pode se tornar permanente, entretanto, há casos de recomposição. Conforme Ray (1998) o quadro evolui com fraqueza progressiva e ataxia das pernas, podendo evoluir até uma paralisia flácida. Enquanto para esse autor esse quadro tende a aparecer cerca de 10 a 14 dias após a exposição, Kamanyire e Karalliedde (2004) consideram um período entre 7 a 21 dias após a exposição ao OP.

Os efeitos neurocomportamentais são considerados efeitos subagudos resultantes de intoxicação aguda, ou de exposições contínuas a baixos níveis de agrotóxicos organofosforados, que sofrem acumulação. Eles se apresentam em muitos casos como efeitos crônicos sobre o sistema nervoso central, especialmente do tipo neurocomportamentais como insônia ou sono conturbado, ansiedade, retardo das reações, dificuldade de concentração e uma variedade de seqüelas psiquiátricas: apatia, irritabilidade, depressão e esquizofrenia. Os principais sintomas compreendem perda de concentração, dificuldade de raciocínio e, especialmente, falhas de memória. Quadros de depressão são freqüentes (FALK et al, 1999).

A exposição crônica a este tipo de produto também está relacionada, entre outros, ao câncer, efeitos teratogênicos, neuropatias periféricas tardias e toxicidade reprodutiva (CALDAS; SOUZA, 2000).

Conforme destacam Ray e Richards (2001), é importante distinguir o potencial de efeitos decorrentes de exposição a baixas doses, a altos níveis que levam a crises colinérgicas agudas, a síndrome intermediária e a polineuropatia retardada. Estas outras formas de toxicidade a altas doses são bem caracterizadas. Assim, o grau de inibição requerido para levar à polineuropatia após exposições repetidas é apenas discretamente menor do que aquela que ocorre após uma única exposição. Além do mais, a síndrome intermediária é detectada após a recuperação clínica de um quadro colinérgico severo, não havendo registros de seu surgimento após exposição a níveis moderados.

Exposições a baixas doses de OP são definidas como exposições que levam a sintomas colinérgicos como lacrimejamento, salivação, miose ou fasciculação muscular. A exposição a níveis intermediários representa um problema quanto à sua identificação, na medida em que os sinais colinérgicos, ambíguos nas doses elevadas, ficam inespecíficos devido à dose ser reduzida. Isso significa que o diagnóstico de intoxicações leves fica incerto, exceto pela avaliação do nível de inibição da acetilcolinesterase eritrocitária ou plasmática.

Ray e Richards (2001) referem que vários estudos têm demonstrado efeitos biológicos decorrentes de exposição a baixas doses, mas que não foram ainda completamente elucidados. Entretanto, dois efeitos relacionados a consequências da inibição da acetilcolinesterase foram observados: tolerância colinérgica e degeneração de placa motora.

O primeiro, relacionado à tolerância colinérgica que ocorre em resposta a exposição prolongada a OPs. Este provavelmente resulta de *down regulation* tanto da liberação de acetilcolina quanto da sensibilidade dos receptores (um efeito controlador negativo em que há redução do número de receptores celulares). Para produzir essa tolerância agudamente a dose do OP deve estar acima do limite necessário para produzir sinais colinérgicos, porém com uma dose subcrônica, em que a tolerância possa ser produzida em baixas doses, ainda insuficiente para levar a sinais clínicos.

O segundo, decorrente da ação tóxica sobre a placa motora muscular, parece estar relacionada a excitotoxicidade local, em resposta a despolarização prolongada, levando ao acúmulo de acetilcolina na placa motora. Para os OPs, o limiar de dose está acima daquele necessário para produzir fasciculação muscular.

Outras sequelas decorrentes da exposição ocupacional à OP têm sido demonstradas em diversos estudos: Hermanowicz e Kossman (1984) relataram casos de infecção respiratória em trabalhadores expostos a OP que evoluíram com diminuição da colinesterase plasmática e eritrocitária; Murray, Wiseman e Dawling (1992) registraram casos de sintomas compatíveis com infecção viral por influenza; complicações cardíacas têm sido associadas a intoxicações por OP, em decorrência dos quadros de hipotensão, hipertensão, arritmias e até quadro de cardiomiopatia congestiva seguida de exposição prolongada a OP (KISS; FAZEKAS, 1979). Karalliedde e Senanayake (1989) referem quadros de diarreia profusa em indivíduos intoxicados por ingestão de OP; e, Hantson, Hainaut e Vander Stappen (1996), registram presença de quadro febril prolongado, e destaca caso de paciente que manifestou termorregulação bifásica logo após a exposição seguida de hipertermia persistente por 48 horas que surgiu após 18 dias.

Toxicidade de curta duração em estudos experimentais em animais de laboratório de do metamidofós foi avaliada em 5 estudos aportados à ANVISA, conduzidos com cães e ratos: o NOEL para cães foi determinado em 0,038 mg/kg/dia e para ratos foi de 0,2 mg/kg/dia, ambos utilizando como *endpoint* a atividade da colinesterase.

Dos cinco estudos apresentados, 3 testes foram conduzidos para avaliar especificamente a atividade da colinesterase em animais considerando diferentes etapas do desenvolvimento, redução significativa na atividade da colinesterase foi observada em baixas doses de metamidofós. Nestes estudos não foram determinados o NOEL, visto que praticamente todas as doses mostraram-se com efeitos para atividade da colinesterase.

### **Estudo 1**

Autor: Löser (1970a)

Espécie: Cães Beagles

Número de animais: 2 animais/sexo/dose e 3 animais/sexo/controle

Doses: 1,5; 5,0 e 15 ppm (0, 0,038, 0,13 e 0,38 mg/kg)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não declarada

Os animais, divididos em grupos de ambos os sexos para cada dose, receberam metamidofós nas concentrações de 1,5; 5,0 e 15 ppm através da dieta, durante 3 meses. Não foram observadas alterações comportamentais nos animais tratados com a substância teste. O ganho de peso nos animais tratados apresentou diferenças entre os grupos tratados, mas não foi dose-dependente, cabendo destacar que os animais que receberam a dose de 5ppm apresentaram maior ganho de peso que os demais, principalmente as fêmeas. Nenhum animal dos grupos dosados morreu durante os três meses de estudo. Com relação aos parâmetros hematológicos avaliados não ocorreu variação dose-relacionada entre os grupos. A atividade da colinesterase foi diminuída nas doses de 5 e 15 ppm, para ambos os sexos, sendo mais evidente no eritrócito que no plasma. Na avaliação do peso absoluto dos órgãos dos animais durante a necropsia observou-se diferenças entre animais tratados e não tratados para tireóide, coração, pulmão, pâncreas, fígado, rins, adrenais, baço, testículos e ovários, mas quando essa avaliação é realizada considerando-se os pesos relativos dos órgãos, não ocorrem diferenças significativas entre animais tratados e o controle. O diretor do estudo concluiu que a dose de 1,5 ppm não resulta em alteração na atividade da colinesterase e que as doses de 5 e 15ppm provocam inibição da atividade da enzima no plasma e de eritrócitos. O NOEL pode ser considerado como sendo 1,5 ppm (0,038 mg/kg/dia) em razão da alteração na atividade da colinesterase.

### **Estudo 2**

Autor: Löser (1970b)

Espécie: Ratos SPF Wistar

Número de animais: 15 animais/sexo/dose e 30 animais/sexo/controle

Doses: 2; 6; 20 e 60 ppm (0,2, 0,6, 2 e 6 mg/kg)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não declarada

Os animais, divididos em grupos de ambos os sexos para cada dose, receberam metamidofós nas concentrações de 2; 6; 20 e 60 ppm através da dieta, durante 3 meses. Os animais dos grupos de 2, 6 e 20 não diferiram do controle. No grupo tratado com 60 ppm os animais apresentaram sinais de enfraquecimento e apatia. Quanto à alimentação os machos na dose de 60 ppm apresentam um consumo de alimento levemente menor que fêmeas na mesma dose e que o controle. Nesta mesma dose também foram observados menores ganhos de peso em especial para os machos. Três animais morreram durante o estudo, uma fêmea na dose de 6 ppm e um macho e uma fêmea na dose de 60 ppm (estes óbitos ocorreram acidentalmente durante a coleta de mostras de sangue). Nas doses de 20 e 60 ppm houve a diminuição da concentração de bilirrubina em machos. Nos exames hematológicos foram avaliados 5 animais em cada dose, após 4 semanas da primeira exposição e ao término do estudo. Não houve avaliação antes de iniciar o tratamento. Nas análises realizadas após 4 semanas não houve alteração dose-relacionada entre os animais testados e controle. Nas avaliações de 3 meses as alterações observadas, conforme diretor do estudo encontram-se dentro da faixa normal para os animais. Para a atividade da colinesterase observou-se que na dose de 2 ppm não ocorreu depressão da atividade, nas demais doses foram observadas alterações em ambos os sexos, sendo o eritrócito mais afetado que o plasma. Exames das funções do fígado não demonstraram efeitos nocivos em nenhuma das doses testadas, ficando os parâmetros avaliados dentro dos valores de referência, assim como nas avaliações de urina e funções dos rins. Durante a necropsia o peso dos órgãos dos animais tratados, na dose de 60 ppm, foi observada redução do tamanho do timo, fígado, baço, adrenal e gônadas quando comparados com o grupo controle. Quando avaliados os pesos relativos dos órgãos, em machos não houve alteração significativa, enquanto que em fêmeas o timo, permaneceu significativamente menor e o coração significativamente maior. O NOEL estabelecido foi de 2,0 ppm (0,2 mg/kg).

### ***Estudo 3***

Autor: Klaus (2005a)

Espécie: Ratos linhagem Wistar

Número de animais: 48, distribuídos em 8 grupos (6/sexo)

Doses: 0, 0,15; 0,3 e 6,0 mg/Kg p.c.

Via: Gavagem

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não declarada

Estudo realizado com a finalidade de avaliação da atividade da colinesterase após exposição ao metamidofós em animais adultos. Os animais receberam uma dose diária de metamidofós, em concentrações distribuídas por grupo, durante o período de 11 dias. As amostras foram coletadas 2h após a última dose administrada do produto e levadas para análise colorimétrica para determinar a concentração da colinesterase (ChE) no plasma, eritrócitos e cérebro. A queda na concentração da ChE foi observadas em todas as doses do produto, destacando-se a de 6,0 mg/kg. Os valores de referência adotados foram de acordo com o controle negativo, que por sua vez receberam somente o veículo de administração. Resultados obtidos com a dose de 6,0 mg/kg:

Diminuição (%) para

Cérebro: 55♂, 46♀

Plasma: 61♂, 60♀

Eritrócitos: 55♂, 48♀

De acordo com o diretor do estudo, há uma relevância estatística nos valores de concentrações na dose de 0,3mg/kg para os machos tanto para acetilconesterase cerebral, plasmática e eritrocitária, e nas fêmeas há relevância para ChE no plasma.

#### **Estudo 4**

Autor: Klaus (2005b)

Espécie: Ratos linhagem Wistar

Número de animais: 13 animais fêmeas

Doses: 1, 10, e 30 ppm ou 0.101, 1.028 e 3.117 mg/kg p.c./dia

Via: oral (dieta)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não declarada

Estudo realizado para avaliar o comportamento da colinesterase em fêmeas e neonatos expostos a metamidofós. As fêmeas, previamente inseminadas, foram expostas a doses de metamidofós em pó através da dieta, durante o período de 21 dias. As amostras foram coletas no 21º dia após o início do tratamento, tanto nas fêmeas quanto nos neonatos que nasceram por meio de cesariana. Realizou-se análise para determinar a

atividade da ChE no plasma, nos eritrócitos e no cérebro. No plasma a inibição da atividade da ChE foi significativa após a administração de todas as doses, enquanto nos eritrócitos e cérebro a redução foi significativa nas doses de 10 e 30 ppm. Em todos os casos a dose 30 ppm destacou-se. Os valores utilizados como referência para o teste foram os observados no grupo controle.

Os resultados (em %) referentes à inibição em relação à dose de 30 ppm, foram:

Plasma: 86 mães, 68 ninhada;

Eritrócitos: 73 mães, 71 ninhada;

Cérebro: 79 mães, 51 ninhada.

Inibição em % para a dose 10 ppm:

Plasma: 64 mães, 41 ninhada;

Eritrócitos: 49 mães, 44 ninhada;

Cérebro: 55 mães, 31 ninhada.

A relevância toxicológica para a menor dose, 1 ppm, permaneceu questionável nas análises de eritrócitos e cérebro.

## **Estudo 5**

Autor: Lawrenz (2005)

Espécie: Ratos linhagem Wistar

Número de animais: 48 animais (12/sexo/dose)

Doses: 0, 0.3, 0.6 e 1.2 mg/kg

Via: Gavagem

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não declarada

Estudo realizado para avaliar o comportamento da colinesterase em animais expostos a uma dose aguda de metamidofós. As amostras foram coletadas 2 horas após a exposição onde uma única dose dada em cada animal. Posteriormente, as amostras foram levadas para análise para se determinar a concentração de colinesterase nos eritrócitos, no plasma e no cérebro. O grupo controle recebeu apenas o veículo de administração e suas taxas de atividade colinesterasica foram utilizadas como referência. Observou-se queda na atividade da ChE em todas as doses e em todos os meios observados no teste, sendo que a dose de 1.2 mg/kg mostrou níveis acentuados de queda.

Inibição em % para a dose 1.2 mg/kg:

Plasma: 72 ♂, 71 ♀;

Eritrócitos: 69♂, 70 ♀;

Cérebro: 34 ♂, 49 ♀.

As demais doses também mostraram relevância toxicológica em termos de inibição da ChE.

Levantamento sobre a toxicidade sub-crônica do metamidofós na base de dados do IPCS (2002) pode ser observado na Tabela 4.

**Tabela 4:** Estudos de toxicidade subcrônica do metamidofós

Espécie/Número	Período/ Via	Dose (mg/kg peso corporal/dia)	Efeitos	NOAEL	Referência
Camundongos Kunming / 22 grupos	20 dias / oral	1/5 da DL50	Nenhuma morte e não ocorreu acumulação do composto		Guo et al, 1986a apud IPCS, 2002
Camundongos Suíços / 4 grupos de 20 ♂ e 20 ♀	2 semanas / na dieta	0, 25, 50 ou 100 ppm	Todos os animais tratados apresentaram perda de peso corporal, e aqueles de 100ppm apresentaram tremores precoces. Foi observada uma diminuição dose-dependente da atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária. A colinesterase plasmática foi marcadamente inibida ( $\leq 75\%$ ), mas o nível foi comparável com o valor do controle após o período de recuperação. A recuperação da atividade da colinesterase eritrocitária foi mais lenta que a plasmática e não estava completa dentro de 2 semanas.		Zayed et al, 1984 apud IPCS, 2002
Ratos Fischer 344 / grupos de 25 ♂ e 25 ♀	56 dias / na dieta	0, 0,5, 1, 2 ou 4 ppm, (0, 0,03, 0,07, 0,13 e 0,24 mg/kg/dia)	4 ppm: a atividade da colinesterase cerebral, plasmática e eritrocitária diminuiu em ambos os sexos.	2 ppm	Christenson, 1991 apud IPCS, 2002
Ratos Wistar SPF / grupos de 15 ♂ e 15 ♀	3 meses / na dieta	0, 2, 6, 20 ou 60 ppm (0, 0,2, 0,6, 2 e 6 mg/kg)	60 ppm: crescimento diminuído em ambos os sexos; 20 e 60 ppm: diminuição da concentração de bilirrubina em machos; em doses $\geq 6$ ppm: a atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária estava diminuída; 60 ppm: redução do tamanho do timo, fígado, baço, adrenal e gônadas.	2 ppm	Löser 1970a; Gröning, 1976 apud IPCS, 2002
Cães / grupos de 3 ♂ e 3 ♀	90 dias / oral (cápsula)	0, 0,025, 0,075 ou 0,25 mg/kg	Atividade colinesterasica normal	Não foi identificado	Carlson et al, 1969 apud IPCS, 2002
Cães / grupos de 3 ♂ e 3 ♀	90 dias / oral (cápsula)	0, 0,025, 0,075 ou 0,25 mg/kg	Redução do ganho de peso e da ingestão de alimentos na maior dose; 0,25 mg/kg: depressão da atividade da colinesterase eritrocitária.	0,75 mg/kg	Lindberg et al, 1970 apud IPCS, 2002
Cães / grupos de 2 ♂ e 2 ♀	21-28 dias / oral	0 a 0,6 mg/kg	0,125 mg/kg/dia: depressão da atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária em machos 0,3 mg/kg/dia: depressão da atividade da colinesterase plasmática em fêmeas 0,2 mg/kg/dia: depressão da atividade da colinesterase eritrocitária em fêmeas		Greco et al, 1971 apud IPCS, 2002
Cães beagle / grupos de 2 ♂ e 2 ♀	90 dias	0, 1,5, 5 ou 15 ppm (0, 0,038, 0,13 e 0,38 mg/kg)	5 e 15 ppm: inibição da atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária em ambos os sexos.	1,5 ppm	Löser, 1970b; Gröning; Lorke, 1976 apud IPCS, 2002
Cães beagle / grupos de 6 ♂ e 6 ♀	1 ano	0, 2, 8 ou 32 ppm (0, 0,06, 0,24 e 0,96 mg/kg/dia)	Concentrações $\geq 8$ ppm: diminuição da atividade da colinesterase plasmática, cerebral e eritrocitaria em machos; 32 ppm: diminuição da atividade da colinesterase cerebral e eritrocitaria em fêmeas.	2 ppm	Hayes, 1984a apud IPCS, 2002

Adaptado IPCS, 2002.

### **4.3 Toxicidade crônica**

Na fisiopatologia dos efeitos crônicos decorrente da exposição aos agrotóxicos estão envolvidos, além dos aspectos toxicológicos próprios de cada produto, as características da exposição tais como a intensidade, a duração e a interação com outros produtos químicos, com os quais pode haver potencialização da ação tóxica, e outros condicionantes envolvidos, tais como as condições biossociais do exposto.

A exposição crônica aos organofosforados também está relacionada, entre outros, ao câncer, á efeitos teratogênicos, neuropatias periféricas tardias e toxicidade reprodutiva (CALDAS; SOUZA, 2000).

#### **4.3.1 Estudos de mutagenicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade**

##### **4.3.1.1 Carcinogenicidade e mutagenicidade**

A mutação no DNA é a alteração genuína do processo de carcinogenicidade (RIBEIRO; SALVADORI; MARQUES, 2003). Essa mutação pode ser causada por agentes químicos, como os agrotóxicos, que podem induzir o câncer por mecanismos variados como genotoxicidade e promoção de tumores (RODVALL; DICH; WIKLUND, 2003).

A maioria dos carcinógenos apresenta uma propriedade em comum: são eletrofilicos altamente reativos que interagem com locais nucleofílicos na célula; sendo o DNA alvo de preferência (CLARKE; OXMAN, 2000). Nessa ligação, os adutos de DNA são formados por ligações covalentes. Essa formação pode mutar proto-oncogenes ou genes supressores de tumor e iniciar o processo de carcinogênese (KINZLER; VOGELSTEIN, 1996, apud LOUREIRO; MASCIO; MEDEIROS, 2002). Após essa mutação ocorrem alterações no processo de divisão celular que resultam na perda de características funcionais e na formação de tumores (CUNNINGHAM; MATTHEWS, 1995).

A correlação entre câncer e agrotóxico está mais bem caracterizada nos cânceres de pulmão, de mama, dos testículos, da tireóide, da próstata, do ovário, e do sistema hematopoiético (linfomas não-Hodgkin, leucemias e mieloma múltiplo) (PIMENTEL, 1996).

No Brasil, um estudo entre agricultores expostos a agrotóxicos da região Serrana do Rio de Janeiro mostrou alta taxa de mortalidade para câncer de estômago, de

esôfago, de laringe, de boca e leucemias (MEYER et al, 2003). Os organofosforados são amplamente utilizados nessa região (ARAÚJO et al, 2007).

Dados na literatura indicam que vários organofosforados são mutagênicos (MOHAMMED, 1999; MATSUHITA; MATSUI; MATSUI, 2005; MATSUHITA et al, 2005). Entre os dados apresentados destaca-se a mutagenicidade dos metabólitos dos organofosforados (CORTEZ-ESLAVA et al, 2001; MATSUHITA; MATSUI; MATSUI, 2005; MATSUHITA et al, 2005;), que muitas vezes são mais mutagênicos do que o princípio ativo.

Também é destacado o sinergismo desses compostos e seus metabólitos com aminas aromáticas, moléculas pré-mutagênicas e promotoras de câncer. As aminas aromáticas são utilizadas em vários processos da indústria têxtil e na produção de fármacos, agrotóxicos e plásticos. Esse sinergismo provoca um aumento da mutagenicidade dessas aminas.

Ensaio biológicos *in vitro e in vivo*, mediante análise genotóxica e carcinogênica de organofosforados apontam efeitos decorrentes de mutações gênicas, cromossômicas e de lesões na estrutura bioquímica do DNA humano, mostrando assim o potencial mutagênico e/ou carcinogênico desse grupo de agrotóxicos.

Apesar de não haver muitos estudos na literatura científica sobre a carcinogenicidade do metamidofós, a Agência de Proteção Ambiental da Califórnia descreve amplamente, baseada em resultados de estudos crônicos de toxicidade em roedores e testes de genotoxicidade, que esse agrotóxico não tem potencial carcinogênico (CALIFORNIA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2005).

Segundo o IPCS, estudos de longa duração em ratos não identificaram presença de tumor nesses animais (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1976). Já segundo a EPA, essa substância não teve uma avaliação completa para a determinação do potencial carcinogênico em humanos (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2007).

A toxicidade crônica e o potencial de carcinogenicidade do metamidofós foram avaliados em 03 estudos aportados na ANVISA, conduzidos com ratos, camundongos e cães. A substância testada não foi considerada carcinogênica.

## **Estudo1**

Autores: Hayes et al, 1984a (addendun 1994)

Espécie: Ratos Fischer 344

Número de animais: 50 animais/sexo/dose (grupo principal)

Doses: 0;2,0; 6,0; 18 e 54 ppm

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 70%

Qualidade do estudo: US-EPA-FIFRA, Section 158.340, Guideline 83-5

Os animais, divididos em grupos de ambos os sexos para cada dose, receberam metamidofós nas concentrações de 2; 6; 18 e 54 ppm, através da dieta, durante 2 anos. Os grupos que receberam a dose de 2 e 6 ppm não apresentaram alterações de comportamento ou clínicas quando comparados ao controle. A maioria dos animais das doses de 18 e 54 ppm apresentou, depois de 20 semanas de estudo, os seguintes sinais: fezes soltas, alterações na urina, pêlo áspero e lesões na pele. A média de consumo de alimentos para todos os níveis testados foi aferida de forma equivocada não sendo possível estabelecer a dose-resposta. Com relação ao peso corpóreo dos animais durante o estudo, na dose de 54 ppm, os machos apresentaram a média de peso menor que o controle, iniciando na 3ª semana e permanecendo até o término do estudo. No grupo submetido a dose de 18 ppm, houve diminuição de peso da 5ª semana até a 84ª semana, excetuando-se as semanas 61 e 76. A atividade da colinesterase no cérebro, plasma e eritrócito foi inibida, dose relacionada, nas doses de 6; 18 e 54 ppm. Não houve alterações nos parâmetros hematológicos relacionadas ao tratamento. Durante a necrópsia foram encontradas alterações com relação ao peso relativo dos órgãos em machos: cérebro aumentado (54ppm), fígado diminuição (18ppm) e testículos diminuídos (18 e 54ppm). Para fêmeas as alterações encontradas nos pesos relativos dos órgãos foram as seguintes: aumento do cérebro (54 ppm), aumento do coração (54 ppm) e rim aumentado (2, 6 e 54 ppm). O diretor do estudo não considerou os efeitos dose-relacionados. Achados macroscópicos e microscópicos não revelaram efeito dose-relacionados ao metamidofós na incidência de lesões não neoplásicas. Quanto aos achados neoplásicos estes foram similares a incidência dos animais controle.

## **Estudo2**

Hayes et al, 1984c (addendum Jones, 1994)

Espécie: Cães Beagle

Número de animais: 6 animais/sexo/dose

Doses: 0;2,0; 8,0 e 32 ppm

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 70%

Qualidade do estudo: US-EPA-FIFRA, Section 158.340, Guideline 83-1

Os animais, divididos em grupos de ambos os sexos para cada dose, receberam metamidofós nas concentrações de 2, 8 e 32 ppm, através da dieta, durante um ano. Não houve alteração no ganho de peso e no peso dos animais que receberam metamidofós quando comparados ao grupo controle. A atividade da colinesterase do plasma, eritrócito e cérebro foi inibida, dose-relacionada, nas doses de 8 e 32 ppm, para machos e fêmeas, exceto para colinesterase plasmática em fêmeas na dose de 8ppm. Foi observado aumento significativo das plaquetas em fêmeas na dose de 32 ppm. Os achados macroscópicos terminais revelaram anomalias tais como: endocardioses das válvulas atrioventriculares do coração, petéquias na bexiga, cistos na tireóide, massa na laringe, útero aumentado, cicatriz no pulmão, aumento da tireóide, manchas na tireóide, manchas no pulmão e aumento dos gânglios linfáticos. A distribuição das anomalias não caracterizou efeito dose-relacionado ao composto. O peso absoluto e relativo da tireóide foi menor em machos na dose de 2 ppm, e o peso relativo da glândula pituitária e dos pulmões foi aumentado para machos na dose de 8 ppm, todavia o autor do estudo informa que estes efeitos não são composto-relacionados. Não foram encontradas evidências de neoplasias em machos ou fêmeas em qualquer das doses avaliadas. O diretor do estudo aponta o NOEL como sendo 2,0 ppm.

### **Estudo 3**

Hayes, 1984b; Addendum 1994

Espécie: Camundongo CD1

Número de animais: 50 animais/sexo/dose (grupo principal)

10 animais/sexo/dose (grupo satélite)

Doses: 0, 1, 5 e 25 ppm

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 70%

Qualidade do estudo: US-EPA-FIFRA, Section 158.340, Guideline 83-2

Os animais, divididos em grupos de ambos os sexos para cada dose, receberam metamidofós nas concentrações de 1, 5 e 25 ppm, através da dieta, por 106 semanas. Na dose de 25 ppm o consumo de comida foi menor em machos e fêmeas. Os pesos destes também se mostraram menor quando comparados com o controle. Ocorreu aumento significativo do peso relativo do cérebro, adrenal, coração, pulmões e rins em fêmeas na dose de 25ppm, e no peso relativo do baço em machos na dose de 25ppm. Este aumento pode ser atribuído a diminuição do peso dos animais. Não foi observado aumento dose-relacionado de tumores totais, tumores benignos, nº de animais com tumores benignos

simples ou múltiplos ou animais com tumores benignos ou malignos. Houve aumento, interpretado como randômico, em fêmeas no número total de tumores malignos nos doses de 1 e 5 ppm, mas não na dose de 25ppm, quando comparados ao grupo controle. Não foi indicado efeito hematotóxico. O produto não foi considerado carcinogênico para machos e fêmeas de camundongos, incluindo a maior dose testada. O NOEL estabelecido foi de 5 ppm.

#### 4.3.1.2 Genotoxicidade e Mutagenicidade

A Tabela 5 apresenta os estudos do Metamidofós aportados na ANVISA.

**Tabela 5:** Estudos de mutagenicidade e genotoxicidade do metamidofós aportados na ANVISA

Tipo do teste	Microrganismo/animal/linhagem celular	Pureza	Dose	Resultados	Referência
Ames	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas: TA98, TA100, TA1535 e TA1537	62,60%	20, 100, 500, 2500, 12500 µL/placa*	Controverso (resultados conflitantes, não repetitivos e sem apresentação de análise estatística)	Herbold, 1980
	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas: TA97a, TA98, TA100 e TA102	70,00%	11, 20, 35, 60 e 110 µL/placa	Negativo	Veiga, 1994a
	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas: TA97a, TA98, TA100 e TA1535	70,00%	1, 10, 100, 1000 e 5000 nL/placa*	Negativo	Vargas, 1994a
	<i>Salmonella typhimurium</i> cepas TA100, TA98, TA97a, TA1535	73,00%	1; 10; 100; 1000 e 5000 η*	Controverso	Vargas; Toledo, 1994
Micronúcleo (MN)	Camundongos (3/sexo) para cada dose testada	70,00%	3,73; 7,46; 14,93 mg/kg (machos); 3,25; 6,50; 13,00 mg/kg (fêmeas). Aplicação: 2 doses ip. no período de 24h	Negativo	Veiga, 1994b
	Camundongos (5/sexo), para cada dose testada e controles positivo e negativo	62,60%	5,0 e 10,0 mg/kg administrados via oral em 2 doses no intervalo de 24h	Negativo	Herbold, 1981
	Camundongos (5/sexo) para cada dose testada	70,00%	2,50; 1,66 e 0,832 µL/kg. Aplicação: 2 doses ip. no período de 24h	Negativo	Vargas, 1994b
	Camundongos cinco machos e cinco fêmeas	73,00%	0,4 e 0,5 ml/animal	Negativo	Vargas et al, 1994

\* Com e sem ativação metabólica.

IP: Via Intraperitoneal.

A maioria dos estudos apresentados na tabela acima sugere que o metamidofós não tem efeitos mutagênicos, porém há relatos de estudos positivos em outras agências que regulamentam o registro de agrotóxicos, assim como em estudos na literatura. Dados do IPCS de 2002 mostram a avaliação de 19 estudos em bactérias e mamíferos. Dos 10 estudos *in vitro* (mutação pontual, aberrações cromossômicas e alterações no DNA) um foi positivo para troca de cromátides irmãs e outro para aberrações cromossômicas. Já nos 9 estudos *in vivo*, um apresentou troca entre cromátides irmãs e outro apresentou positividade para micronúcleos, ambos em células da medula óssea de camundongos suíços. Os outros estudos foram negativos inclusive para os desfechos descritos como positivos (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2002).

Há dois estudos na literatura científica que mostram resultados positivos para a mutagenicidade e serão relatados a seguir.

Karabay; Oguz (2005) – Teste de aberrações cromossômicas e indução de micronúcleos em ratos Wistar; Teste de Ames para avaliar mutação em bactérias (*Salmonella typhimurium* TA98, TA100). Nos animais foram administradas as dosagens de 2.5 e 5 mg/kg metamidofós e 2,5 e 5 mg/kg imidacloprido misturado com metamidofós, por 90 dias. Todos os testes foram positivos e realizados na presença de mistura de ativação metabólica (S9).

Naturforsch (1987) – Teste *in vivo*: indução de micronúcleos e troca entre cromátides irmãs em células da medula óssea de camundongos. Teste *in vitro*: indução de aberrações cromossômicas e troca entre cromátides irmãs em células esplênicas de ratos. Administração intra-peritoneal única e múltiplas de 6 e 4,5 mg/Kg de metamidofós; administração oral por 14 dias consecutivos (100 ppm) e múltiplos tratamentos via derme (24 mg/Kg) induziram o aumento da frequência de eritrócitos policromáticos com micronúcleo. Além disso, a baixa dosagem de 0,25 µg/ml induziu uma alta porcentagem de metáfase com aberrações cromossômicas. O metamidofós induziu também a troca de cromátides irmãs *in vitro* e *in vivo*.

#### **4.4 Toxicidade sobre o sistema endócrino, reprodutivo e desenvolvimento**

##### **4.4.1 Toxicidade sobre o sistema endócrino**

A toxicidade endócrina ou desregulação endócrina é um efeito adverso que interfere com uma ou mais das diversas funções desempenhadas pelo sistema endócrino. Esse sistema desempenha função essencial nos processos metabólicos do organismo como os processos nutricionais, comportamentais, reprodutivos, funções cardiovasculares, renais e intestinais.

Em seres humanos foi observado o aumento da incidência de câncer em órgãos reprodutivos masculino e feminino. Alguns desses cânceres podem ser explicados pela capacidade de certas substâncias químicas mimetizarem a ação de hormônios tais como estrógenos e andrógenos. Na Europa observou-se um aumento da incidência de cânceres de testículo, próstata e útero (BRAY et al, 2006 apud WOODRUFF et al, 2008).

Em estudos com animais de laboratório expostos a organofosforados foram observadas diversas alterações de níveis hormonais: hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), corticosterona, hormônio do crescimento e prolactina (KOKKA; CLEMONS; LOMAX, 1987; SPASSOVA; WHITE; SINGH, 2000; CLEMENT, 1985); triiodotironina (T3), tiroxina (T4) e hormônio tireo-estimulante (TSH) (CLEMENT, 1985; CAMACHO; DWARKANATHAN, 1999); progesterona (HONG et al, 2007) e testosterona (CLEMENT, 1985).

Alterações morfológicas em células tireoideanas (SATAR ET AL, 2005; SATAR ET AL, 2008) e diversas alterações em nível do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (SPASSOVA; WHITE; SINGH, 2000) também já foram observadas.

A exposição à organofosforados pode ainda alterar a atividade da aromatase, enzima responsável pela conversão de andrógenos e estrógenos (LAVILLE et al, 2006). A inibição ou indução da expressão ou atividade dessa enzima pode modificar os níveis de hormônios andrógenos e estrógenos. As alterações dos hormônios sexuais podem impactar de maneira significativa no desempenho reprodutivo masculino e feminino.

Os estudos aportados na ANVISA para avaliação da toxicidade aguda e subcrônica identificaram alterações relacionadas ao sistema endócrino e também ao sistema reprodutivo.

No Estudo 4 de toxicidade aguda, ratos foram tratados por via dérmica com as doses 10; 50; 75; 100; 150; 200; 250; 350 e 1000 mg/kg (machos) e 10; 50; 75; 100; 150; 200 e 1000 mg/kg (fêmeas). Em alguns animais foi observado o endurecimento de testículos e epidídimos (HEIMANN, 1981).

No Estudo 1 (LÖSER, 1970a) de toxicidade subcrônica do metamidofós, cães Beagle foram tratados com as doses de 0,038; 0,13; 0,38 mg/kg. Nesse estudo os pesos

absolutos de tireóide, adrenais, testículos e ovários estavam alterados. No Estudo 2 (LÖSER, 1970b) de toxicidade subcrônica, ratos foram tratados com quatro doses de metamidofós (0,2; 0,6; 2,0 e 6,0 mg/kg). Na maior dose foi observada diminuição dos pesos das adrenais e gônadas. Durante a avaliação da carcinogenicidade do metamidofós, ratos foram tratados com as doses de 2,0; 6,0; 18,0 e 54,0 ppm de metamidofós (Estudo 1 de toxicidade crônica) (HAYES ET AL (1984); HAYES (1994). Nas duas maiores doses desse estudo foi observada a diminuição do peso relativo dos testículos. No Estudo 2 (HAYES ET AL , 1984; JONES, 1994) de toxicidade crônica, cães Beagle foram tratados com as doses de 2,0; 8,0 e 32,0 ppm de metamidofós. Alterações macroscópicas como cistos, manchas e aumento da tireóide e do útero foram observadas, assim como aumento dos pesos absolutos e relativos da tireóide e peso relativo da pituitária. No Estudo 3 (HAYES ET AL, 1984; HAYES, 1994) de toxicidade crônica, camundongos foram tratados com 1; 5 e 25 ppm de metamidofós. Foi encontrado aumento do peso relativo das adrenais em fêmeas.

Os estudos disponíveis na literatura apontam efeitos sobre os eixos de regulação endócrina Hipotálamo-Pituitária-Tireóide (HPT) e Hipotálamo-Pituitária-Adrenais (HPA) e serão relatados a seguir.

No estudo de Satar e colaboradores (2005), ratos machos adultos foram expostos a uma dose letal de metamidofós (30 mg/kg) por entubação gástrica. Imediatamente após o aparecimento dos efeitos colinérgicos foi realizada a coleta de sangue e a quantificação dos níveis de T3, T4 e TSH. Outro grupo de animais foi exposto à mesma dose de metamidofós e posteriormente a antídotos para os efeitos colinérgicos. Os níveis de T3, T4 e TSH estavam diminuídos no primeiro grupo quando comparados ao grupo controle tratado com solução salina. Já nos animais tratados com antídotos somente os níveis de T3 e T4 estavam diminuídos e os de TSH estavam aumentados. Comparando-se os dois grupos tratados com metamidofós, nos animais tratados também com os antídotos os níveis de T3 e TSH eram mais elevados (SATAR et al, 2005). Os efeitos observados provavelmente ocorreram pela ação colinérgica do organofosforado, uma vez que a acetilcolina está envolvida na regulação das funções da pituitária (TUOMISTO; MÄNNISTÖ, 1985).

Alterações ultraestruturais da tireóide foram observadas em outro estudo com ratos machos adultos expostos ao metamidofós (dose única de 30 mg/kg) por entubação gástrica (SATAR et al, 2008). Essas alterações podem estar associadas à desregulação da função tireoidiana encontrada no estudo anterior de Satar et al (2005). Os autores

sugerem que os efeitos estruturais encontrados podem estar associados à ação direta do metamidofós no tecido tireoidiano ou no eixo HPT (SATAR et al, 2008).

Ratas foram tratadas com metamidofós (5mg/kg) por via intraperitoneal e o sangue foi coletado 60 minutos após o tratamento. Os níveis de ACTH, corticosterona e aldosterona estavam elevados, sugerindo que o metamidofós também interage com o eixo HPA de regulação endócrina (SPASSOVA; WHITE; SINGH, 2000).

Os estudos realizados após a exposição ao metamidofós mostraram alterações no ovário, útero, testículos e epidídimo de cães e ratos.

Alterações morfológicas e estruturais na tireóide e diferenças na liberação de hormônios tireoideanos também foram demonstradas em estudos in vivo com cães e ratos. Modificações nas glândulas adrenais e nos níveis dos hormônios corticóides também foram observadas após a exposição de ratos a esse organofosforado. Os animais foram expostos com diferentes níveis de dose de maneira aguda, subcrônica ou crônica.

Os resultados também indicam que o metamidofós interage com dois eixos hormonais (HPT e HPA) responsáveis pela regulação de importantes funções fisiológicas. O eixo HPT está envolvido no desenvolvimento do cérebro, funções cardiovasculares, respiratórias, crescimento ósseo, produção e metabolismo de hormônios esteróides, metabolismo de açúcares, lipídios e proteínas e alguns processos imunológicos. O eixo HPA também está associado à síntese de açúcares, lipídios e proteínas para manutenção da reserva energética e ainda à inibição de processos inflamatórios e supressão de respostas imunológicas.

O fato de o metamidofós atuar sobre dois eixos que compartilham funções pode potencializar os efeitos tóxicos sistêmicos, uma vez que os mecanismos compensatórios de um eixo sobre o outro podem ser inibidos, resultando em alterações de maior gravidade.

Uma vez que a exposição ao metamidofós desregula dois eixos hormonais que desempenham funções fisiológicas semelhantes, os efeitos adversos manifestados podem ser muito mais graves se apenas um dos eixos fosse alterado.

#### **4.4.2 Toxicidade reprodutiva**

A toxicidade reprodutiva pode ser definida como a ocorrência de efeitos adversos no sistema reprodutivo após a exposição a uma substância química. A

toxicidade pode ser direcionada aos órgãos reprodutivos e/ou ao sistema endócrino. A manifestação da toxicidade pode ser identificada como alterações no comportamento sexual, fertilidade, desfechos da gravidez ou modificações em outras funções que dependem da integridade do sistema reprodutivo de maneira geral (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001).

Padungtod et al (1999) apud Recio et al (2001) realizaram estudo na China e observaram que os organofosforados metamidofós, parationa metílica e parationa etílica induziram alterações na qualidade do sêmen, redução do número, da motilidade e aneuploidia dos espermatozóides, perda de libido e impotência.

Bell, Hertz-Picciotto e Beaumont (2001) estudaram, em 1984, a ocorrência de óbitos fetais devido a malformações congênitas entre gestantes da Califórnia que residiam próximo de áreas de aplicação de agrotóxicos, entre eles o metamidofós. Foi observada elevação do risco de perda fetal por anomalias congênitas quando a exposição ocorria entre as terceira e oitava semanas da gravidez. A elevação do risco estava diretamente relacionada à maior proximidade da residência à lavoura.

#### **a) Estudos de toxicidade reprodutiva: multigeração**

##### *Ratos*

Em um estudo de toxicidade reprodutiva de duas gerações, ratos CD machos e fêmeas foram expostos a 0; 3; 10 ou 33 ppm, equivalente a 0; 0,15; 0,5 e 1,6 mg/kg de metamidofós através da dieta. Foi observado aumento na incidência de sinais clínicos de toxicidade tais como redução do peso corporal dos pais, dos filhotes e da ninhada, diminuição da viabilidade dos filhotes e redução da proporção de fêmeas férteis que deram a luz quando expostas à concentração de 33 ppm. O NOAEL foi fixado em 10 ppm, equivalente a 0,5 mg/kg peso corporal/dia para toxicidade paterna, reprodutiva e para o desenvolvimento (Tabela 6) (HIXSON, 1984a apud JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2002).

Em outro estudo de duas gerações, ratos CD Sprague-Dawley, machos e fêmeas, receberam metamidofós nas concentrações de 0; 1; 10 ou 30 ppm, igual a 0; 0,1; 0,9 e 2,5 mg/kg para machos e 0; 0,1; 0,9 e 2,4 mg/kg para fêmeas. A exposição ao metamidofós nas concentrações de 10 e 30 ppm causou a redução do peso corporal das fêmeas F<sub>0</sub> e F<sub>1</sub> durante a lactação mas não durante a gestação, diminuição do peso dos

filhotes durante a lactação e redução das atividades colinesterásicas plasmáticas, eritrocitária e cerebral. Além disso, a concentração de 30 ppm de metamidofós causou redução do peso corporal de machos F<sub>0</sub> (apesar do aumento da ingestão de alimentos), redução do percentual dos filhotes vivos/ninhada no dia 21 quando comparado com o dia 4 e aumento do número de mães que canibalizaram os filhotes. A concentração de 1 ppm reduziu a atividade da colinesterase em machos adultos. O NOAEL foi calculado para toxicidade parental e para o desenvolvimento, sendo fixado em 1 ppm, o que corresponde a 0,1 mg/kg. O NOAEL foi baseado na inibição (> 20 %) da atividade da colinesterase plasmática, eritrocitária e cerebral e na redução estatisticamente significativa do peso corporal (8%). O NOAEL para toxicidade reprodutiva foi fixado em 30 ppm, correspondendo a 2,4 mg/kg, baseado na redução do peso corporal (Tabela 6) (EIGENBERG et al, 1998 apud JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2002).

#### **b) Estudos de toxicidade reprodutiva: danos sobre os sistemas reprodutivos**

Em um estudo de toxicidade reprodutiva, camundongos CD1 machos foram expostos a 0,5; 3,75; 5,0 e 7,5 mg/kg de metamidofós para verificar o seu potencial para produzir efeitos adversos sobre o sistema reprodutivo masculino. Os machos foram sacrificados 4 semanas após injeção intraperitoneal aguda de metamidofós e o número de espermátides por grama de testículos e a morfologia dos espermatozóides foram avaliados. O número de espermátides por grama de testículos não diferiu entre os grupos, no entanto, foi observado um aumento dose-relacionado (3,75; 5,0 e 7,5 mg/kg) do percentual de espermatozóides com morfologia anormal. É importante ressaltar que a análise da morfologia dos espermatozóides é realizada como medida indireta da capacidade de um agrotóxico exercer efeito potencial sobre o componente genético da espermatogênese, portanto, os resultados desse estudo indicam que o metamidofós é capaz de exercer efeitos genotóxicos (BURRUEL et al, 2000).

#### **4.4.3 Toxicidade sobre o desenvolvimento**

A toxicidade do desenvolvimento refere-se aos efeitos adversos no organismo em formação que ocorrem após a exposição a substâncias químicas antes da concepção,

durante o desenvolvimento pré-natal, pós-natal até a maturação sexual. Efeitos adversos no desenvolvimento podem ser detectados em qualquer momento da vida de um indivíduo (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001).

#### *Camundongos*

Em um estudo de toxicidade pré e pós-natal, fêmeas de camundongos grávidas receberam 0; 0,4; 2,2 ou 4 mg/kg de metamidofós, via oral, entre os dias 16 de gestação e 21 pós-natal (desmame). Os parâmetros observados foram peso corporal materno e medidas do desenvolvimento físico e reflexo, atividade locomotora e habilidade de aprendizado nos filhotes. O córtex cerebral dos filhotes foi avaliado quanto à densidade e espessura neuronal e para proteína. O sobressalto auditivo, a habilidade para nadar, reflexos suspensos e a habilidade de aprendizado no labirinto estavam afetados na menor dose e as duas maiores doses afetaram a extensão da gestação, a abertura dos olhos e endireitamento postural. A densidade neuronal do córtex cerebral dos filhotes estava aumentada nas duas maiores doses e a espessura neuronal estava diminuída na maior dose. O NOAEL para atraso no desenvolvimento não pode ser fixado, mas o LOAEL desse estudo foi 0,4 mg/kg de metamidofós (Tabela 7) (WANG; HUANG, 1987 apud JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2002).

#### *Ratos*

A exposição maternal a agrotóxicos durante os períodos de pré-implantação e de pós-implantação precoce da gestação está relacionada com numerosos efeitos adversos sobre os filhotes e nos parâmetros reprodutivos tais como aumento da reabsorção, redução do peso e da sobrevivência fetal e efeitos teratogênicos. O presente estudo avaliou a influência da exposição oral pré-natal a 1,0 mg metamidofós/kg ou 200 mg clorotalonil/kg entre os dias 1 e 6 de gestação sobre a maturação e aspectos comportamentais do desenvolvimento de filhotes de ratos. Não foram observados efeitos sobre o teste de comportamento na piscina nos dias 7, 14 e 21 pós-natal, mas os agrotóxicos interferiram com os marcos físicos do desenvolvimento e de maturação de acordo com a idade, apresentando efeitos sobre o desenvolvimento físico e comportamental (CASTRO; CHIORATO; PINTO, 2000a).

Em um estudo de toxicidade para o desenvolvimento, quatro grupos de fêmeas de ratos CD receberam 0; 0,3; 1 e 3 mg/kg de metamidofós, via oral, do dia 6 ao dia 15 de gestação. Durante o tratamento sinais clínicos maternos, peso corporal e consumo de alimentos foram registrados. As fêmeas foram sacrificadas e submetidas à cesárea no dia 21 de gestação e tiveram o seu conteúdo uterino examinado quanto ao sexo dos fetos, peso fetal e número de implantações, reabsorções, corpo lúteo e fetos viáveis. Os fetos foram avaliados quanto à presença de malformações externas e fixados para posterior avaliação de vísceras e esqueleto. No grupo que recebeu 3 mg/kg de metamidofós as mães apresentaram sinais típicos de toxicidade colinérgica, diminuição do consumo de alimentos e do ganho de peso corporal em relação ao controle e redução do peso médio dos filhotes e peso total das ninhadas. O NOAEL foi fixado em 1 mg/kg para ambas as toxicidades, maternal e sobre o desenvolvimento, baseado nos sinais clínicos e diminuição da ingestão de comida e do ganho de peso corporal e na redução do peso fetal e das ninhadas na dose de 3 mg/kg (Tabela 7) (Hixson, 1984b apud JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2002).

Em outro estudo de toxicidade para o desenvolvimento, ratas fêmeas albinas receberam 0; 1 ou 2 mg/kg de metamidofós, via oral, do dia 6 ao dia 15 de gestação. A toxicidade materna não foi avaliada e as fêmeas foram sacrificadas e submetidas à cesárea no dia 19 de gestação e tiveram o seu conteúdo uterino examinado quanto ao sexo dos fetos, peso fetal e número de implantações, reabsorções, corpo lúteo e fetos viáveis. Os fetos foram avaliados quanto à presença de malformações externas e fixados para posterior avaliação de vísceras e esqueletos. Foi observada redução na média do peso fetal, número de implantações e fetos viáveis em ambas as doses. Um aumento na embriofetividade e na incidência de malformações (anencefalia, anotia) foi observado na dose de 2 mg/kg. O NOAEL para toxicidade sobre o desenvolvimento não pode ser fixado, mas o LOAEL para esse estudo foi de 1 mg/kg de metamidofós (Tabela 7) (Hanafy et al, 1986 apud JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2002).

Em um estudo de toxicidade realizado para avaliar os efeitos da exposição pré-natal sobre a maturação e aspectos neuro-comportamentais do desenvolvimento dos filhotes, ratas *Wistar* grávidas foram expostas a 1,0 mg/kg metamidofós do dia 6 ao dia 15 de gestação. Os marcos físicos do desenvolvimento (erupção de incisivos,

descolamento de orelhas, aparecimento de pelos e abertura de olhos) estavam alterados no final do período de observação, mas não foram observados efeitos sobre o teste do comportamento na piscina nos dias 7, 14 e 21 pós-natal. No teste de campo aberto (*open-field*) o tempo de imobilidade estava diminuído nos animais expostos ao metamidofós quando comparado com o controle indicando possível efeito neuro-comportamental (CASTRO; CHIORATO; PINTO, 2000b).

Um estudo de toxicidade pós-natal foi realizado com ratas *Wistar* (n=10/grupo) expostas a 1, 2 e 4 mg/kg de metamidofós (MT) ou 200, 400 e 800 mg/kg de clorotalonil (CR) ou ambos durante a lactação, isto é, do dia 1 ao dia 21 pós-natal, por via IP. Os parâmetros avaliados foram viabilidade e peso dos filhotes e marcos físicos do desenvolvimento pós-natal (erupção de incisivos, descolamento de orelhas, abertura de olhos e descida de testículos). A viabilidade dos filhotes estava afetada no grupo que recebeu doses de 4 mg/kg MT e no grupo que recebeu 4 mg/kg MT + 800 mg/kg CR. Foi observada redução do peso materno e dos filhotes nos dias 7 e 14 pós-natal no grupo que recebeu a dose de 4mg/kg MT e redução do peso dos filhotes no dia 7 pós-natal no grupo que recebeu a dose de 2 mg/kg MT. Com relação aos marcos físicos do desenvolvimento pós-natal foi registrado atraso no descolamento de orelha (2 e 4 mg/kg MT), abertura dos olhos (1, 2 e 4 mg/kg MT), erupção de incisivos (2 mg/kg MT) e descida de testículos (1 e 2 mg/kg MT). Juntos, esses resultados demonstram uma influência sobre o desenvolvimento relacionada à exposição (CASTRO; CHIORATO, 2000).

### *Coelhos*

Em um estudo de toxicidade sobre o desenvolvimento, coelhos receberam 0; 0,1; 0,5 ou 2,5 mg/kg de metamidofós por via oral do dia 6 ao dia 18 de gestação. Sinais de toxicidade materna e peso corporal foram registrados. As mães foram sacrificadas e submetidas à cesárea no dia 29 de gestação e tiveram o seu conteúdo uterino examinado quanto ao sexo dos fetos, peso fetal e número de implantações, reabsorções, corpo lúteo e fetos vivos e mortos. Os fetos foram avaliados quanto à presença de malformações externas e fixados para posterior avaliação de vísceras e esqueletos.

Foi observada a redução no ganho de peso corporal materno durante o tratamento em todas as doses, embora apenas na maior dose essa redução fosse estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ). Não foram observados efeitos relacionados ao

tratamento sobre o tamanho da ninhada, peso fetal, e outros parâmetros do desenvolvimento embrionário avaliados, percentual de fetos viáveis e malformados ou incidência de anomalias fetais esquelética, visceral e externa. O NOAEL foi fixado em 0,5 mg/kg/dia para toxicidade materna, baseado na diminuição do ganho de peso na dose de 2,5 mg/kg/dia e em 2,5 mg/kg/dia para toxicidade do desenvolvimento (Tabela 7) (MACHEMER, 1979 apud JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2002).

**Tabela 6:** Resumo dos estudos de toxicidade reprodutiva do metamidofós

Estudo/ Espécie/Número	Período/ Via	Dose (mg/kg peso corporal/dia)	Efeitos	NOAEL	Referência
Duas gerações / CD ratos / 26 ♀ e 26 ♂	100 dias antes do acasalamento e através da gestação e lactação dos ratos F <sub>1</sub> / na dieta	0, 3, 10 ou 33 ppm, equivalente a 0, 0,15, 0,5 e 1,6 mg/kg (70,5% pureza)	<b>33 ppm:</b> aumento da incidência de sinais clínicos nos pais e filhotes, redução do peso corpóreo dos pais, dos filhotes e ninhada, diminuição da viabilidade dos filhotes e da proporção de fêmeas que acasalaram e deram a luz a filhotes F <sub>2b</sub>	<b>10 ppm</b> (0,5 mg/kg/dia), para os pais, toxicidade reprodutiva e desenvolvimento	Hixson, 1984a <i>apud</i> IPCS, 2002
Duas gerações / ratos CD Sprague-Dawley / 30 ♀ e 30 ♂	Através do estudo, iniciando 7 semanas de idade da geração F <sub>0</sub> e até o desmame da geração F <sub>1</sub> / na dieta	0, 1, 10 ou 30 ppm, igual a 0, 0,1, 0,9 e 2,5 mg/kg/dia para ♂ e 0, 0,1, 0,9 e 2,4 mg/kg/dia para ♀ (69-77% de pureza)	<b>10 e 30 ppm:</b> redução do peso corporal de machos F <sub>1</sub> , do peso corporal de fêmeas F <sub>0</sub> e F <sub>1</sub> durante a lactação, mas não na gestação; redução do peso dos filhotes durante a lactação e da atividade da colinesterase do cérebro, eritrócito e plasma nos adultos e filhotes; <b>30 ppm:</b> redução do peso corporal de machos F <sub>0</sub> e do percentual dos filhotes vivos/ninhada no dia 21 quando comparado com o dia 4; e aumento do n° de mães que canibalizaram os filhotes; <b>1 ppm:</b> redução da atividade da colinesterase de machos adultos.	<b>1 ppm</b> (0,1 mg/kg/dia): para toxicidade dos pais e do desenvolvimento. <b>30 ppm</b> (2,4 mg/kg/dia): para toxicidade reprodutiva.	Eigenberg <i>et</i> <i>al.</i> , 1998 <i>apud</i> IPCS, 2002

Fonte: Adaptado IPCS, 2002.

**Tabela 7:** Resumo dos estudos de toxicidade para o desenvolvimento do metamidofós

Estudo/ Espécie/Número	Período/ Via	Dose (mg/kg peso corporal/dia)	Toxicidade materna	Toxicidade para desenvolvimento e/ou filhotes	NOAEL	Referência
Camundongos Kunming / 4 grupos	16 de gestação – 21 pós- natal /oral	0, 0,4, 2,2 ou 4	As duas maiores doses afetaram o tamanho da gestação	Sobressalto auditivo, habilidade para nadar, reflexos suspensos e a habilidade de aprendizado no labirinto foram afetados na menor dose. A densidade do neurônio no córtex cerebral dos filhotes estava aumentada em 2,2 e 4 mg/kg/dia, e a espessura do neurônio estava diminuída na maior dose.	Não foi estabelecido. O LOAEL foi de 0,4 mg/kg/dia	Wang & Huang, 1987 <i>apud</i> IPCS, 2002
Ratos CD / 22–26 fêmeas	6–15 de gestação /oral	0, 0,3, 1 ou 3	As mães da dose de 3 mg/kg/dia apresentaram sinais de toxicidade colinérgica e também diminuição da ingestão de alimentos e ganho de peso corporal relacionado ao controle.	A média do peso fetal e do peso total das ninhadas estava reduzido na dose de 3 mg/kg/dia. Não foram observados efeitos relacionados ao tratamento sobre o percentual de fetos viáveis e malformados ou sobre a incidência de anomalias fetais esquelética, visceral e externa.	<b>1 mg/kg/dia</b> para toxicidade materna e do desenvolvimento	Hixson, 1984b <i>apud</i> IPCS, 2002
Ratos albinos fêmeas / três grupos de 15–20	6–15 de gestação /oral	0, 1 ou 2	A média do peso fetal e do nº de implantações e fetos viáveis diminuídos em todas as doses	Embriofetividade e a incidência de malformações (anencefalia, anotia) estavam aumentadas, particularmente na dose de 2 mg/kg/dia.	Não foi estabelecido	Hanafy <i>et al.</i> , 1986 <i>apud</i> IPCS, 2002
Coelhos Himalaia/quatro grupos de 15	6–18 de gestação /oral	0, 0,1, 0,5 ou 2,5	Ganho de peso médio das mães durante o tratamento e através da gestação estava reduzido em todos os grupos, embora estatisticamente significativo somente na maior dose.	Não foram observados efeitos relacionados ao tratamento sobre o tamanho da ninhada, peso fetal, e outros parâmetros do desenvolvimento embrionário avaliados, percentual de fetos viáveis e malformados ou incidência de anomalias fetais esquelética, visceral e externa.	<b>0,5 mg/kg/dia</b> para toxicidade materna; <b>2,5 mg/kg/dia</b> para toxicidade do desenvolvimento	Machemer, 1979 <i>apud</i> IPCS, 2002

Fonte: Adaptado IPCS, 2002.

## 4.5 Imunotoxicidade

Alterações histopatológicas de tecidos e órgãos do sistema imunológico influenciam na maturação e nas subpopulações de linfócitos e nas alterações funcionais das células imunocompetentes foram descritas em diversos estudos (CASALE et al, 1993; SELGRADE et al, 1984; BARNETT; MCGOWAN; GENTRY; 1980; VOCCIA et al, 1999).

Os agrotóxicos organofosforados desregulam o sistema imune e afetam mecanismos imunológicos específicos (humorais) e não específicos (celulares). A exposição crônica a baixas doses durante períodos prolongados pode reduzir as respostas imunes humorais. Barnett, 1994 apud Repetto; Baliga, 1996 demonstrou que os agrotóxicos também reduzem a resistência do hospedeiro à infecção viral e bacteriana em animais.

Os compostos organofosforados tem um efeito imunossupressor sobre os sistemas celulares dos seres humanos e dos animais (NEWCOMBE, 1992a).

Estudos realizados por Rodgers e colaboradores (1985a, 1985b, 1985c, 1987) focaram o impacto do metabólito trietilfosforotioato O,O,S-trimetilfosforotioato (OOS-TMP) no sistema imunológico de roedores. A OOS-TMP apresenta vários efeitos imunotóxicos. Foi observada uma resposta dose-dependente para supressão da imunidade humoral e da incapacidade de gerar citotoxicidade em linfócitos T. Também foram encontradas alterações de macrófagos e atividade esterásica que contribuíram para o surgimento de doenças pulmonares em ratos.

Em outro estudo, os efeitos imunotóxicos da OOS-TMP incluíram a supressão da produção de anticorpos e de linfócitos T citotóxicos e uma redução na apresentação de antígenos por parte dos macrófagos. Investigações indicam que a redução na apresentação de antígenos e na atividade dos linfócitos T citotóxicos são produzidos porque os compostos organofosforados inibem a atividade de enzimas, como diversas esterases associadas a monócitos, células exterminadoras naturais e outras células imunocompetentes (NEWCOMBE, 1992b).

Hermanowicz e Kossman (1984) examinaram a função de neutrófilos e a prevalência de doenças respiratórias infecciosas em trabalhadores expostos ocupacionalmente a agrotóxicos organofosforados em estudos epidemiológicos do tipo caso-controle. A inibição de colinesterase plasmática e eritrocitária foi correlacionada

com diferentes níveis de exposição. Também foi observada uma correlação positiva entre a incidência de infecção e a amplitude da exposição.

Alguns estudos revelam que a exposição aos organofosforados reduz significativamente a resistência às infecções virais, bacterianas e fúngicas e diminui a resistência ao crescimento de tumores em animais (REPETTO; BALIGA, 1996).

Os estudos aportados na ANVISA para avaliar a toxicidade subcrônica do metamidofós apresentaram alguns efeitos imunotóxicos. No Estudo 1 para avaliar a toxicidade subcrônica do metamidofós, cães Beagle foram tratados com as doses de 0,038; 0,13; 0,38 mg/kg. Nesse estudo o peso absoluto do baço estava alterado (LÖSER, 1970a).

No Estudo 2, ratos foram tratados com quatro doses de metamidofós (0,2; 0,6; 2 e 6 mg/kg). Na maior dose foi observada diminuição dos pesos do timo e baço. Durante a avaliação da carcinogenicidade do metamidofós em cães Beagle tratados com as doses de 2,0; 8,0 e 32 ppm de metamidofós, foi observado aumento dos gânglios linfáticos. No Estudo 3 em camundongos tratados com 1; 5 e 25 ppm de metamidofós foi encontrado aumento do peso relativo do baço dos machos (LÖSER, 1970b).

#### **4.5.1 Efeitos imunossupressores do metamidofós**

As células extraídas de timo e baço de camundongos e de linfócitos do sangue periférico de seres humanos foram expostas ao metamidofós em concentrações variando de  $10^{-7}$  mol/l a  $10^{-3}$  mol/l. A proliferação dos linfócitos T do timo e a capacidade dos linfócitos B extraídos do baço de camundongos e de seres humanos de formarem anticorpos estavam diminuídas, de maneira dose-dependente. Os valores de IC50 (concentração com capacidade de inibição 50%) variaram entre  $10^{-5}$  a  $10^{-3}$  mol/l (TIEFENBACH; HENNINGHAUSEN; WICHNER, 1990).

Em um estudo realizado com animais, camundongos CBA receberam por via intraperitoneal as doses 0,6; 1,2 ou 6 mg/kg de peso corpóreo. Ratos Wistar adrenalectomizados receberam apenas a dose de 1,2 mg/kg. Nos camundongos as duas maiores doses inibiram a atividade de colinesterase no plasma e no cérebro e induziram diversos efeitos imunológicos celulares e humorais. Observou-se a diminuição do número de linfócitos e monócitos, aumento do número de granulócitos dos neutrófilos, diminuição da proliferação celular no timo, aumento da proliferação celular na medula óssea e diminuição da formação de anticorpos. Além disso, foram observadas a

diminuição do peso do timo e do baço e da população linfocitária desses órgãos. Também houve aumento de cortisol, de glicose e de tirosina transaminase (TIEFENBACH; WICHNER, 1985). Os autores do estudo sugeriram que, uma vez que os mesmos efeitos não foram observados nos ratos tratados, a imunossupressão observada seria um efeito indireto conseqüente à liberação de glicocorticóides após o estresse provocado pela inibição da colinesterase (TIEFENBACH; WICHNER, 1985). Entretanto, é importante destacar que os ratos foram tratados somente com uma dose de metamidofós e que os diferentes efeitos podem ter ocorrido pela diferença de susceptibilidade entre o rato e o camundongo. O NOAEL em camundongos foi de 0,6 mg/kg de peso corpóreo.

Os resultados encontrados nos estudos avaliando parâmetros imunológicos após a exposição ao metamidofós indicam que o metamidofós é imunotóxico. A diminuição dos pesos de órgãos linfóides como baço e timo foram observados nos estudos aportados na ANVISA e em artigos científicos.

O metamidofós é imunossupressor uma vez que provoca a diminuição de diversas populações linfocitárias e inibe a formação de anticorpos. Dessa maneira, a resposta imunológica inata e adquirida pode ser prejudicada e, conseqüentemente, indivíduos expostos ao metamidofós poderiam ser mais susceptíveis a infecções por patógenos e ao desenvolvimento de cânceres. Diversos estudos epidemiológicos realizados mostraram associação entre exposição de agrotóxicos organofosforados e organoclorados com maior ocorrência e gravidade das doenças infecciosas (KOVTYUKH, 1995c; BABADZANOV, 1988; FAIZIEV, 1989; VOLKOVA, 1991). A ocorrência de cânceres como leucemias, linfomas não Hodgkin, câncer de estômago e câncer de pele também está relacionada com a imunossupressão (BARIS; ZAHM, 2000; CRUMP; GOSPODAROWICZ; SHEPHERD, 1999; BELLONI-FORTINA ET AL, 2004; BERG; OTLEY, 2002).

## **4.6 Neurotoxicidade**

### **4.6.1 Mecanismos de ação**

Os organofosforados agem inibindo a atividade da acetilcolinesterase (AChE), enzima responsável por mediar a hidrólise da acetilcolina em ácido acético e colina. Através da fosforilação da enzima, os organofosforados bloqueiam a atividade catalítica da AChE, interrompendo a transmissão do impulso nervoso nas sinapses colinérgicas do

sistema nervoso central (SNC), sistema nervoso autônomo (SNA) e da junção neuromuscular. A inativação da AChE provoca uma hiper-estimulação colinérgica pelo acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica (TAFURI; ROBERTS, 1987; PRUETT et al, 1992; KECIK et al, 1993; BEACH et al, 1996; SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999; RAY; RICHARDS, 2001; MOSER et al, 2004; COSTA, 2006; KELLAR, 2006; ALON et al, 2008; JAMESON et al, 2007; NARAVANENI; JAMIL, 2007; SLOTKIN; SEIDLER; FUMAGALLI, 2007; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008; DAVIES; EDDLESTON; BUCKLEY, 2008; LAETZ et al, 2009).

O metamidofós exibe baixa seletividade quanto à ação tóxica, reduzindo a atividade da AChE em insetos e mamíferos de modo semelhante (KHASAWINAH; MARCH; FUKUTO, 1978; HUSSAIN, 1987; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996; CAMARA, 1997; HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2003; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996). Por inibirem a AChE de modo similar tanto em espécies alvo quanto em espécies não-alvo e por possuírem certas propriedades toxicocinéticas, os agrotóxicos organofosforados se tornam perigosos em termos de exposições ocupacionais, acidentais e intencionais. (CARVALHO, 1993; BOUCHARD et al, 1996; SHEETS et al, 1997; REY; RICHARDS, 2001).

O metamidofós inibe a AChE através da fosforilação da enzima. O mecanismo de fosforilação envolve clivagem da ligação P-S da molécula do metamidofós, levando à inibição da AChE (THOMPSON; FUKUTO, 1982; JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES). Apesar de não ser um bom agente fosforilador, o metamidofós apresenta alta toxicidade in vivo, afetando o sistema nervoso através desse mecanismo (QUISTAD; FUKUTO; METCALF, 1970; KHASAWINAH; MARCH; FUKUTO, 1978; ROBINSON; BEIERGROHSLEIN, 1980; LUNG, 1990; MAHAJNA; QUISTAD; CASIDA, 1997; CHAN; CRITCHLEY, 1998; MAHAJNA; CASIDA, 1998; WU et al, 2001; KASAGAMI; MIYAMOTO; YAMAMOTO, 2002; LIN et al, 2006).

O fato de o metamidofós ser um fraco inibidor da AChE in vitro sugere bioativação do composto através da sua conversão a um potente inibidor (ETO et al, 1977; THOMPSON; CASTELLINO; FUKUTO, 1984; MAHAJNA; QUISTAD; CASIDA, 1997; MAHAJNA; CASIDA, 1998). Outra explicação para a maior

toxicidade *in vivo* seria devido à relativa estabilidade e baixa taxa de degradação do metamidofós no organismo (KHASAWINAH; MARCH; FUKUTO, 1978; MAHAJNA; QUISTAD; CASIDA, 1997).

Sabe-se também que os efeitos tóxicos dos compostos organofosforados ocorrem não somente através da inibição da acetilcolinesterase, podendo ser causados por diferentes mecanismos que interrompem a replicação e diferenciação de células nervosas (RAY; RICHARDS, 2001; SLOTKIN et al, 2006; COSTA, 2006; SLOTKIN et al, 2007; SLOTKIN; SEIDLER, 2007; SLOTKIN et al, 2008a; SLOTKIN et al, 2008b). Os possíveis mecanismos que induzem efeitos tóxicos incluem reduções no número de receptores muscarínicos, na síntese de DNA e no tamanho do cérebro em recém-nascidos (ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999).

Manifestações tardias de neurotoxicidade podem ocorrer após a exposição ao metamidofós e estão ligadas à inibição de uma carboxiesterase neuronal, a esterase neuropática alvo (NTE - neuropathy target esterase) (SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; McCONNELL et al, 1999; VIDAIR, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; DOHERTY, 2006; PELEGRINO et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008). O mecanismo de inibição da NTE pelos compostos organofosforados envolve a fosforilação da NTE seguida pela perda do potencial de reativação da enzima, onde a clivagem de um grupo ligado ao fósforo resulta em um resíduo fosforil ionizado. Acredita-se que esse resíduo fosforil liga-se à membrana neural, causando a neuropatia tardia (LOTTI et al, 1993; JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES). A inibição dessa enzima presente no sistema nervoso pode resultar em danos permanentes (JOHNSON, 1990; MOSER et al, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005).

A exposição crônica a agrotóxicos organofosforados, ainda que em baixas doses, também pode produzir efeitos neurotóxicos (RAY; RICHARDS, 2001; SLOTKIN et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008; SLOTKIN et al, 2008a). A exposição a baixas doses durante o desenvolvimento fetal também pode produzir neurotoxicidade (HARNLY et al, 2005; SLOTKIN et al, 2006; JAMESON et al, 2007; SLOTKIN; SEIDLER, 2007). Estudos demonstram que a exposição contínua de animais ainda em fase de desenvolvimento a baixas doses de organofosforados pode afetar adversamente o crescimento e a maturação neurocomportamental (AHLBOM; FREDRIKSSON; ERIKSSON, 1995; COSTA, 2006; ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999). O fato da exposição aos organofosforados provocar alterações

durante o desenvolvimento cerebral, mesmo sem haver inibição da AChE, comprova esse argumento, reforçando ainda a incapacidade desse marcador para a avaliação da exposição ou dos efeitos relacionados à neurotoxicidade (SLOTKIN et al, 2006; SLOTKIN et al, 2008a).

Os danos neurológicos induzidos por organofosforados podem durar muito tempo, podendo persistir por mais de dez anos após o desaparecimento dos sintomas de intoxicação aguda, o que sugere dano residual permanente (KAMEL; HOPPIN, 2004; KAMEL et al, 2005). Mesmo exposições moderadas podem resultar em sequelas neurológicas de longo prazo (WESSELING et al, 2002; KAMEL; HOPPIN, 2004).

#### **4.6.2 Manifestações clínicas do metamidofós**

Os inibidores de colinesterase causam três quadros clínicos de envenenamento no homem e em animais: toxicidade aguda; síndrome intermediária e polineuropatia retardada. Os efeitos decorrentes da exposição aos organofosforados variam de acordo com fatores que podem modificar a toxicidade a esses agrotóxicos, incluindo o tipo de organofosforado utilizado, a dose, duração da exposição, via de absorção, o órgão atingido, fatores sócio-econômicos e culturais e condições ambientais (RAY, 1998).

O bloqueio irreversível da AChE pelos organofosforados desencadeia um quadro neurotóxico agudo em decorrência da hiper-estimulação colinérgica (KAUSHIK; ROSENFELD; SULTATOS, 2007; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008). O acúmulo de organofosforados no organismo devido à inibição da atividade colinesterásica provoca efeitos subagudos e crônicos. Em casos brandos, ou quando o composto é prontamente eliminado, os sintomas podem desaparecer rapidamente, porém a AChE pode levar meses para retornar aos níveis normais (CARVALHO et al, 1993).

##### **a. Neurotoxicidade aguda – Síndrome colinérgica**

A inibição da AChE por compostos organofosforados desencadeia um quadro neurotóxico agudo conhecido como síndrome colinérgica. Essa síndrome é caracterizada por uma ampla gama de sinais e sintomas resultantes da exacerbação da função colinérgica (KAUSHIK; ROSENFELD; SULTATOS, 2007; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008).

A intoxicação aguda por anticolinesterases produz uma mistura complexa de sinais muscarínicos e nicotínicos. Sinais e sintomas nicotínicos resultam da acumulação da acetilcolina nas terminações nervosas da musculatura esquelética e gânglios autônomos. Os receptores muscarínicos para a acetilcolina são encontrados primariamente nos músculos lisos, coração e glândulas exócrinas, e suas manifestações clínicas ocorrem nos sistemas circulatório, ocular, urinário e nos aparelhos digestivo e respiratório (CARVALHO, 1993; STOKES et al, 1995; BEACH et al, 1996; KELLAR, 2006).

Sintomas precoces de envenenamento agudo por organofosforados dependem da via de exposição e geralmente ocorrem nas primeiras 12 horas. Quando inalado, os primeiros efeitos geralmente são respiratórios e frequentemente incluem sangramento nasal ou rinorréia, tosse, dor torácica e dificuldade respiratória, além de dor de cabeça. Se ingerido, os sinais precoces mais comuns incluem náusea, vômitos, diarreia e câimbras. Sudorese e contração muscular são observadas na exposição através da pele. O contato com a mucosa ocular pode causar dor, lacrimejamento, visão embaçada, miose e sangramentos (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1993; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996; HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2003).

A elevada toxicidade aguda do metamidofós está associada com sinais típicos de síndrome colinérgica (KAO; FUKUTO, 1977). As manifestações clínicas mais comuns decorrentes da intoxicação aguda por metamidofós estão descritas no quadro 1.

**Quadro 1:** Manifestações clínicas da intoxicação aguda por metamidofós.

LOCAL	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	REFERÊNCIA
Sistema Nervoso Central	Cefaléia, tontura, distúrbios no sono, dificuldade de concentração, confusão mental, comprometimento da memória, ansiedade, agitação, sonolência, convulsões, tremores, disartria, torpor, ataxia, depressão respiratória, coma	Senanayake; Karalliede, 1987; Goh et al, 1990; Lung, 1990; International Programme on Chemical Safety, 1993; McConnell; Hruska, 1993; Cornwall et al, 1995;
Efeitos Muscarínicos	Gastrointestinais: náusea, vômito, cólicas abdominais, diarreia, defecação involuntária	Chan et al, 1996; Food and Agriculture Organization of the United

	Respiratórias: sangramento nasal, tosse, sibilância, dor torácica, rinorréia, broncoconstrição, broncorréia, dispnéia, edema pulmonar	Nations, 1996; Güven et al, 1997; McConnell et al, 1999; Chan, 2001; Hsieh et al, 2001; Wu et al, 2001; Hazardous Substances Data Bank, 2003; Pires; Caldas; Recena, 2005a; Pelegriño et al, 2006; Recena et al, 2006; Recena; Pires; Caldas, 2006; Khan et al, 2008; Sumi; Oode; Tanaka, 2008.
	Cardiovasculares: hipotensão, bradicardia, parada cardíaca	
	Oculares: dificuldade de acomodação visual, epífora, hiperemia da conjuntiva, miose, visão embaçada e perda de visão	
	Sistema urinário: diurese frequente e involuntária; incontinência urinária, disúria	
	Glândulas exócrinas: salivação (sialorréia), lacrimejamento e sudorese excessiva (diaforese) que pode provocar desidratação e hipovolemia, resultando em choque	
Efeitos Nicotínicos	Contração muscular involuntária, câimbras, fraqueza, mialgia, fasciculação dos músculos respiratórios e diafragma, podendo haver paralisia muscular dos músculos respiratórios seguida de morte	

A crise colinérgica aguda causada pela inibição da AChE pode levar à morte em minutos (HSIEH et al, 2001). A causa imediata de morte em síndromes colinérgicas por organofosforados resulta da falência respiratória (DAVIES; EDDLESTON; BUCKLEY, 2008). Contribuem para este fato a ação muscarínica de broncoconstrição e de aumento das secreções bronquiais, a ação nicotínica de paralisia dos músculos respiratórios e a ação do SNC de paralisia do centro respiratório (CARVALHO, 1993; PELEGRINO et al, 2006).

A intoxicação aguda por organofosforados tem grande importância epidemiológica para humanos e animais. Diversos casos de envenenamento por metamidofós têm sido observados em humanos.

Nos meses de junho e julho de 1987 ocorreu no nordeste da Nicarágua uma epidemia onde foram registrados 548 casos de envenenamento por agrotóxicos. Os casos foram registrados pelo departamento regional de epidemiologia através da notificação por telefone e dos dados consolidados dos 18 centros do Serviço Nacional de Saúde. O episódio epidêmico não foi resultado do aumento no número de registros

uma vez que o incremento no número de casos restringiu-se a esses dois meses, correspondendo ao período de plantio. Dos 548 casos notificados, 316 ocorreram em junho e 232 em julho. 77% dos casos foram decorrentes da exposição a metamidofós ou carbofuranos. 91% dos casos estavam relacionados à exposição ocupacional, 8% envolveram outros acidentes e 1% foi representado por tentativas de suicídio. A epidemia se restringiu aos casos de exposição ocupacional, com predomínio de intoxicações no sexo masculino (96%) e em fazendas de pequeno ou médio porte (82%). 41% dos casos de envenenamento por exposição ocupacional foram episódios relativamente severos reportados por hospitais (McCONNELL; HRUSKA, 1993).

Cornwall et al (1995) realizaram um estudo seccional com 103 agricultores de Kelantan, na Malásia, e identificaram que o metamidofós era utilizado em 96% das fazendas da região e que 1/3 dos trabalhadores acompanhados pelo estudo apresentavam dois ou mais sintomas de intoxicação por esse organofosforado.

Recena Pires e Caldas (2006) investigaram os casos de envenenamento ocorridos no Estado de Mato Grosso do Sul entre os anos de 1992 e 2002 em decorrência da exposição aguda a agrotóxicos. Durante esse período, 1355 casos de exposição acidental ou intencional foram notificados ao Centro Integrado de Vigilância Toxicológica da Secretaria Estadual de Saúde. Os inseticidas metamidofós, monocrotofós e malation foram os agrotóxicos mais frequentemente envolvidos nas intoxicações.

Recena et al (2006) realizaram estudo seccional em Culturama, distrito da cidade de Fátima do Sul, em Mato Grosso do Sul. A população do estudo foi composta por 618 agricultores do sexo masculino maiores de 18 anos residentes na zona rural de Culturama. Uma amostra de 250 agricultores foi selecionada para responder um questionário que avaliou, dentre outros aspectos, as atitudes e práticas relacionadas aos agrotóxicos e os sintomas após aplicação do produto. Mais de 90% dos agricultores relataram o uso de agrotóxicos que tinham o metamidofós como ingrediente ativo. Dentre os 250 entrevistados, 149 relataram sintomas adversos após o uso de agrotóxicos (intoxicados). Os sintomas mais frequentes foram cefaléia (51,7%), tontura (32,2%) e vômito (28,9%). Também foram relatados diarréia, perda de apetite, fadiga, visão embaçada, sensação de queimadura na face, coceira pelo corpo, manchas na pele e zumbido nos ouvidos.

Khan et al (2008) realizaram no Paquistão um estudo do tipo caso-controle onde foi avaliada a exposição de 55 agricultores aos agrotóxicos utilizados no cultivo de

tabaco. No estudo constatou-se que os agricultores estavam expostos a múltiplos compostos de cinco diferentes classes químicas, dentre eles o metamidofós. Sintomas consistentes com intoxicação por metamidofós e outros organofosforados foram reportados pelos agricultores e incluíram náuseas seguidas de vômito, dores de cabeça, fraqueza muscular, tosse, respiração curta e acelerada, erupções cutâneas, diarreia e problemas na visão.

Uma epidemia de envenenamento após a ingestão de alimentos contaminados com metamidofós foi descrita por Sumi, Oode e Tanaka (2008). O incidente ocorreu no Japão em janeiro de 2008 e afetou pelo menos dez pessoas. Um adulto e quatro crianças da mesma família foram envenenados após ingerirem no jantar alimentos contaminados com metamidofós. Trinta minutos após a refeição todos apresentaram náusea, vômito e diarreia, seguidos por miose, bradicardia e fraqueza. A criança mais nova, que tinha cinco anos de idade, apresentou o quadro mais grave, havendo perda de consciência e parada respiratória quatro horas após o jantar. Ela desenvolveu um quadro de excitação colinérgica, apresentando broncorréia, hipotensão e salivação excessiva, entrando em coma 16 horas após a ingestão.

Lung (1990) relatou uma epidemia de intoxicação devido ao consumo de vegetais contaminados com metamidofós ocorrida em Hong Kong, entre 26 de outubro e 07 de novembro de 1988. 179 casos de envenenamento foram atendidos no mesmo hospital após o consumo de um vegetal (couve-da-malásia). Os pacientes apresentavam um quadro clínico indicativo de síndrome colinérgica, e as manifestações clínicas mais comuns foram, em ordem decrescente, náusea, vômito, dor abdominal, diarreia, transpiração excessiva, sintomas de gripe, cefaléia, tontura, lacrimejamento, miose, fasciculação e fraqueza. A posterior análise do vegetal incriminado confirmou a contaminação por metamidofós.

Chan (2001) realizou um levantamento dos casos de envenenamento decorrentes do consumo de alimentos contaminados com metamidofós. Foi constatado que, em 1987, 64 pacientes necessitaram de atendimento médico após a ingestão de vegetais contaminados com metamidofós. 60% dos pacientes desenvolveram sintomas entre uma e três horas após a exposição. As manifestações mais comuns foram náusea (95%), vômito (86%), sintomas de gripe (75%), transpiração excessiva (67%), tontura (63%), dor abdominal (56%), diarreia (45%), cefaléia (27%), lacrimejamento (27%), fraqueza (25%) e miose (19%).

Em 1992, em Hong Kong, foram registrados 47 surtos de envenenamento causados por excesso de resíduos de metamidofós em vegetais, afetando 329 pessoas (CHAN et al, 1996).

Goh et al (1990) relataram 105 casos de intoxicação aguda após a ingestão de vegetais contaminados com metamidofós, profenofós e um ditiocarbamato. O surto ocorreu em Singapura entre 03 e 07 de dezembro de 1988 e os pacientes foram atendidos no Hospital Geral de Singapura. Os sintomas incluíram vômito (98,1%), dor abdominal (66,7%), diarreia (64,8%), fraqueza nos membros (64,8%), tontura (62,9%), náusea (37,1%), transpiração excessiva (31,4%), visão embaçada (30,5%), cefaléia (19,1%), sintomas de gripe (17,1%), nervosismo (16,2%), dor no peito (16,2%), lacrimejamento (15,2%), fasciculação muscular (12,1%), salivação (6,7%) e formigamento com perda de sensibilidade na face e extremidades (2,9%). Amostras de *Brassica alboglabra* (brócolis chinês), vegetal suspeito de ter causado a intoxicação, foram coletadas durante os dias 5 e 6 de dezembro e a análise identificou contaminação por metamidofós, profenofós e um ditiocarbamato.

Wu e colaboradores (2001) relataram três incidentes de intoxicação provocada pela ingestão de alimentos contaminados com metamidofós em Taiwan. O primeiro incidente ocorreu em um jovem casal após a ingestão de vegetais contaminados com metamidofós em dezembro de 1996. Uma hora após o almoço ambos apresentaram náusea, vômitos, diarreia e dor abdominal. Cinco horas depois o início dos sintomas sinais de hiper-estimulação colinérgica como cefaléia, tontura, salivação e transpiração excessivas, taquicardia, miose, broncorrêia e fraqueza muscular. O alimento consumido foi uma espécie de folha, *Gynura bicolor*, cuja análise posterior revelou contaminação por metamidofós. O segundo incidente ocorreu em um homem de 34 anos, que deu entrada em um hospital apresentando vômitos, diarreia líquida e dor abdominal após 30 minutos ingerir batata doce (*Ipomoea batatas*) no jantar. O paciente apresentou posteriormente incontinência urinária, salivação excessiva, cefaléia, tontura, miose, bradicardia, fasciculação muscular, motilidade intestinal aumentada e fraqueza muscular. A análise do alimento demonstrou a presença de metamidofós no alimento. O terceiro incidente ocorreu em uma mulher de 44 anos que desenvolveu náusea, vômitos, transpiração excessiva, diarreia e dor abdominal 1 hora e meia após ingerir repolho roxo contaminado com metamidofós no almoço. Os sintomas incluíram salivação excessiva, cefaléia, tontura, miose, taquicardia, hipertensão e fraqueza muscular. Todos os

pacientes apresentaram redução dos níveis plasmáticos e eritrocitários de AChE, leucocitose e hiperglicemia.

Senanayake e Karalliede (1987) identificaram uma síndrome colinérgica seguida por síndrome intermediária e polineuropatia retardada após a exposição à metamidofós, monocrotofós, dimetoato e fentiom. No Sri Lanka, 10 pacientes (3 exposições acidentais e 7 tentativas de suicídio) apresentaram sintomas colinérgicos agudos imediatamente após a exposição ao metamidofós. Inicialmente os 10 pacientes apresentaram perda de consciência, miose, fasciculação muscular e transpiração excessiva. Duas a três semanas após a intoxicação aguda os pacientes desenvolveram uma síndrome intermediária, apresentando paralisia dos músculos flexores do pescoço, dos músculos dos membros e dos nervos motores cranianos. A paralisia dos músculos respiratórios ocorreu entre 24 e 96 horas após a síndrome colinérgica. Pelo menos 06 pacientes demonstraram envolvimento do trato piramidal e um desenvolveu polineuropatia retardada. Três evoluíram para o óbito.

Estudos epidemiológicos também sugerem que a exposição a organofosforados está associada à desordens psiquiátricas, particularmente depressão e suicídio. A exposição a estes compostos pode levar ao desenvolvimento de depressão, um fator importante nos suicídios (STEENLAND et al, 1994; STEPHENS et al, 1995; AMR et al, 1997; FIEDLER et al, 1997; LONDON et al, 1997; VAN WIJNGAARDEN, 2003; LONDON et al, 2005; JAGA; DHARMANI, 2007; BESELER et al, 2008). Há evidências de que pacientes cronicamente expostos a organofosforados podem manifestar depressão e déficit cognitivo, sugerindo um incremento no risco de suicídio entre os expostos a esses compostos (PARRÓN; HERNÁNDEZ; VILLANUEVA, 1996; PELEGRINO et al, 2006).

Pires, Caldas e Recena (2005) avaliaram as notificações de intoxicações e tentativas de suicídio provocadas por agrotóxicos na microrregião de Dourados, Mato Grosso do Sul, entre 1992 e 2002, baseando-se nos registros do Centro Integrado de Vigilância Toxicológica da Secretaria de Saúde do Estado. Foram notificadas 475 ocorrências na microrregião de Dourados no período do estudo, correspondendo a 35% das intoxicações ocorridas no Estado. Destas, 261 intoxicações foram do tipo acidental ou ocupacional, 203 corresponderam a tentativas de suicídio e 11 eventos não tiveram causa determinada. 14 pessoas foram a óbito na microrregião em consequência de intoxicação acidental ou ocupacional e 63 pela ingestão voluntária.

No estudo de Pires, Caldas e Recena (2005), correlações significativas foram encontradas entre intoxicação e tentativa de suicídio. Os eventos ocorreram principalmente em indivíduos do sexo masculino entre 20 e 39 anos, refletindo diretamente a força de trabalho no campo e entre os períodos de safra. Os inseticidas organofosforados monocrotofós e metamidofós foram os principais agrotóxicos envolvidos (respectivamente 46% e 29%), independente do tipo de exposição.

McConnell et al (1999) relataram uma tentativa de suicídio onde um adolescente de 16 anos ingeriu aproximadamente 100 ml de metamidofós. No momento da admissão o paciente estava inconsciente, taquipnéico, sibilante e apresentava miose e fasciculação muscular. Posteriormente o paciente recobrou a consciência e apresentou salivação excessiva, visão embaçada, fraqueza generalizada, fasciculação, náusea e vômitos. O paciente foi liberado oito dias após a admissão, porém aproximadamente cinco dias depois da liberação o paciente apresentou dores nos glúteos, coxas e panturrilhas. Um dia após essas manifestações o adolescente apresentou fraqueza nas extremidades inferiores e dificuldade para se locomover. A neuropatia impediu o paciente de realizar diversas atividades motoras simples sem assistência.

Güven et al (1997) descreveram um caso onde um homem de 21 anos de idade injetou metamidofós, via endovenosa, em uma tentativa de suicídio. O paciente apresentou um quadro de intoxicação aguda, com náusea, vômito, perda de consciência, hipotensão, bradicardia, miose, salivação excessiva, fasciculação e agitação.

Hsieh et al (2001) descreveram um caso de tentativa de suicídio onde uma mulher de 20 anos de idade ingeriu intencionalmente uma grande quantidade de metamidofós, sendo enviada de imediato para um hospital regional em Taiwan. A paciente desenvolveu síndrome colinérgica, seguida de manifestações extrapiramidais, parkinsonismo e polineuropatia retardada. Os sintomas extrapiramidais apareceram no segundo dia após a ingestão do metamidofós. Inicialmente a paciente apresentou sinais de síndrome colinérgica como sonolência, miose, vômitos, diaforese, midríase e parada respiratória, havendo necessidade de ventilação mecânica. Seguiram-se a esse quadro distonia intermitente com redução da expressão facial (rosto com aspecto de máscara), rigidez no pescoço e membros, disartria, tremores, bradicinesia e acatisia, além de perda de coordenação motora. A paciente apresentou tremores nas mãos, bradicinesia, rigidez muscular e perda de coordenação mesmo após o tratamento e desaparecimento dos sintomas da síndrome colinérgica. A realização de eletromiografia revelou polineuropatia. Ainda nesse estudo, Hsieh et al (2001) revelaram que o metamidofós é

responsável por 9,6% dos casos de envenenamento por organofosforados atendidos nesse hospital regional.

Diversos estudos descrevem parkinsonismo em indivíduos após exposição aguda a agrotóxicos organofosforados (DAVIS; YESAVAGE; BERGER, 1978; BHATT; ELIAS; MANKODI, 1999; MÜLLER-VAHL; KOLBE; DENGLER, 1999; ARIMA et al, 2003; KAMEL; HOPPIN, 2004; HANCOCK et al, 2008). Apesar desse fato, a maioria desses estudos não foi capaz de discriminar especificamente se foi o metamidofós ou outro agrotóxico organofosforado que levou ao desenvolvimento dos sintomas (KAMEL; HOPPIN, 2004).

Hsieh et al (2001) relataram um caso onde uma paciente de 20 anos de idade ingeriu metamidofós em uma tentativa de suicídio e desenvolveu parkinsonismo em decorrência da intoxicação.

Hancock e colaboradores (2008) estudaram 319 casos de Parkinson, comparando os pacientes desse grupo com 296 controles, composto por 252 parentes próximos aos casos e os 44 restantes conjugues ou não parentes, a fim de determinar uma possível relação entre a exposição a agrotóxicos organofosforados e a doença de Parkinson. O estudo relacionou positivamente o uso de organofosforados à doença de Parkinson, uma vez que este agravo estava fortemente relacionado à exposição aos agrotóxicos organofosforados.

Arima et al (2003) descreveram um caso de parkinsonismo após severa síndrome colinérgica por exposição a organofosforados em uma mulher de 81 anos.

Bhatt, Elias e Mankodi (1999) descreveram cinco casos onde os pacientes apresentaram parkinsonismo após exposição a agrotóxicos organofosforados, indicando que a síndrome representa um efeito tóxico da exposição a esses compostos.

Müller-Vahl, Kolbe e Dengler (1999) descreveram uma tentativa de suicídio, onde um homem de 56 anos ingeriu uma quantidade desconhecida de um agrotóxico organofosforado, desenvolvendo uma sintomatologia compatível com quadro de síndrome colinérgica, seguida por parkinsonismo severo. O estudo levou à conclusão de que o parkinsonismo deve ser considerado uma seqüela de intoxicação aguda por organofosforados, mesmo após a reversão da síndrome colinérgica.

Em um estudo de caso, Davis, Yesavage e Berger (1978) relataram uma exposição ocupacional de um agricultor que aplicava agrotóxicos organofosforados em diferentes culturas com auxílio de avião. O paciente já havia apresentado inúmeros episódios de intoxicação aguda a organofosforados, estando cronicamente exposto a

esses compostos. Tais achados levantaram a hipótese de relação entre o parkinsonismo e organofosforados, onde a exposição ocupacional pode estar relacionada a um maior risco de desenvolvimento da doença.

Tais estudos fortalecem a evidência epidemiológica de que a exposição a agrotóxicos organofosforados deve ser considerada um fator de risco para a doença de Parkinson e o parkinsonismo.

### **b. Síndrome intermediária**

Outra manifestação da intoxicação por organofosforados é a síndrome intermediária, descrita como uma complicação tardia em alguns casos de severa intoxicação aguda (SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; RAY; RICHARDS, 2001). Acredita-se que a síndrome intermediária seja resultado da dessensibilização dos receptores colinérgicos em virtude da persistência da acetilcolina na junção neuromuscular (KAMEL; HOPPIN, 2004; JAYAWARDANE et al, 2008).

Os sintomas aparecem entre 24 e 96 horas após o quadro colinérgico desencadeado por organofosforados e duram vários dias. Observações clínicas incluem fraqueza e paralisia muscular que afeta predominantemente os músculos flexores do pescoço, musculatura dos membros e músculos respiratórios, podendo haver falência respiratória aguda (SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; PELEGRINO et al, 2006).

### **c. Polineuropatia retardada**

A polineuropatia retardada induzida por organofosforados (OPIDP - organophosphate-induced delayed polyneuropathy) é uma neuropatia motora distal decorrente da exposição a alguns organofosforados e caracterizada pela degeneração de axônios com desmielinização secundária nos sistemas nervosos central e periférico (SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; KELLNER; SANBORN; WILSON, 2000; VIDAIR, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; DOHERTY, 2006; PELEGRINO et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008).

A indução da neuropatia tardia parece estar associada à inibição de uma carboxiesterase neuronal, a esterase neuropática alvo (NTE - neuropathy target esterase) (SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; McCONNELL et al, 1999; VIDAIR, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; DOHERTY, 2006; PELEGRINO et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008). O mecanismo de inibição da NTE pelos compostos organofosforados envolve a fosforilação da NTE seguida pela perda do

potencial de reativação da enzima, onde a clivagem de um grupo ligado ao fósforo resulta em um resíduo fosforil ionizado. Acredita-se que esse resíduo fosforil liga-se à membrana neural, causando a neuropatia tardia (LOTTI et al, 1993; JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES). A inibição dessa enzima presente no sistema nervoso pode resultar em danos permanentes (JOHNSON, 1990; MOSER et al, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005).

O quadro neurológico subsequente à inibição da NTE ocorre entre 1 e 4 semanas após uma única exposição a compostos organofosforados, quando os sintomas clássicos da síndrome colinérgica já diminuíram ou desapareceram (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996; RAY, 1998; McCONNELL et al, 1999; LOTTI; MORETTO, 2005; PELEGRINO et al, 2006). Casos humanos dessa neuropatia têm sido observados majoritariamente como consequência de severa intoxicação aguda (RAY; RICHARDS, 2001). Após esse período de latência, pacientes expostos ao metamidofós podem manifestar a polineuropatia retardada (SENANAYAKE; JOHNSON, 1982; SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996; BURRUEL et al, 2000).

Os sintomas clássicos da polineuropatia retardada incluem dor, formigamento de pés e mãos, seguido de perda da sensibilidade, fraqueza muscular progressiva, espasmos, hiperreflexia e ataxia que pode evoluir para uma paralisia flácida, estendendo-se para as extremidades dos membros superiores e inferiores, com perda da coordenação motora. Mesmo quando a lesão nos nervos periféricos se estabiliza, danos à medula espinhal podem persistir com quadros espásticos, ataxia ou quadriplegia. (SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; CARVALHO, 1993; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996; MOSER et al, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; PELEGRINO et al, 2006). A recuperação pode levar anos após o início dos sintomas, podendo haver dano residual permanente (SENANAYAKE; JOHNSON, 1982; SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996).

Nos últimos anos o metamidofós tem sido causa frequente dessa neuropatia (SENANAYAKE; JOHNSON, 1982; SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; SUN et al, 1998; McCONNELL et al, 1999). A exposição humana excessiva ao metamidofós pode causar a polineuropatia retardada (SENANAYAKE; JOHNSON, 1982; INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY).

Um estudo realizado por Sun, Zhou e Xue (1998) revelou elevada incidência da polineuropatia retardada em decorrência da exposição ao metamidofós. No estudo, 104 indivíduos intoxicados pelo metamidofós foram selecionados de acordo com os registros médicos de dois hospitais da periferia de Su-Zhou e Nanjing, China. Através de entrevistas realizadas durante visitas domiciliares a todos os indivíduos selecionados para o estudo, foram identificados 14 casos (13,5%) de polineuropatia retardada, com sintomatologia típica. O risco de desenvolvimento de polineuropatia retardada foi positivamente associado com a severidade da intoxicação.

McConnell et al (1999) relataram uma tentativa de suicídio onde um adolescente de 16 anos ingeriu aproximadamente 100 ml de metamidofós. O paciente desenvolveu uma síndrome colinérgica e, aproximadamente duas semanas após a ingestão do metamidofós, polineuropatia retardada. Os sintomas incluíram dor, fraqueza muscular e ataxia, com perda da coordenação motora. A neuropatia impediu o paciente de realizar diversas atividades motoras simples sem assistência.

Hsieh et al (2001) descreveram um caso de tentativa de suicídio onde uma mulher de 20 anos de idade ingeriu intencionalmente uma grande quantidade de metamidofós, sendo enviada de imediato para um hospital regional em Taiwan. A paciente desenvolveu síndrome colinérgica, seguida de manifestações extrapiramidais, parkinsonismo e polineuropatia retardada. Os sintomas extrapiramidais apareceram no segundo dia após a ingestão do metamidofós. Após o quadro colinérgico agudo a paciente desenvolveu distonia intermitente com redução da expressão facial (rosto com aspecto de máscara), rigidez no pescoço e membros, disartria, tremores, bradicinesia e acatisia, além de perda de coordenação motora. Tremores nas mãos, bradicinesia, rigidez muscular e perda de coordenação também foram observados mesmo após o tratamento e desaparecimento dos sintomas da síndrome colinérgica. A realização de eletromiografia revelou polineuropatia. Ainda nesse estudo, Hsieh et al (2001) revelaram que o metamidofós é responsável por 9,6% dos casos de envenenamento por organofosforados atendidos nesse hospital regional.

#### **4.6.3 Estudos experimentais de neurotoxicidade do metamidofós**

##### ***Ratos***

Organismos jovens são frequentemente mais sensíveis aos efeitos tóxicos dos agrotóxicos. Os efeitos neurotóxicos da inibição da colinesterase (ChE-) por agrotóxicos

são um modelo particular para a avaliação de risco da saúde humana devido a ampla exposição de crianças. Esse estudo avaliou as diferenças na susceptibilidade relacionadas à idade do aldicarbe e do metamidofós. Comparações foram feitas entre ratos machos e fêmeas pré-desmame (PND17), pós-desmame (PND27) e adultos (PND70). Foi realizado estudo agudo após administração oral. A sensibilidade foi quantificada por (1) determinação da máxima dose tolerada (MDT); (2) medidas da inibição de ChE cerebral e sanguínea; e (3) avaliação neuro-comportamental usando desfechos que são conhecidos como sendo sensíveis indicadores da exposição a acetilcolinesterase. As curvas dose-resposta, após a exposição ao metamidofós, para a maioria dos desfechos de ratos pré-desmame e adultos foram similares. A indução da inibição de ChE pelo alicarb foi rapidamente reversível em todas as idades, enquanto com metamidofós, a atividade da enzima foi recuperada mais rapidamente nos jovens. A maioria das alterações comportamentais foi recuperada por 24h com cada agrotóxico. Os resultados indicam que (1) **agrotóxicos inibindo ChE não são os mesmos com relação a sensibilidade relativa dos jovens**; (2) **as diferenças relacionadas a idade foram refletidas na MDT e no grau de inibição da ChE**; e (3) as diferenças relacionadas a idade nas medidas neuro-comportamental depende do agrotóxico e do desfecho avaliado (MOSER, 1999).

Distúrbios neurológicos agudo têm sido descritos em intoxicações por organofosforados. Estudos experimentais têm reportado necrose neuronal, particularmente em animais experimentais. O objetivo do estudo foi investigar se a exposição de ratos a agentes organofosforados causam alterações morfológicas em regiões específicas do cérebro. Os animais receberam 2,5 ou 5,0 mg/kg de metamidofós uma vez por semana durante 2 meses e foram decapitados 2 meses e 7 dias após a administração da droga. Foi observado atrofia na camada do córtex parietal sem perda neuronal em regiões específicas do cérebro. Isso pode ser devido à atrofia ou ramificações neuronais perdidas, mas sem perda neuronal (PELEGRINO et al, 2006).

Em outro estudo, grupos de ratos Fisher 344 receberam 4 níveis de doses de metamidofós através da dieta por 13 semanas, incluindo o controle. Para cada estudo, 12 ratos/sexo/nível de dieta foram testados usando a bateria observacional funcional (FOB), medida automática da atividade e observações clínicas detalhadas, com metade dos animais perfundidos a termo para avaliação microscópica do tecido neural e muscular. Grupos separados de animais (6/sexo/nível de dieta) foram usados para medir o efeito de cada tratamento sobre a atividade colinesterásica do plasma, dos eritrócitos

(RBC) e do cérebro. Os resultados mostraram que as medidas da atividade ChE foram um índice de exposição consistentemente mais sensíveis e ajudaram na interpretação dos achados. Todos os **achados neuro-comportamentais** relacionados ao tratamento foram atribuídos à **toxicidade colinérgica**, ocorrendo somente em níveis que produziram mais de 20% de inibição da atividade ChE plasmática, RBC e cerebral. Os testes neuro-comportamentais não forneceram evidência de toxicidade cumulativa adicional após 8h de tratamento. Os resultados da atividade motora e do FOB não alteraram as conclusões e não reduziu o NOAEL neuro-comportamental. Os resultados apoiam as observações clínicas do screening para o potencial neurotóxico dos organofosforados e o padrão geral de mais que 20% de inibição da atividade ChE cerebral para neurotoxicidade colinérgica (SHEETS, 1997).

Trinta ratas Wistar fêmeas foram expostas a 0, 1, 10 e 30 ppm (gestação: 0; 0,1; 0,9 e 2,5 mg/kg/dia; lactação: 0; 0,2; 2,4 e 7,9 mg/kg/dia) de metamidofós (72,3 % a 74,2 % de pureza), através da dieta, do dia 0 de gestação até o dia 21 de lactação para avaliação da **neurotoxicidade do desenvolvimento**. A atividade da colinesterase foi medida no sangue e no cérebro, em filhotes nos dias 4 e 21 de lactação e nas mães no 21º dia de lactação. Não foram observados óbitos ou sinais clínicos durante a gestação ou lactação. A média de peso e de ganho de peso não foi afetada pelo metamidofós, durante a gestação e lactação em nenhum nível da dieta. O consumo de alimentos foi maior durante a lactação na maior dose, mas sem afetar os níveis mais baixos de dieta. Para as fêmeas da geração F0 a atividade da colinesterase, avaliada no 21º dia de lactação foi inibida no cérebro em 8% na dose 1,0 ppm, e na dose mais alta em 77%, 84% e 83% para plasma, eritócito e cérebro, respectivamente. Na geração F1, não foram observados óbitos ou sinais clínicos atribuídos ao tratamento nas doses avaliadas, em ambos os sexos. O peso dos filhotes na dose de 30 ppm foi reduzido de 9 a 12%, para machos e fêmeas, quando comparados ao controle. O início da separação prepucial foi atrasada na maior dose, mas não ocorreu nas demais. A abertura de vagina não foi afetada em qualquer dose e a constrição pupilar foi evidente em todos os grupos tratados. Foi medida a “atividade no labirinto em forma de oito” para avaliar efeitos do tratamento e notou-se que nas doses de 10 e 30 ppm ocorreu a redução do desempenho, para ambos os sexos. A atividade da colinesterase foi diminuída nas doses média e alta, nas avaliações realizadas no dia 4 e 21 de lactação, sendo na primeira análise (dia 4 de lactação) observado o decréscimo de 20% no eritrócito para a dose média; e de (12%)

plasma, (41%) eritrócitos e (14%) cérebro na maior dose. No dia 21, em 10 ppm o metamidofós causou inibição da atividade da ChE no plasma (machos) e no cérebro (machos e fêmeas). Em filhotes na dose de 30 ppm houve diminuição em para os três parâmetros avaliados (de 34% a 37% para machos e de 40% a 53% para fêmeas). Não foram encontradas alterações na necropsia dos animais. O NOAEL materno e para recém-nascidos foi fixado em 0,2 mg/kg/dia (SHEETS; LAKE, 2002) (Qualidade do estudo: US-EPA-FIFRA, Guideline 83-6 (OPPTS 870.6300) Health Canadá PMRA DACO n° 4.5.12)

Quatro grupos de 24 ratos Sprague-Dawley de cada sexo receberam dose única de 0, 1, 3 ou 9 mg/kg metamidofós (74% de pureza) por gavagem. Em um grupo adicional de 18 ratos por sexo foi administrado 0, 0,3 e 0,7 mg/kg. Os animais foram observados durante 15 dias após o tratamento para monitoramento de sinais clínicos e peso corporal. Foram realizados testes comportamentais (bateria observacional funcional, teste de atividade motora e locomotora e testes habituais). As atividades colinesterásicas plasmáticas, eritrocitárias e cerebrais foram medidas. Sinais clínicos de envenenamento colinérgico ocorreram no dia do tratamento, mas desapareceram dentro de 5 dias nos animais da dose de 3 e 9 mg/kg. Foi encontrada uma diminuição dose dependente da atividade colinesterásica em todos os tecidos. No teste comportamental revelou redução da atividade e outros sinais de envenenamento colinérgico em todos os ratos tratados, mas que se recuperaram 7 ou 14 dias após a dose. A análise bioquímica mostrou aumento da atividade aminotransferase aspartato sérica, diminuição da concentração de triglicérides no soro, aumento da atividade da alanina aminotransferase e aumento da concentração de colesterol. O NOAEL para a inibição da atividade colinesterásica eritrocitária e cerebral foi fixado em 0,3 mg/kg e para neurotoxicidade (excluindo a resposta colinérgica) foi fixado em 9 mg/kg (SHEETS, 1993 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2002).

Quatro grupos de 18 ratos Fischer 344 por sexo receberam dieta contendo metamidofós (76% de pureza) nas seguintes concentrações: 0, 1, 12 ou 59 ppm, igual a 0, 0,067, 0,79 e 4,3 mg/kg/dia para machos e 0, 0,074, 0,9 e 4,9 mg/kg/dia para fêmeas por 90 dias. Os animais foram observados durante após o tratamento para monitoramento de sinais clínicos, consumo de ração e peso corporal. Foram realizados testes comportamentais (bateria observacional funcional, teste de atividade motora e locomotora e testes habituais) e exames oftálmicos. As atividades colinesterásicas plasmáticas, eritrocitárias e cerebrais foram medidas. O consumo de ração aumentou

nas fêmeas expostas a 59 ppm, e o ganho de peso corporal reduziu nos machos na mesma concentração. Os testes comportamentais e as observações clínicas revelaram redução dose relacionada da atividade e outros sinais de envenenamento colinérgico em ratos nos animais expostos a 12 e 59 ppm. Diminuição significativa dose-dependente (>20%) da atividade colinesterásica foi vista em todos os tecidos nas duas maiores concentrações. O Noael para inibição da atividade colinesterásica cerebral e eritrocitária foi fixado em 1 ppm (0,067 mg/kg) e para neurotoxicidade foi fixado em 59 ppm (4,3 mg/kg) (SHEETS, 1994, 1996 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2002).

### ***Galinhas***

Estudos *in vivo* e *in vitro* avaliaram a inibição da esterase neuropática alvo (NTE) e o envelhecimento, i.e. perda do potencial de reativação, metamidofós grau técnico racêmica e analítica e isômeros L-(–) and D-(1) (*O,S*-dimethyl phosphoramidothioate). Para os estudos *in vitro*, a proteína microsomal de fígado induzido por fenobarbital foi isolada de embriões de galinha e o ensaio da inibição NTE forma realizados usando homogeneizado de cérebro de embrião tratado com 1 ou 5 mM metamidofós (com ou sem enzimas metabólicas); para estudos *in vivo*, galinhas receberam 30 a 35 mg/kg de metamidofós injetado no músculo peitoral. A NTE envelhecida em galinhas foi avaliada 24 h mais tarde ou após 30 min a 1h de incubação *in vitro* usando solução de fluoreto de potássio (KF) reativador. Metamidofós técnico produziu alto nível significativo de inibição NTE relacionado a idade que metamidofós analítico ou isômeros ópticos isolados. *In vivo*, metamidofós técnico produziu 61% de inibição de NTE total com 18% de NTE envelhecido e 43% de NTE não envelhecido; as galinhas que receberam grau analítico produziram em média inibição de NTE 6% envelhecido, 52% não envelhecido e 58% de inibição de NTE total. Os resultados do metamidofós analítico 1mM *in vitro* foram inibição 5% de NTE envelhecido, 54% NTE não envelhecido e 59 % total. O grau de NTE envelhecido obtido em ambos *in vivo* e *in vitro* para os isômeros D-(1) e L-(–) isolados nunca excedeu o obtido usando grau analítico. Esses dados indicam que impurezas do metamidofós podem contribuir para o potencial de OPIDN (KELLNER et al, 2000).

O estudo foi realizado com o intuito de avaliar os efeitos neurotóxicos advindos de uma única dose de Metamidofós. Galinhas KSU White Leghorn foram expostas a 30 mg/kg de metamidofós (74% de pureza) + atropina dia 0 e 21 (n=10); 50,63 mg/kg +

atropina dia 0 e 21 (n=12 animais e 8 animais não tratados) e 500 mg/kg de TOCP (controle positivo) (n=10 animais) via oral (gavagem). O período de observação foi de 34 dias. A DL50 oral foi determinada para 48 h como sendo 50,63 mg/kg e para 86 h como sendo 29,75 mg/kg, sendo determinada como dose para a avaliação de neurotoxicidade a concentração de 30 mg/kg p.c. O grupo controle não apresentou sinais de neurotoxicidade e o exame histopatológico não evidenciou efeitos degenerativos superiores aos normalmente encontrados. No controle positivo 7/10 galinhas desenvolveram instabilidade (fraqueza na perna). Dentre esses animais, os sinais encontrados foram de fraqueza progressiva a paralisia, eventualmente estes animais perdiam a capacidade de sentar ou se moverem. Dentre os animais que receberam o metamidofós ocorreram óbitos na dose de 30 mg/kg e na dose de 50,63mg/kg. Os sinais clínicos observados foram: para a dose de 30 mg/kg - salivagem excessiva, dispnéia, diarreia, cianose e postura curvada, desaparecendo em 24h, entre os dias 21 e 23 alguns animais tornaram a apresentar sinais de salivagem excessiva, dispnéia, diarreia, cianose e postura curvada para lateral e para frente, levando 2 animais a óbito nos dias 21 e 22 de estudo. Como os dados brutos apresentados apenas apontam o total de animais com os efeitos, não é possível saber se são os mesmos que apresentaram alterações no início do estudo. Já na dose de 50,63mg/kg, os animais apresentaram os mesmos sinais apontados anteriormente, desaparecendo até o dia 2. Dois animais morreram durante esse período. Nos dias 7 e 8, um animal tornou a apresentar sinais de dispnéia, andar inseguro, postura curvada para frente e lateralmente, cianose, indo a óbito no dia 8. No dia 21 todos os animais sobreviventes apresentaram alguns dos efeitos de Salivagem, dispnéia, diarreia, ou postura curvada, no dia 22, um animal ainda permanecia com andar inseguro, e postura curvada. Baseado nesses achados não foi possível determinar o NOEL, estudos com utilização de doses ainda menores poderiam ter sido desenvolvidos, uma vez que com a dose de 30 mg/kg/peso foi suficiente para desencadear alterações neuro-comportamentais. (LAMB et al, 1979)

**Tabela 8:** Resumo dos estudos de neuropatia tardia em galinhas expostas ao metamidofós (IPCS, 2002)

Espécie/Número	Período de exposição/Via	Dose (mg/kg peso corporal/dia)	Efeitos	NOAEL	Referência
Galinhas Leghorn branca / 5-23	Dose única / gavagem	0, 200 ou 400 mg/kg de metamidofós racemico, 100, 200 ou 400 mg/kg de R(+) enantiomero, ou 400 mg/kg de S(-) enantiomero. 0 ou 50 mg/kg metamidofós racemico, 50, 100 ou 400 mg/kg de R(+) enantiomero, ou 50 ou 200 mg/kg de S(-) enantiomero. Tri- <i>ortho</i> -cresyl fosfato foi usado como controle positivo nas doses de 100 ou 300 mg/kg	As aves apresentaram sinais de toxicidade aguda colinérgica, neurotoxicidade tardia, andar anormal e inibição da NTE.	Para neurotoxicidade tardia foi 200 mg/kg para meta racemico; 100 mg/kg para R(+) enantiomero; e > 400 mg/kg para S(-) enantiomer.	Flucke, 1990; Flucke & Eben, 1990 apud IPCS, 2002
Galinhas Leghorn branca / 5 grupos de 16 galinhas	5 dias por semana por 90 dias/gavagem	0, 0,3, 1 ou 3 mg/kg de metamidofós grau técnico (76% pureza)	Sonolência, emagrecimento, inibição da atividade de colinesterase plasmática, inibição da atividade NTE.	3 mg/kg para neurotoxicidade tardia	Sachsse et al., 1987 apud IPCS 2002.
Galinhas Leghorn branca / 30	3 semanas / oral	200 mg/kg metamidofós grau técnico (74% de pureza). Cinco galinhas receberam dose única de 375 mg/kg tri- <i>ortho</i> -cresol fosfato.	10 galinhas morreram. Animais tratados apresentaram sinais de toxicidade colinérgica aguda e perda de peso	200 mg/kg para neurotoxicidade tardia	Flucke & Kaliner, 1985 apud IPCS, 2002
Galinhas Leghorn branca / 9 por grupo	Aplicação única na crista	0 ou 200 mg/kg metamidofós grau técnico (73% de pureza). Nove galinhas receberam dose única de 100 mg/kg tri- <i>ortho</i> -cresol fosfato.	Perda de peso e inibição máxima da atividade de NTE cerebral na dose de 20 mg/kg		Flucke & Eben, 1988 apud IPCS, 2002
Galinhas Leghorn branca / 4 grupos de 16-26 galinhas	Aplicação 5 dias/semana durante 13 semanas na crista	0, 0,5, 1,5 ou 4,5 mg/kg metamidofós grau técnico (76% de pureza).	Alguns animais foram sacrificados em condições moribundas. Mortes, sinais colinérgicos agudos, diminuição do peso e inibição da atividade colinesterásica plasmática.	4,5 mg/kg para neurotoxicidade tardia	Bomann et al., 1992 apud IPCS, 2002

Fonte: Adaptado do IPCS, 2002.

## 5. Aspectos regulatórios – a situação internacional do registro do metamidofós

Na tabela 9 observa-se que o metamidofós está com uso restrito na Austrália, Canadá, EUA, Panamá e Tailândia. Está banido na China, Costa do Marfim, Japão, Kuwait, Indonésia, Paquistão, e tem uso proibido na Indonésia, Índia, Samoa, Sri Lanka. Na União Européia está fora do Anexo I da Diretiva 91/414/EEC da União Européia (Inclusão expirou em 30/06/2008).

**Tabela 9:** Situação Internacional do registro dos produtos a base de metamidofós

<b>País</b>	<b>Status Regulatório</b>
Austrália	Uso restrito
Canadá	Uso restrito
China	Banido
Paquistão	Banido
EUA	Uso restrito
Costa do Marfim	Banido
Indonésia	Proibido
Índia	Proibido
Japão	Banido
Kuwait	Banido
Panamá	Uso restrito
Samoa	Proibido
Sri Lanka	Proibido
Tailândia	Uso restrito
Outros	Incluído na lista PIC (Convenção de Roterdam), pela alta toxicidade aguda e preocupação relativa ao impacto à saúde humana, principalmente, nos cenários de exposição dos países em desenvolvimento Fora do Anexo I da Diretiva 91/414/EEC da União Européia.

## 6. Conclusões e recomendações

De acordo com a Lei brasileira 7.802/89 um agrotóxico se enquadra nas proibições de registro, quando há ausência de métodos para desativação do produto, na ausência de antídoto ou tratamento eficaz, quando provoca distúrbios hormonais ou danos ao aparelho reprodutor; quando são teratogênicos, carcinogênicos ou mutagênicos. Além disso, também quando se apresenta mais perigoso para o homem do que em animais.

O metamidofós possui vários efeitos adversos para a saúde humana. Além disso, é um organofosforado extremamente tóxico (Classe I) e vem sendo utilizado em

culturas não autorizadas ou com restrições, resultando em limites de resíduos acima do permitido, conforme vem sendo demonstrado pelo PARA em diversas avaliações sucessivas (ANVISA, 2009).

Os alimentos em que são encontrados resíduos de metamidofós são ingeridos crus e fazem parte dos hábitos alimentares da população brasileira. Estudos mostraram a problemática da presença de resíduos de metamidofós em alimentos, indicando que a exposição humana a esse organofosforado é um grave problema de saúde pública.

Diversos estudos demonstram que o metamidofós expõe trabalhadores na atividade agrícola e que as intoxicações e óbitos estão relacionados às características de toxicidade desse princípio ativo. Além disto, diversas questões de ordem social (baixa escolaridade, baixa renda) e biológica (idade e gênero) são fatores que aumentam a vulnerabilidade e a gravidade das intoxicações por esse organofosforado.

Nos estudos de toxicidade aguda os sintomas de intoxicação observados foram típicos de depressão na atividade da acetilcolinesterase. Houve morte de animais onde foram afetados fígado, baço, rins, órgãos genitais e pulmões. Manifestações de discrasia sanguínea e efeitos colinérgicos, nicotínicos e no SNC foram observados em praticamente todos os estudos aportados.

Os estudos levantados na base do IPCS (2002) corroboram esses achados. Os sinais clínicos de toxicidade foram indicativos de inibição da colinesterase, incluindo salivação, lacrimejamento, rinorréia, tremores severos, espasmos, dispnéia e apatia. Os achados da necropsia incluem, entre outros, pulmões distendidos, congestão e edema dos pulmões, fígado escuro, baço desigual, hidronefrose e hemorragia do linfonodo cervical.

Para os efeitos sub-agudos ou subcrônicos nos estudos aportados observou-se alteração do peso absoluto dos órgãos dos animais testados; tais como tireóide, coração, pulmão, pâncreas, fígado, rins, adrenais, baço, timo, testículos e ovários. A queda na concentração da AChE foi observada em todos os grupos tratados com as diferentes doses do produto.

Apesar dos poucos estudos apresentados sobre a carcinogenicidade do metamidofós é importante salientar que a associação de exposição a agrotóxicos e a indução de câncer é difícil pela insuficiência de modelos sensíveis e específicos para esse fim. Isso pode ser o motivo pelo qual muitas substâncias que se mostram carcinogênicas para animais e apresentam diversos indicadores de mutagenicidade, não recebem a classificação de carcinogênicos para humanos por falta de resultados

consistentes de estudos epidemiológicos e experimentais (BEDOR, 2008). Também vale salientar que a mutação no DNA é a alteração genuína do processo de carcinogenicidade. Apesar de poucos, há dados na literatura que apontam que o metamidofós induz micronúcleos e troca entre cromátides irmãs em células de camundongos e ratos, assim como induz aberrações cromossômicas nessa última espécie. Em baixas doses esse composto induziu uma alta porcentagem de metáfases com aberrações cromossômicas.

O metamidofós é imunotóxico como demonstrado nos resultados dos estudos aportados na ANVISA e em artigos científicos. Alterações de peso de órgãos imuno-relacionados foram encontradas em animais de laboratório expostos ao metamidofós. Aumento de gânglios linfáticos em cães e diminuição do peso do timo e baço em ratos dos machos foram encontrados.

Além desses efeitos macroscópicos, também foram observadas diversas modificações em populações de células imunológicas envolvidas nas respostas do tipo celular e humoral em estudos *in vitro* e *in vivo*. Dentre essas alterações encontram-se diminuição do número de linfócitos e monócitos, aumento do número de granulócitos dos neutrófilos, alterações funcionais como menor capacidade de formação de anticorpos, diminuição da proliferação celular no timo e aumento da proliferação celular na medula óssea.

O metamidofós possui elevado potencial de imunossupressão uma vez que provoca a diminuição de diversas populações linfocitárias e inibe a formação de anticorpos. A imunossupressão causada pela exposição ao metamidofós é um efeito imunotóxico muito grave já que pode aumentar a susceptibilidade a doenças infecciosas e o desenvolvimento de neoplasias malignas. Esse efeito pode aumentar o risco de desenvolvimento de câncer mesmo durante a exposição a substâncias cujo potencial carcinogênico não parecia muito relevante inicialmente. Em paralelo ao potencial efeito imunossupressor, o metamidofós induz efeitos genotóxicos que podem iniciar a produção de células tumorais.

Os estudos realizados em animais de laboratório (ratos e cães) expostos ao metamidofós mostraram alterações no ovário, útero, testículos, epidídimo, tireóide e adrenais. Os níveis dos hormônios tireoideanos (cães e ratos) e corticóides (ratos) também foram modificados após a exposição ao metamidofós. Os eixos de regulação hormonal Hipotálamo-Pituitária-Tireóide (HPT) e Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) são claramente modulados durante a exposição ao metamidofós. Esses dois eixos

regulam funções fisiológicas importantes como o desenvolvimento do cérebro, funções cardiovasculares, respiratórias, crescimento ósseo, produção e metabolismo de hormônios esteróides, metabolismo de açúcares, lipídios e proteínas, inibição de processos inflamatórios e alguns processos imunológicos.

A desregulação endócrina provocada pelo metamidofós em estudos experimentais deve ser valorizada, apesar de poucos estudos epidemiológicos terem sido encontrados na literatura. A escassez de estudos epidemiológicos para esse tipo de efeito tóxico pode ser explicada segundo o *International Programme on Chemical Safety* (2002) por:

(a) A exposição na vida adulta pode ser compensada pelos mecanismos homeostáticos que podem mascarar efeitos precoces, dificultando, conseqüentemente a interpretação ou realização de estudos epidemiológicos com indivíduos expostos. Além disso, os efeitos ou limites de segurança determinados em estudos conduzidos com indivíduos adultos não podem ser extrapolados para crianças. A criança não é um adulto pequeno, o metabolismo e as susceptibilidades são diferenciados em relação aos adultos;

(b) a exposição aos desreguladores endócrinos durante o período de “programação” do sistema endócrino pode resultar em alterações permanentes da função ou da sensibilidade a sinais estimulatórios e inibitórios. Esse fato destaca que, mesmo quando a exposição ocorre em períodos curtos da vida do indivíduo, se ela ocorrer em momentos críticos do desenvolvimento, como a vida intrauterina, infância ou puberdade, as alterações podem ser irreversíveis. Mesmo cessada a exposição, os efeitos podem ser permanentes;

(c) a relação intrínseca do sistema endócrino com outros sistemas fisiológicos pode fazer com que os efeitos de desregulação endócrina ocorram em diferentes tecidos, dificultando a predição desse tipo de efeito;

(d) outro problema em avaliar os impactos à saúde dos desreguladores endócrinos em humanos é que alguns desses químicos contribuem para a incidência de doenças que possuem determinação multifatorial (infertilidade, câncer e déficits comportamentais). Dessa maneira os estudos epidemiológicos têm limitações frente à escassez de dados em grupos humanos vulneráveis. A capacidade diagnóstica, os sistemas de informação e os indicadores, de modo geral, não são devidamente adequados às situações de risco e perigo a que estão submetidos grupos populacionais devido à presença de contaminantes no ambiente e nos alimentos.

A desregulação endócrina é um efeito adverso muito preocupante do ponto de vista da saúde pública e ambiental, pois pode desencadear efeitos seriamente debilitantes e até a morte. Por possuírem o potencial de interferir com a reprodução, já que os eixos de regulação hormonal estão integrados, os desreguladores endócrinos podem alterar, entre outros, o número de indivíduos de uma determinada população. Esses efeitos podem repercutir nos ecossistemas e, por conseguinte, nas populações humanas.

A desregulação endócrina, efeitos genotóxicos em espermatozóides e diversos outros fatores podem levar a alterações no desempenho reprodutivo de machos e fêmeas.

A função reprodutiva pode ser influenciada por substâncias capazes de atuar no sistema endócrino, interferindo na interação de hormônios naturais com seus receptores, na síntese dos hormônios naturais, ou na remoção dos mesmos da circulação. Substâncias que interferem com a regulação hormonal do indivíduo podem ocasionar problemas para o desenvolvimento, reprodução e comportamento sexual de animais e seres humanos.

No ser humano, o aumento na incidência de infertilidade, neoplasia testicular e anormalidades estruturais do sistema reprodutivo podem estar relacionados à exposição a agrotóxicos capazes de interferir no sistema endócrino.

Um estudo realizado com o metamidofós (BURRUEL et al, 2000) mostrou que esse organofosforado é capaz de causar danos na morfologia dos espermatozóides o que pode interferir com a fertilidade. Além dos efeitos sobre os espermatozóides, o metamidofós causou danos sobre o desenvolvimento, isto é, efeitos adversos no organismo em formação após a exposição a substâncias químicas antes da concepção, durante o desenvolvimento pré-natal, pós-natal até a maturação sexual, dos animais. Os efeitos mais pronunciados foram embriotoxicidade, embriofetalidade, aparecimento de malformações, alteração sobre os marcos físicos do desenvolvimento e sobre o comportamento dos filhotes (IPCS, 2002). Juntos esses efeitos indicam que o metamidofós pode influenciar no desenvolvimento de animais.

O principal mecanismo de neurotoxicidade do metamidofós decorre da inibição da acetilcolinesterase, enzima essencial para a transmissão normal do impulso nervoso. Essa inibição ocorre de modo semelhante tanto em insetos (espécies alvo) quanto em mamíferos (espécies não-alvo). O fato de o metamidofós apresentar alta toxicidade *in*

*vivo* como inibidor da AChE e fraca atividade *in vitro*, indica que os modelos de estudos toxicológicos mais sensíveis para esse princípio ativo são aqueles realizados *in vivo*.

A intoxicação aguda por metamidofós induz uma série de efeitos deletérios sobre a saúde de humanos e animais. Podem ocorrer manifestações menos graves como vômito, diarreia, sudorese excessiva, salivação, lacrimejamento, miose, broncoconstrição, cólicas abdominais, bradicardia, taquicardia, dor de cabeça, tontura, cansaço, ansiedade, confusão mental e visão turva. Em casos mais graves pode ocorrer convulsão, depressão do centro respiratório, fasciculação dos músculos respiratórios com paralisia muscular, parada respiratória, coma e morte.

Esses efeitos agudos foram observados em seres humanos expostos ao metamidofós pela ingestão de alimentos contaminados a esse organofosforado, em exposições ocupacionais e acidentais e em tentativas de suicídio. Estudos experimentais realizados *in vitro* e em animais de laboratório expostos ao metamidofós corroboram os efeitos encontrados em humanos. Os estudos experimentais *in vivo* e *in vitro* foram realizados em diversas espécies de aves e mamíferos, conforme descrito nos estudos da literatura científica e estudos aportados na ANVISA.

Esses fatos ratificam os perigos da exposição ao metamidofós para humanos e animais, tanto no nível individual (clínico) como epidemiológico (saúde pública).

Desordens psiquiátricas como depressão, que pode levar ao suicídio, déficit cognitivo, e parkinsonismo estão correlacionadas com a exposição à organofosforados. O desenvolvimento de depressão pode levar ao suicídio. O metamidofós, um organofosforado, tem potencial para induzir esses efeitos, havendo estudos que correlacionam positivamente a exposição ao metamidofós com déficit cognitivo, desordens psiquiátricas e desenvolvimento de parkinsonismo.

Os efeitos neurotóxicos crônicos provocados pela exposição ao metamidofós manifestam-se principalmente através da neuropatia tardia ou polineuropatia retardada. A exposição ao metamidofós causa frequentemente esse quadro neuropático e a recuperação pode levar anos, podendo haver dano residual permanente.

Os sintomas desse grave quadro neurológico incluem dor, formigamento de pés e mãos, perda da sensibilidade, fraqueza muscular progressiva, espasmos, hiperreflexia, ataxia e paralisia flácida que pode se estender para os membros superiores e inferiores, com perda da coordenação motora. Mesmo quando a lesão nos nervos periféricos se estabiliza, danos à medula espinhal podem persistir com quadros espásticos, ataxia ou quadriplegia.

Pelo conjunto de efeitos nocivos do metamidofós à saúde humana, especialmente relacionado à neurotoxicidade, imunotoxicidade e sobre o sistema endócrino, reprodutor e desenvolvimento embriofetal, o metamidofós deve ser proibido na atividade agrícola e em outras que possibilite a exposição humana.

## 7. Referências bibliográficas

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. **Basic immunology: functions and disorders of the immune system**, Elsevier, 2008

ABU-QARE, A. W.; RAHMAN, A. A. A.; KISHK, A. M.; ABOU-DONIA, M. B. Placental transfer and pharmacokinetics of a single dermal dose of [14C]methyl parathion in rats. **Toxicological Sciences**, v. 53, p. 05-12, 2000.

ADER, R.; COHEN, N. Conditioning of the immune response. **Neth J Med**, v. 39, n. 3-4, p. 263-73, 1991.

AGUILAR, A.; RAGA, J. A. The Striped Dolphin Epizootic in the Mediterranean Sea. **Ambio**, v. 22, n.8, p. 524-528, dic 1993.

AHLBOM, J.; FREDRIKSSON, A.; ERIKSSON, P. Exposure to an organophosphate (DFP) during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain muscarinic receptors and behavior in adult mice. **Brain Res**, v. 677, p. 13-19, 1995.

ALBORES, A.; ORTEGA-MANTILLA, G.; SIERRA-SANTOYO, A.; CEBRIÁN, M.E.; MUÑOZ-SÁNCHEZ, J.L.; CALDERÓN-SALINAS, J.V.; MANNO, M. Cytochrome P450 2B (CYP2B)-mediated activation of methyl-parathion in rat brain extracts. **Toxicol Lett**, v.124, n. 1-3, p. 1-10, 2001.

ALMEIDA, J. A.; SOARES, D. M. Análise de variáveis sociais na questão do uso dos agrotóxicos: o caso da fumicultura. **Ciência Ambiental**, v. 3, p. 85-104, 1992.

ALON, M.; ALON, F.; NAUEN, R.; MORIN, S. Organophosphates' resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an ace1-type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterase. **Insect Biochem Mol Biol**, v. 38, n. 10, p. 940-949, 2008.

ALVES FILHO, J. L. **Uso de agrotóxicos no Brasil: controle social e interesses corporativos**. São Paulo: Annablume: FAPESP, 2002.

AMR, M. M.; HALIM, Z.S.; MOUSSA, S. S. Psychiatric disorders among Egyptian pesticide applicators and formulators. **Environ Res**, v. 73, p. 193-199, 1997.

ANTONIOUS, G.F.; SNYDER, J.C. Residues and half-lives of acephate, methamidophos, and pirimiphos-methyl in leaves and fruit of greenhouse-grown tomatoes. **Bulletin of Environmental Contaminants and Toxicology**, v.52, p.141-148, 1994.

APCEL. Asia-Pacific Centre for Environmental Law. **Soil quality: maximum allowable limits of pesticide residue in the soil – TCVN 5941, 1995**. Disponível em: <sunsite.nus.edu.sg/apcel>. Acesso em: 15 jun. 2004.

ARAÚJO, A. C. P. Importância da Análise de Resíduos de Praguicidas para Ações de Saúde Pública. Tese de Doutorado, USP. 235p. 1998.

ARAUJO, A. C.; NOGUEIRA, D. P.; AUGUSTO, L. G. Impacto dos praguicidas na saúde: estudo da cultura de tomate. **Revista Saúde Pública**, v. 34, n. 3, p. 309-13, 2000.

ARAUJO, A. J. et al. Multiple exposure to pesticides and impacts on health: a cross-section study of 102 rural workers, Nova Friburgo, Rio de Janeiro State, Brazil. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 115-130. 2007.

ARIMA, H.; SOBUE, K.; SO, M.; MORISHIMA, T.; ANDO, H.; KATSUYA, H. Transient and reversible parkinsonism after acute organophosphate poisoning. **J Toxicol Clin Toxicol**, v. 41, n. 1, p. 67-70, 2003.

ARKOOSH, M. R.; STEIN, J. E.; CASILLAS, E. 1994. Immunotoxicology of an anadromous fish: Field and laboratory studies of B-cell mediated immunity. In: STOLEN, J. S., FLETCHER, T. C. (Eds.). **Modulators of fish immune responses: Models for Environmental Toxicology/Biomarkers**. Immunostimulators. v. 1, SOS Publications, Fair Haven, NY. p. 33-48.

ATHANASOPOULOS P. E.; KYRIAKIDIS, N. V.; STAVROPOULOS, P. A study on the environmental degradation of pesticides azinphos methyl and parathion methyl. **J Environ Sci Health B**. v. 39, n. 2 p. 297-309, 2004.

BENATTO, A. Sistemas de informação em saúde nas intoxicações por agrotóxicos e afíns no Brasil : situação atual e perspectivas. Dissertação de Mestrado. Campinas, 2002. UNICAMP.

BRASIL. ANVISA. Divulgado resultado do monitoramento de agrotóxicos em alimentos. Brasília, 23 de abril de 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/DIVULGA/NOTICIAS/2008/230408.htm> Acessado em 5/6/2009.

BRASIL. ANVISA. Divulgado resultado do monitoramento de agrotóxicos em alimentos. Brasília, 15 de abril de 2009. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/150409\\_1.htm](http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/150409_1.htm) . Acessado 5/6/2009.

Brasil. SISCOMEX.In: **Perfil Nacional da Gestão de Substâncias Químicas**. Comissão Nacional de Segurança Química – CONASQ. Disponível em: <http://www.opas.org.br/saudedotrabalhador/Arquivos/Sala248.pdf> Acessado em 8/6/2009.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Memória de Reunião – **Reavaliação Toxicológica do Ingrediente Ativo Metamidofós**. Data da última reunião: 18 de abril de 2002. Reavaliação estabelecida pela Resolução nº 06 de 14/10/1999 e Resolução nº 07 da mesma data. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/reavaliacao/metamidofos.pdf>. Acesso em 8 de junho de 2009.

BABADZANOV, A. C. Studies of the Influence of Pesticides on the Health of Rural Populations: Actual Problems of Hygiene of an Agri-Industrial Complex. Tashkent: Collection of Scientific Works, 1988. p.18-21.

BAKER VA. Endocrine disrupters--testing strategies to assess human hazard. **Toxicol In Vitr**, v. 15, n. 4-5, p. 413-419, 2001.

BARIS, D.; ZAHM, S.H. Epidemiology of lymphomas. **Curr Opin Oncol**. v. 12, n. 5, p. 383-394, 2000.

BARNETT, J.M.; MCGOWAN, J.J.; GENTRY, G.A. Arabinosylthymine: suppressor of hamster immunoglobulin M formation during primary immune response. **Infect Immun**. v. 28, n. 1 p. 160-162, 1980

BARRETO, C.A; RIBEIRO, H. **Agricultura e meio ambiente em Rio Verde (GO)**. Ed. InterfaceHS. Rev. Gestão Integrada em Saúde do trabalho e Meio Ambiente, 2006. Disponível em: <[http://www.interfacehs.sp.senac.br/images/artigos/110\\_pdf.pdf](http://www.interfacehs.sp.senac.br/images/artigos/110_pdf.pdf)>. Acesso em: 07 mai 2009.

BATISTA G. C. **Curso de Especialização por tutoria à distância – Toxicologia e Impacto Ambiental de inseticidas e acaricidas**. – Módulo 8. Brasília: Universidade Federal de Viçosa/ABEAS, 1999.

BAUMGARDNER, J.N.; SHANKAR, K.; KOROURIAN, S.; BADGER, T.M.; RONIS M.J. Undernutrition enhances alcohol-induced hepatocyte proliferation in the liver of rats fed via total enteral nutrition. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 293, n. 1, p. G355-64, 2007.

BAUTISTA, A. R.; MOREIRA, E. L. T. **Avaliação da irritação / corrosão cutânea a curto prazo, de Metamidophos técnico Agripec, para coelhos.** Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994b.

BAUTISTA, A. R.; MOREIRA, E. L. T. **Avaliação da toxicidade aguda do Metamidophos técnico Agripec, por via cutânea, para ratos. (DL<sub>50</sub>).** Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994a.

BAUTISTA, A. R.; MOREIRA, E. L. T.; SALES, L. A. **Avaliação da toxicidade aguda do Metamidophos técnico Agripec, por via oral, para ratos.** Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1993.

BEACH, J. R.; SPURGEON, A.; STEPHENS, R.; HEAFIELD, T.; CALVERT, I. A.; LEVY, L. S.; HARRINGTON, J. M. Abnormalities on neurological examination among sheep farmers exposed to organophosphorous pesticides. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 53, p. 520-525, 1996.

BELL, E. M.; HERTZ-PICCIOTTO, I.; BEAUMONT, J. J. A case-control study of pesticides and fetal death due to congenital anomalies. **Epidemiology**, v. 12, p. 148-156, 2001.

BELLONI-FORTINA; PIASERICO, S.; CAFORIO, A.L.; ABENI, D.; ALAIBAC, M.; ANGELINI, A.; ILICETO, S.; PESERICO, A. Immunosuppressive level and other risk factors for basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma in heart transplant recipients. **Arch Dermatol**. v. 140, p. 1079–1085, 2004.

BERLIN, A.; DEAN, J.H.; DRAPER, M.H.; SMITH, E.M.B.; SPREAFICO, F. **Immunotoxicology**. Dordecht: Martinus Nijhoff, 1987.

BESELER, C.L.; STALLONES, L.; HOPPIN, J. A.; ALAVANJA, M. C.; BLAIR, A.; KEEFE, T., et al. Depression and pesticide exposures among private pesticide applicators enrolled in the agricultural health study. **Environ Health Perspect**, v. 116, p. 1713-1719, 2008.

BHATT M. H.; ELIAS, M. A.; MANKODI, A. K. Acute and reversible parkinsonism due to organophosphate pesticide intoxication: five cases. **Neurology**, v. 52, n. 7, p. 1467-1471, 1999.

BJØRLING-POULSEN, M.; ANDERSEN, H. R.; GRANDJEAN, P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. **Environmental Health**, v. 7, 2008.

BLOM, H.J.; TANGERMAN, A. Methanethiol metabolism in whole blood. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 111, p. 606–610, 1988.

BOUCHARD, M.; CARRIER, G.; BRUNET, R. C.; DUMAS, P.; NOISEL, N. Biological monitoring of exposure to organophosphorus insecticides in a group of horticultural greenhouse workers. **Ann. Occup. Hyg**, v. 50, n. 5, p. 505-515, 2006.

BRASIL. EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997.

BRASIL. EMBRAPA - **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Monitoramento do Risco Ambiental de Agrotóxicos: princípios e recomendações**. Documento 42. ISSN 1516-4691 Dezembro, 2004. Disponível em: [http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos\\_42.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos_42.pdf). Acesso em 8/5/2009.

BRASIL. ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Resolução- RE nº 74, de 21 de junho de 2002*. Brasília, D.O.U. 31/12/02. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/regs/resl/2002/54/\\_02rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/regs/resl/2002/54/_02rdc.htm)> . Acesso em 8 de junho de 2009.

BRASIL. ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de Vigilância de Populações Expostas a Agrotóxicos**. Brasília, Organização Pan-Americana da Saúde, 1997.

BRASIL. IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA**. Brasília, IBGE, 2002. Disponível em [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br), em 20/09/2005.

BRASIL. MMA – MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Informativo do Ministério do Meio Ambiente, Número 15, 2000. [acessado 2001 Ago 20]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/ascom/imprensa/marco2000/informma15.html>.

BULL, D.L. Fate and efficacy of acephate after application to plant and insects. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.27, n.2, p.268-272, 1979.

BULL, D. e HATHAWAY, D. **Pragas e Venenos – Agrotóxicos no Brasil e no Terceiro Mundo** — Rio de Janeiro, Editora Vozes, 1986 (235 p.).

BURRUEL, V. R.; RAABE, O. G.; OVERSTREET, J. W.; WILSON, B. W.; WILEY, L. M. Paternal effects from methamidophos administration in mice. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**v.165, p. 148-157, 2000.

BURRUEL, V. R.; RAABE, O. G.; OVERSTREET, J. W.; WILSON, B. W.; WILEY, L. M. Paternal Effects from Methamidophos Administration in Mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 165, p. 148-157, 2000.

BUTLER, A.M.; MURRAY, M. Biotransformation of parathion in human liver: participation of CYP3A4 and its inactivation during microsomal parathion oxidation. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 280, n. 2, p. 966-973, 1997.

CASTELO BRANCO, M. Avaliação do conhecimento do rótulo dos inseticidas por agricultores em uma área agrícola do Distrito Federal **Horticultura. Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 570-573, julho-setembro 2003.

CHAMBERS, J. E.; CARR, R. L. Effects of paraoxon, *p*-nitrophenol, phenyl saligenin cyclic phosphate, and phenol on the rat. **Toxicology**. 105. p. 291-304. 1995.

CALDAS, E., SOUZA, L. C. Assessment of the chronic risk for ingestion of pesticide residues in the Brazilian diet. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 5, p.529-537,out. 2000.

CALIFORNIA DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION (CDPR). Evaluation of methyl parathion as a toxic air contaminant. Part C. **Human Health Assessment**, 1999. TAC 99-02C. Disponível em: <[www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/methylpa/exsumoct.pdf](http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/methylpa/exsumoct.pdf)>. Acesso em 05 mai. 2009.

CALIFORNIA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (CEPA). **Methamidophos – volume I: Risk Characterization Document**. Medical Toxicology Branch, 2005.

CAMACHO, P.M.; DWARKANATHAN, A.A. Sick euthyroid syndrome. What to do when thyroid function tests are abnormal in critically ill patients. **Postgrad Med**, v. 105, n.4, p.215-219, 1999.

CAMARA, A. L.; BRAGA, M. F.; ROCHA, E. S.; SANTOS, M. D.; CORTES, W. S.; CINTRA, W. M.; ARACAVALA, Y.; MAELICKE, A.; ALBUQUERQUE, E. X. **Neurotoxicology**, n. 18, p. 589–602, 1997.

CARVALHO, L. C. **Acute and chronic neurologic sequelae by organophosphate pesticides acute poisoning in rural Brazil**. Dissertação [mestrado]. Mestrado em Epidemiologia, London School of Hygiene and Tropical Medicine, University of London. 1993.

CASALE, G. P.; VENNERSTROM, J. L.; BAVARI, S.; WANG, T. L. Inhibition of Interleukin 2 Driven Proliferation of Mouse CTLL2 Cells, By Selected Carbamate and Organophosphate Insecticides and Conengers of Carbaryl. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v.15, n.2-3, p. 199-215, 1993.

CASTRO, V. L.; CHIORATO, S. H. Effects of separate and combined exposure to the pesticides methamidophos and chlorothalonil on the development of suckling rats. **Int. J. Hyg. Environ Health**, v. 210, p. 169-176, 2007.

CASTRO, V. L.; CHIORATO, S. H.; PINTO, N. F. Biological monitoring of embryo-fetal exposure to methamidophos or chlorothalonil on rat developmental. **Vet Hum Toxicol**, v. 42, n. 6, p. 361-365, 2000a.

CASTRO, V. L.; CHIORATO, S. H.; PINTO, N. F. Relevance of developmental testing of exposure to methamidophos during gestation to its toxicology evaluation. **Toxicology Letters**, v. 118, p. 93-102, 2000b.

CHAN, T. Y. K. Vegetable-borne methamidophos poisoning. **J Tox Clin Tox**, v. 39, n. 4, p. 337, 2001.

CHAN, T. Y. K.; CRITCHLEY, J. A. J. H. Insecticide Poisoning with Organophosphates and Carbamates. **HK Pract**. v. 20, p. 604-613, 1998.

CHAN, T. Y.; CRITCHLEY, J. A.; CHAN, A. Y. An estimate of the incidence of pesticide poisoning in Hong Kong. **Vet Hum Toxicol**, v. 38, n. 5, p. 362-364, 1996.

CLARKE, M.; OXMAN A.D. Cochrane Reviewers' Handbook 4.1. **The Cochrane Collaboration Review Manager Oxford**, Inghaterra, 2000.

CLEMENT, J.G. Hormonal consequences of organophosphate poisoning. **Fundam Appl Toxicol**, v. 6, n. 2, p. S61-S77, 1985.

COCKER, J.; MASON, H. J.; GARFITT, S. J.; JONES, K. Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides. **Toxicology Letters**, v. 134, p. 97-103, 2002.

CORNWALL, J. E. et al. Risk assessment and health effects of pesticides in tobacco farming in Malasia. **Health Policy Plan.**, v. 10, n.4, p. 431-437, 1995.

CORTEZ-ESLAVA, et al. 2001; Metabolic activation of three arylamines and two organophosphorus insecticides by coriander (*Coriandrum sativum*) a common edible vegetable. **Toxicol Lett**. v.15, n. 125, p. 39-49. 2001.

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

CROSSLEY, J.; TUTASS, H.O. **Metabolism of Monitor insecticide by rats**. Unpublished report from Chevron Chemical Co. Submitted to WHO by Bayer/Tomen, 1969.

CRUMP, M.; GOSPODAROWICZ, M.; SHEPHERD, F.A. Lymphoma of the gastrointestinal tract. **Semin Oncol**. v. 26, n. 3, p. 324-337, 1999.

CUNNINGHAM, M. L., MATTHEWS H.B. Cell proliferation as determining factor carcinogenicity of chemicals: studies with mutagenic carcinogens and mutagenic noncarcinogens. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 82/83, p 9-14. 1995.

DAVIES, J. O. J.; EDDLESTON, M.; BUCKLEY, N. A. Predicting outcome in acute organophosphorus poisoning with a poison severity score or the glasgow coma scale. **QJM**, v. 101, n. 5, p. 371-379, 2008.

DAVIS, K. L.; YESAVAGE J. A.; BERGER, P. A. Single case study. Possible organophosphate-induced parkinsonism. **J Nerv Ment Dis**, v. 166, n. 3, p. 222-225, 1978.

DE GUISE, S.; MARTINEAU, D.; BELAND, P.; FOURNIER, M. Possible Mechanisms of Action of Environmental Contaminants on St. Lawrence Beluga Whales (*Delphinapterus leucas*). **Environmental Health Perspectives**, v. 103, sup. 4, p. 73-77, 1995.

DERR, R.F.; DRAVES, K. Methanethiol metabolism in the rat. Res. **Communications Chem. Pathol. Pharmacol**, v. 39, n. 3, p. 503–506, 1983.

DESCOTES, J. **An Introduction to immunotoxicology**. Taylor and Francis, 1994

DE WILDT, S.N.; KEARNS, G.L.; LEEDER, J.S.; VAN DEN ANKER, J.N. Cytochrome P450 3A: ontogeny and drug disposition. **Clin Pharmacokinet**, v. 37, n. 6, p. 485-505, 1999.

DOHERTY, J. D. Screening pesticides for neuropathogenicity. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2006, n. 3, 2006.

DUNIER, M.; SIWICKI, A. K. Effects of Pesticides and Other Organic Pollutants in the Aquatic Environment on Immunity of Fish: A Review. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 3, p. 423-438, 1993.

EATON, D.L.; KLAASSEN, C.D.. In: Casarett & Doull's Toxicology. **Principles of toxicology**. Ed: Klaassen CD. Mc Graw-Hill: 2001.

ECOBICHON, D. J. Toxic effects of pesticides. In: KLAASSEN, C.D. **CASSET & DOUL'S: Toxicology** – The basic science of poisons. 8. ed. EUA. International edition, 1996. p. 643-689.

ECOBICHON, D. J. Toxic Effects of Pesticides. In: KLAASSEN, C. D. (ed.). **Casarett and Doll's toxicology: the basic science of poisons**. New York: 2001. p. 769-84.

EDWARDS, F. L.; TCHOUNWOU, P. B. Environmental toxicology and health effects associated with methyl parathion exposure – a scientific review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 2, n. 3, p. 430-441, 2005.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (EPA). **Integrated Risk Information System: Methamidophos**. 2007. Disponível em <<http://www.epa.gov/NCEA/iris/subst/0250.htm>>. Acesso em 07 mai 2009.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (EPA). **Pesticide Environmental Fate On Line Summary: Methamidophos**. U.S. EPA Environmental Fate and Effect Division, Washington, DC. 1989.

ESKENAZI, B.; BRADMAN, A.; CASTORINA, R. Exposures of children to organophosphate pesticides and their potential adverse health effects. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, s. 3, p. 409-419, 1999.

ETO, M.; OKABE, S.; OZOE, Y.; MAEKAWA, K. Oxidative activation of O,S-dimethyl phosphoramidothiolate. **Pestic Biochem Physiol**, n. 7, p. 367-377, 1977.

EVANS, W.E.; RELING, M.V. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. **Science**, v. 286, n. 5439, P.487-491, 1999.

E X T O X N E T. **Movement of pesticides in the environment**. Revised; 9/1993. [http://pi.ace.orst.edu/search/quicksearch.jsp?extox=true&RW\\_QSTR=SOIL+PESTICIDES+CONTAMINATION](http://pi.ace.orst.edu/search/quicksearch.jsp?extox=true&RW_QSTR=SOIL+PESTICIDES+CONTAMINATION). Acesso em 8/5/2009.

E X T O X N E T: **Extension Toxicology Network: Pesticide Information Profiles: Methamidophos**. Disponível em: <<http://extoxnet.orst.edu/pips/methamid.htm>>. Acesso em: 28 maio 2009.

EXTOXNET - Extension Toxicology Network. Cholinesterase inhibition. *Toxicology Information Briefs*. Revised September 1993. Disponível em: [<http://extoxnet.orst.edu/tibs/cholines.htm>].

FAIZIEV, H. T. Problemas de higiene de la protección del medio y la salud de la población em aldeas de la estepa hambrienta. **Gigiena i Sanitaria**, v. 7, p. 63-65, 1989.

FAKHR, I.M.I.; ABDEL-HAMID, F.M.; AFIFI, L.M. *In vivo* metabolism of <sup>32</sup>P-‘Tamaron’ in the rat. **Isotope Radiat. Res**, v. 14, p. 49–55, 1982.

FALK, J. W.; CARVALHO, L. A.; SILVA, L. D.; PINHEIRO, S. **Suicídio e Doença Mental em Venâncio Aires**: Conseqüência do uso de agrotóxicos organofosforados? Porto Alegre, 1999. (Mimeografado); Relatório de pesquisa.

FARIA, N.M.X; FASSA, A.G.; FACHINNI, L.A. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. **Ciênc. Saúde Coletiva**. v.12 no.1: 25-38, 2007.

FARIA, N. M.; FACCHINI, L. A.; FASSA, A. G.; TOMASI, E. Processo de Produção Rural e Saúde na Serra Gaúcha: um estudo descritivo. **Caderno de Saúde Pública**, v. 16, n. 1, p. 115-28, 2000.

FARIA, N. M.; FACCHINI, L. A.; FASSA, A. G.; TOMASI, E. Estudo transversal sobre a saúde mental de agricultores da Serra Gaúcha (Brasil). **Revista Saúde Pública**, v. 33, n. 4, p. 391-400, 1999.

FARM CHEMICALS HANDBOOK. Meister Publishing Co., Willoughby, OH. 1994.

FARM CHEMICALS HANDBOOK. MEISTER, R.T. Willoughby .Meister Publishing, 1995.

FERREIRA, A.P. et al. Impactos de pesticidas na atividade microbiana do solo e sobre a saúde dos agricultores. **Revista Baiana de Saúde Pública**. v.30 n.2, p.309-321 jul./dez. 2006.

FERRER, A. Intoxicación por plaguicidas. **An Sist Sanit Navar**. v. 26, s. 1, p. 155-171, 2003.

FEUER, G. Action of pregnancy and various progesterones on hepatic microsomal activites. **Drug Metab Rev**, v.9, n. 1, p. 147-169, 1979.

FIEDLER, N.; KIPEN, H.; KELLY-MCNEIL, K.; FENSKE, R. Long-term use of organophosphates and neuropsychological performance. **Am J Ind Med**, v. 32, p. 487-496, 1997.

FREITAS, B.M. & IMPERATRIZ-FONSECA, VL. **A importância econômica da polinização**. Mensagem Doce.v.80, p.44-46, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Decision Guidance Documents – Methamidophos**. Roma, 1996.

FREED, V. H. **Dinâmica química; Transporte y comportamiento de sustancias químicas en el ambiente**. Universidade Estatal de Oregon : Corvallis, EUA,1979.

GALLO, M. A. AND LAWRYK, N. J. **Organic phosphorus pesticides**. In Handbook of Pesticide Toxicology. Hayes, W. J., Jr. and Laws, E. R., Jr., Eds. Academic Press, New York, NY, 1991.p. 5-3.

GALLOWAY, T.; HANDY, R. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. **Ecotoxicology**, v. 12, n. (1-4), p. 345-363, 2003.

GARCIA, E. G. **Segurança e saúde no trabalho rural: a questão dos agrotóxicos**. São Paulo: MTE/FUNDACENTRO, 2001.

GARRY, V.F.; TARONE, R.E.; KIRSCH, I.R.; ABDALLAH, J.M.; LOMBARDI, D.P.; LONG, L.K.; BURROUGHS, B.L.; BARR, D.B.; KESNER, J.S. Biomarker correlations of urinary 2,4-D levels in foresters: genomic instability and endocrine disruption. **Environ Health Perspect**, v. 109, n. 5, p. 495-500, 2001.

GHISELLI, G. **Remediação de Solos contaminados com Pesticidas Organoclorados utilizando Reagente de Fenton**. Dissertação (Mestrado). Mestrado em Química, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil, 2001.

GIBSON, G.G.; SKETT, P. **Introduction to drug metabolism**. 2nd Ed. Stanley Thornes Publishers: 1994

GODINHO, A. F.; VASSILIEFF, I. **DL<sub>50</sub> oral em ratos**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994a.

GODINHO, A. F.; VASSILIEFF, I. Sensibilidade **dérmica em cobaias**. . Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994b.

GOH, K. T.; YEW, F. S.; ONG, K. H.; TAN, I. K. Acute organophosphorus food poisoning caused by contaminated green leafy vegetables. **Archives of Environmental Health**, v. 45, n 3, p. 180-184, 1990.

GOLDMAN, J.M.; LAWS, S.C.; BALCHAK, S.K.; COOPER, R.L.; KAVLOCK, R.J. Endocrine-disrupting chemicals: prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid activity in the female rat. A focus on the EDSTAC recommendations. **Crit Rev Toxicol**, v. 30, n. 2, p. 135-196, 2000.

GOSS, D.W. Screening Procedure for Soils and Pesticides for Potential Water Quality Impacts. **Weed Technology**, v.6, p.701-708,1992.

GRASMAN, K. A. Developmental Immunotoxicity of Environmental Contaminants in Fish-Eating Birds of the Great Lakes. In: Conference, Chemically-induced Alterations in the Developing Immune System: The Wildlife/Human Connection, Racine, Wisconsin, 10-12 feb. 1995.

GRASMAN, K. A.; SCANLON, P. F.; FOX, G. A. Immunological Biomarkers and Environmental Contaminants in Fish-Eating Birds of the Great Lakes. IN: Society of Environmental Toxicology and Chemistry Conference, Denver, nov. 1994.

GRAY, L.E. JR. Xenoendocrine disrupters: laboratory studies on male reproductive effects. **Toxicol Lett**, v. 102-103, p. 331-335, 1998.

GÜVEN, M.; UNLÜHIZARCI, K.; GÖKTAŞ, Z.; KURTOĞLU, S. Intravenous organophosphate injection: an unusual way of intoxication. **Hum Exp Toxicol**, v. 5, n. 5, p. 279-280, 1997.

HADLEY, M. **Endocrinology**. Upper Saddle River, NJ:Prentice Hall: 2000.

HANCOCK, D. B.; MARTIN, E. R.; MAYHEW, G. M.; STAJICH, J. M.; JEWETT, R.; STACY, M. A.; SCOTT, B. L.; VANCE, J. M.; SCOTT, W. K. Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: a family-based case-control study. **BMC Neurol**, v. 28, n. 8, 2008.

HANTSON, P.; HAINAUT, P.; VANDER STAPPEN, M. Regulation of body temperature after acute organophosphate poisoning. **Can J Anaesth**. v. 43, p. 755, 1996.

HARNLY, M.; McLAUGHLIN, R.; BRADMAN, A.; ANDERSON, M.; GUNIER, R. Correlating agricultural use of organophosphates with outdoor air concentrations: a particular concern for children. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 9, p. 1184-1189, 2005.

HASSAL, A. K. **The biochemistry and uses of pesticides**: structure, metabolism, mode of action and uses in crop protection. 2. ed. Weiheim: VCH, 1990.

HAYES, R. H. et al. **Cronic Feeding / Oncogenicity Study of technical Methamidophos (Monitor) to Rat.** 13 november, 1984 from Miles Inc. Mobay Corporation Environmental Health Research Corporate Toxicology Department. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1984a, Addendum 1994.

HAYES, R. H. et al. **One-year feeding Study of Methamidophos (Monitor) in dog.** Submitted a US EPA MRID nº 00147938 e Cal-EPA nº 315-061. record No.019916, 26 June 1984 (original study), 25 may 1994 from Miles Inc – Agriculture Division Toxicology. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1984c, Addendum 1994.

HAYES, R.H. et al. **Oncogenicity Study of Methamidophos Technical (Monitor) on mice.** Submitted a US EPA MRID nº 00147937 e a California Environmental Protection Agency Department of Pesticide Regulation, Medical Toxicology Branch Document nº 315-059, Record nº 019913, Augusto 6, 1984 (original Report) e Marc 28, 1994 (report addendum) Miles Inc – Agriculture Division Toxicology. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1984b. Addendum Jones, 1994.

HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK. **National Library of Medicine,** Bethesda, MD. Denver: Micromedix, 1990. CD-ROM.

HAZARDTEXT(TM) - **Hazard Management. Metamidophos.** Disponível em: <http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=HAZARDTEXT%28TM%29+-+Hazard+Management.+methamidophos&btnG=Pesquisar&meta=> Acessado em 8/5/2009.

HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK (HSDB). **Methamidophos.** 2003. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~1eIbj:1>>. Acesso em: 20 mai 2009.

HEIMANN, K.G. **Evaluation for acute dermal toxicity.** Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1981.

HERBOLD, B. **Micronucleus test on the mouse to evaluate for mutagenic effect.** Bayer AG – Institute of Toxicology. . Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1981.

HERBOLD, B. **Salmonella/Microsome test to Evaluate for point Mutation.** Bayer AG – Institute of Toxicology. Não Publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1980.

HERMANOWICZ, A; KOSSMAN, S. Neutrophil function and infectious disease in workers occupationally exposed to phosphoorganic pesticides: role of mononuclear-derived chemotactic factor for neutrophils. **Clin Immunol Pathol**. v.;33, p.13–22, 1984.

HIXSON, D. W. **Eye and dermal irritation of Methamidophos**. . Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1980.

HONG, X.; QU, J.; WANG, Y.; SUN, H.; SONG, L.; WANG, S.; WANG, X. Study on the mechanism of trichlorfon-induced inhibition of progesterone synthesis in mouse leydig tumor cells (MLTC-1). **Toxicology**, v. 5, n.23, p. 51-58. 2007.

HSIEH, B. H.; DENG, J. F.; GER, J.; TSAI, W. J. Acetylcholinesterase inhibition and the extrapyramidal syndrome: a review of the neurotoxicity of organophosphate. **Neurotoxicology**, v. 22, n. 4, p. 423-427, 2001.

HUSSAIN, M. A. Anticholinesterase Properties of Methamidophos and Acephate in Insects and Mammals. **Bull Environ Contam Toxicol**, n. 38, p. 131-138, 1987.

HOLLINGWORTH, R. M. **Insecticides biochemistry and physiology**. Wilkinson, C. F., ed.; New York: Plenum, 1976, p. 431.

HSDB - Hazardous Substances Databank (ceased updating 2002). Disponível em <<http://ds.datastarweb.com/ds/products/datastar/sheets/hsdb.htm>>. Acessado em 8 de junho de 2009.

HUSSAIN, M. A. Anticholines-terase Properties of Methamidophos and Acephate in Insects and Mammals. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 38, p. 131-138, 1987.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L;GONÇALVES, LS; JONG, D.D; FREITAS, B.M.; CASTRO, M.S.; ALVES DOS SANTOS, I.;VENTURIERI, G. As abelhas e o desenvolvimento rural no Brasil. **Mensagem Doce**, n.80, p.3-18, 2005.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors**, 2002.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Methamidophos - Health And Safety Guide**, n. 79, 1993.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Methamidophos**: JMPR 1976. 1976. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v076pr17.htm>> Acesso em 04 mai. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Pesticide residues in food**: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. 2002. Disponível em < <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/2002pr10.htm#1.2.4>> Acesso em 04 mai. 2009.

IRIS - Integrated Risk Information System. Disponível em: <http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=190045>. Acessado em 5/8/2009.

JAGA, K.; DHARMANI, C. The interrelation between organophosphate toxicity and the epidemiology of depression and suicide. **Rev Environ Health**, v. 22, p. 57-73, 2007.

JAMESON, R. R.; SEIDLER, F. J.; SLOTKIN, T. A. Nonenzymatic functions of acetylcholinesterase splice variants in the developmental neurotoxicity of organophosphates: chlorpyrifos, chlorpyrifos oxon, and diazinon. **Environmental Health Perspectives**. v. 115, n. 1, 2007.

JAYAWARDANE, P.; DAWSON, A. H.; WEERASINGHE, V.; KARALLIEDDE, L.; BUCKLEY, N. A.; SENANAYAKE, N. The spectrum of intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning: a prospective cohort study from Sri Lanka. **PLoS Medicine**, v. 5, n. 7, p. 1143-1153, 2008.

JOHNSON, M. K. Organophosphates and delayed neuropathy: is NTE alive and well? **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 102, 385-399, 1990.

JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES (JMPR). **Pesticide residues in food** - Methamidophos. Institute of Food Safety and Toxicology, Søborg, Denmark, 2002. Disponível em: < <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/2002pr10.htm#0.0> >. Acesso em: 20 maio 2009.

JUCHAU, M.R. Mechanisms of drug biotransformation reactions in the placenta. **Fed Proc** v. 31, p.48-51, 1972.

KALOYANOVA-SIMEONOVA. Interaction of pesticides. In Health effects of combined exposure to chemicals in work and communities environments. In: **Regional Office for Europe**, p.165-195, 1983.

KAMANYIRE, R.; KARALLIEDDE, L. Organophosphate Toxicity and Occupational Exposure. **Occupational Medicine**, v.54, p. 69-75, 2004.

KAMEL, F.; ENGEL, L. S.; GLADEN, B. C.; HOPPIN, J. A.; ALAVANJA, M. C. R.; SANDLER, D. P. Neurologic Symptoms in licensed private pesticide applicators in the agricultural health study. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 07, 2005.

KAMEL, F.; HOPPIN, J. A. Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 9, 2004.

KAO, T. S.; FUKUTO, T. R. Metabolism of O,S-dimethyl propionyl- and hexanoylphosphoramidothioate in the house fly and white mouse. **Pestic. Biochem. Physiol.** n. 7, p. 83-95, 1977.

KARABAY, N. U, OGUZ, G. M. Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos. **Genet Mol Res.** v. 4, n. 4. p. 653-662, 2005.

KARALLIEDDE, L; SENANAYAKE, N. Organophosphorus insecticide poisoning: a review. **Br J Anaesth.** v.63, p.736-750, 1989.

KASAGAMI, T.; MIYAMOTO, T.; YAMAMOTO, I. Activated transformations of organophosphorus insecticides in the case of non-AChE inhibitory oxons. **Pest Manag Sci**, n. 58, p. 1107-1117, 2002.

KAUSHIK, R.; ROSENFELD, C. A.; SULTATOS, L.G. Concentration-dependent interactions of the organophosphates chlorpyrifos oxon and methyl paraoxon with human recombinant acetylcholinesterase. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 221, n. 2, p. 243-250, 2007.

KAVLOCK, R.J.; DASTON, G.P.; DEROSA, C.; FENNER-CRISP, P.; GRAY, L.E.; KAATTARI, S.; LUCIER, G.; LUSTER, M.; MAC, M.J.; MACZKA, C.; MILLER, R.; MOORE, J.; ROLLAND, R.; SCOTT, G.; SHEEHAN, D.M.; SINKS, T.; TILSON, H.A. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. **Environ Health Perspect**, v. 104, suppl 4, p. 715-740, 1996.

KELLAR, K. J. Overcoming inhibitions. **PNAS**, v. 103, n. 36, p. 13263-13264, 2006. Disponível em: <[www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0606052103](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0606052103)>. Acesso em: 12 abr. 2009.

KELLNER, T.; SANBORN, J.; WILSON, B. In vitro and in vivo assessment of the effect of impurities and chirality on methamidophos-induced neuropathy target esterase aging. **Toxicol Sci**, v. 54, n. 2, p. 408-415, 2000.

KHAN, D. A.; BHATTI, M. M.; KHAN, F. A.; NAQVI, S. T.; KARAM, A. Adverse effects of pesticides residues on biochemical markers in Pakistani tobacco farmers. **Int J Clin Exp Med**, v. 1, p. 274-282, 2008.

KHASAWINAH, A. M. A.; MARCH, R. B.; FUKUTO, T. R. Insecticidal properties, antiesterase activities, and metabolism of methamidophos. **Pestic Biochem Physiol**, n. 9, p. 211-221, 1978.

KIDD, H.; AND JAMES, D. R. (Eds). **The Agrochemicals Handbook**. 3. Ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry Information Services, p.5-14. 1991.

KIMMERLE, G.; LORKE, D. **Toxicological studies on the active ingredient Bayer 71 628**. . Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1967.

KISS, Z; FAZEKAS, T. Arrhythmias in organophosphate poisonings. **Acta Cardiol**. v.34, p.323–330, 1979.

KLAASSEN, C. D. Tóxicos ambientais não - metálicos: Poluentes atmosféricos, solventes, vapores e pesticidas. In: GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 1077-1094.

KLAUS, A. M. **Cholinesterase inhibition in maternal and fetal Wistar Rats following gestacional Exposure via the diet with technical grade methamidophos**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 2005b.

KLAUS, A. M. **Cholinesterase inhibition in Young-Adult Wistar Rats Treated Daily by gavage for 11 days with Technical Grade Methamidophos**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 2005a.

KOKKA, N., CLEMONS, G.K., LOMAX, P. Relationship between the temperature and endocrine changes induced by cholinesterase inhibitors. **Pharmacology**, v. 34, N. (2-3), p. 74-9. 1987

KOMATZU, E.; VAZ, J. .M. Otimização dos parâmetros de extração para determinação multiresíduo de pesticidas em amostras de água empregando microextração em fase sólida. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 720-724, 2004.

KOVTYUKH, L. P. The Influence of Pesticides on the Health Status of Population in the Former USSR. REPORT prepared for the World Resources Intitute, Program in

Economics and Population. Kishinev: Moldovan Branch of Ecological and Genetic Monitoring, 1995c.

JUAREZ, L. M.; SANCHEZ, J. Toxicity of the Organophosphorus Insecticide Metamidophos (O,S-Dimethyl Phosphoramidothioate) to Larvae of the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) and the Blue Shrimp *Penaeus stylirostris* Stimpson. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 43, p. 302-309, 1989.

LATOX. Laboratório de análises toxicológicas. Adriana N. Wolfferbüttel (Química Toxicologista). **Laudo de análise toxicológica Nº 070103 V/08**, de 18 de agosto de 2008.

LAETZ, C. A.; BALDWIN, D. H.; COLLIER, T. K.; HEBERT, V.; STARK, J. D.; SCHOLZ, N. L. The synergistic toxicity of pesticide mixtures: implications for risk assessment and the conservation of endangered Pacific salmon. **Environ Health Perspect**, v. 117, n. 3, p. 348-353, 2009.

LAHVIS, G. P.; WELLS, R. S.; CASPER, D.; VIA, C. S. In-Vitro Lymphocyte Response of Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*): Mitogen-Induced Proliferation. **Marine Environmental Research**, v. 35, p. 115-119, 1993.

LAMB, D. W. ET AL. **Acute Delayed Neurotoxicity Study on Monitor Technical**. . Relatório não publicado. Estudo nº 79 ANHO1, Departamento of Pathology – College of Veterinary Medicine, Kansas State University. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1979.

LAVILLE, N.; BALAGUER, P.; BRION, F.; HINFRAY, N.; CASELLAS, C.; PORCHER, J.M.; AÏT-AÏSSA, S. Modulation of aromatase activity and mRNA by various selected pesticides in the human choriocarcinoma JEG-3 cell line. **Toxicology**. v. 228, n. 1, p. 98-108, 2006.

LAWRENZ, B. **Cholinesterase Inhibition in Young-Adult Wistar Rats treated By Gavage With an Acute Dose of Technical Grade Methamidophos**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 2005.

LIMA, F. J. C.; MARQUES, P. R. B. O.; NUNES, G. S.; TANAKA, S. M. C. N. Inseticida Organofosforado Metamidofós: Aspectos Toxicológicos e Analíticos. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 11, p. 17-34, jan./dez., 2001.

LIN, K.; ZHOU, S.; XU, C.; LIU, W. Enantiomeric Resolution and Biototoxicity of Methamidophos. **J Agric Food Chem**, n. 54, p. 8134-8138, 2006.

LONDON, L.; FLISHER, A. J.; WESSELING, C.; MERGLER, D.; KROMHOUT, H. Suicide and exposure to organophosphate insecticides: cause or effect? **Am J Ind Med**, v. 47, p. 308-321, 2005.

LONDON, L.; MYERS, J. E.; NELL, V.; TAYLOR, T.; THOMPSON, M. L. An investigation into neurologic and neurobehavioral effects of long-term agrichemical use among deciduous fruit farm workers in the Western Cape, South Africa. **Environ Res**, v. 73, p. 132-145, 1997.

LÖSER, E. **Subchronic toxicological studies on dog (tree-month feeding experiment)**. Relatório não publicado. Farbenfabriken Bayer AG Institut Für Toxikologie. Submetido a OMS por Bayer, A.G. e apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1970a.

LÖSER, E. **Subchronic toxicological studies on rats (tree-month feeding experiment)**. Relatório não publicado. Farbenfabriken Bayer AG Institut Für Toxikologie. Submetido a OMS por Bayer A.G. e apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1970b.

LOTTI, M.; MORETTO, A. Organophosphate-induced delayed polyneuropathy. **Toxicol Rev**, v. 24, n. 1, p. 37-49, 2005.

LOTTI, M.; MORETTO, A.; CAPODICASA, E.; BERTOLAZZI, M.; PERAICA, M.; SCAPELLATO, M. L. Interactions between neuropathy target esterase and its inhibitors and the development of polyneuropathy. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 122, issue 2, p. 165-171, 1993. LUNG, L. F. Vegetable-Borne Pesticide Poisoning. **HK Pract**, v. 12, n. 12, p. 1193-1197, 1990.

LOUREIRO, A. P. M., MASCIO, P. D. J., MEDEIROS, M; H. G. Formação de adutos exocíclicos com bases de dna: implicações em mutagênese e carcinogênese. **Quim. Nova**, v. 25, N. 5, p. 777-793, 2002.

MAHAJNA, M.; CASIDA, J. E. Oxidative bioactivation of methamidophos insecticide: synthesis of N-hydroxymethamidophos (a candidate metabolite) and its proposed alternative reactions involving N=O rearrangement or fragmentation through a metaphosphate analogue. **Chem Res Toxicol**, n. 11, p. 26-34, 1998.

MAHAJNA, M.; QUISTAD, G. B.; CASIDA, J. E. Acephate Insecticide Toxicity: Safety Conferred by Inhibition of the Bioactivating Carboxamidase by the Metabolite Methamidophos. **Chem. Res Toxicol**, v.10, p. 64-69, 1997.

MATSUSHITA, T. et al. Mutagenicity of anaerobic fenitrothion metabolites after aerobic biodegradation. **Chemosphere**, Oxford, v. 61, p.1134-1141. 2005.

MATSUSHITA, T., MATSUI, Y., MATSUI, Y. Estimating mutagenic compounds generated during photolysis of fenitrothion – by HPLC fractionation followed by mutagenicity testing and high-resolution GC-MS analysis. **Chemosphere**, Oxford, v. 64, n. 1, p. 144-155. 2005.

McCONNELL, R.; DELGADO-TÉLLEZ, E.; CUADRA, R.; TÓRRES, E.; KEIFER, M.; ALMENDÁREZ, J.; MIRANDA, J.; EL-FAWAL, H. A.; WOLFF, M.; SIMPSON, D.; LUNDBERG, I. Organophosphate neuropathy due to methamidophos: biochemical and neurophysiological markers. **Arch Toxicol**, v. 73, n. 6, p. 296-300, 1999.

McCONNELL, R.; HRUSKA, A. J. An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries. **American Journal of Public Health**, v. 83, n. 11, p. 1559-1562, 1993.

MEYER, A. et al. Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil **Environmental Research**, Basel, v. 93, n. 3, p. 264-71, nov. 2003.

MOHAMMED, K. B., MA, T. H. Tradescantia-micronucleus and -stamen hair mutation assays on genotoxicity of the gaseous and liquid forms of pesticides. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 426, p. 193–199. 1999.

MORAES, J. E. V. **Dados toxicológicos envolvendo aspectos bioquímicos e provas toxicológicas para a avaliação de agrotóxicos e afins – Dose letal 50 aguda oral (DL<sub>50</sub> oral)**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994.

MOREIRA, J. C.; et al. On the necessity of transdisciplinary approach to assess human contamination by pesticides: studies in a rural community at Rio de Janeiro State, Brasil, **Anais...** Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, XII. Buffalo, USA, 2000.

MARCHETTI, M. LUCHINI, L.C. Sorção/dessorção e mineralização do inseticida acefato em solo. **Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. Curitiba. v. 14.p. 61-72. 2004.

MOREIRA, L.F. **Diagnóstico dos problemas ecotoxicológicos causados pelo uso de inseticida (metamidofós) na região agrícola de Viçosa - MG**. Viçosa, 1995. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa.

MORGAN, D. P. **U.S. Environmental Protection Agency. Recognition and Management of Pesticide Poisonings**. 4. Ed. Washington, DC.: Health Effects Division; Office of Pesticide Programs, U.S; EPA, 1989.

MOSER, M.; LI, Y.; VAUPEL, K.; KRETZSCHMAR, D.; KLUGE, R.; GLYNN, P.; BUETTNER, R. Placental failure and impaired vasculogenesis result in embryonic lethality for neuropathy target esterase-deficient mice. **Molecular and Cellular Biology**, v. 24, n. 4, p. 1667-1679, 2004.

MOSER, V. C. Comparison of Aldicarb and Methamidophos Neurotoxicity at Different Ages in the Rat: Behavioral and Biochemical Parameters. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 157, p. 94-106, 1999.

MÜLLER-VAHL, K. R.; KOLBE, H.; DENGLER, R. Transient severe parkinsonism after acute organophosphate poisoning. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, v. 66, n. 2, p. 253-254, 1999.

MURRAY, V.S.; WISEMAN, H.M.; DAWLING, S. Health effects of organophosphate sheep dips. **Br Med J**. s.v.305, p.1090, 1992.

MURRAY, M. Altered CYP expression and function in response to dietary factors: potential roles in disease pathogenesis. **Curr Drug Metab**, v. 7, n. 1, p. 67-81, 2006.

MURPHY SD. **Toxic effects in pesticides**. En: Klaasen CD, Ambdur MO, Doull J, editors. *Cassaret and Doull's Toxicology: the basic science of poisons*. New York: Macmillan. p. 543-553, 1988.

NARAVANENI, R.; JAMIL, K. Determination of AChE levels and genotoxic effects in farmers occupationally exposed to pesticides. **Human & Experimental Toxicology**, v. 26, p. 723-731, 2007.J.

NASCIMENTO, C.; VASSILIEFF, I. **CL<sub>50</sub> inalatório em ratos machos** Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1999.

NASCIMENTO, C.; VASSILIEFF, I. **Irritabilidade em olhos de coelhos**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1992a.

NASCIMENTO, C.; VASSILIEFF, I. **Sensibilidade dérmica em cobaias**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1992b.

NATURFORSCH, Z. Cytogenetic effects of the insecticide methamidophos in mouse bone marrow and cultured mouse spleen cells. **J Environ Sci Health B**. v. 42, n. 1-2, p. 21-30, 1987.

NAVARRO, A. M. C.; MACHADO, G. P. **Teste de toxicidade inalatória aguda para ratos para o produto químico Methamidophós 730 PIL Herbitécnica**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1995.

NELSON; COX, 2004 **Lehninger Principles of Biochemistry**. W. H. Freeman; Fourth Edition edition: April 23, 2004.

NEWCOMBE, D. Immune Surveillanee, Organophosphorus Exposure, and Lymphomagenesis. **The Lancet**, v. 339, p. 539-541, 29 feb. 1992.

NUNES, G. S.; RIBEIRO, M. C. Pesticidas: uso, legislação e controle. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 9, p. 31-34, 1999.

OLIVEIRA, MLF. **Vulnerabilidade e cuidado na utilização de agrotóxicos por agricultores familiares**. Campinas, 2004. Tese de Doutorado. Unicamp.

OLIVEIRA, S.M.; GOMES, T.C.C. Contaminação por Agrotóxico em População de Área Urbana - Petrópolis, RJ. **Cadernos de Saúde Pública**.v.6 (1): 18.26

OLIVEIRA-SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; DELLA-ROSA, H. V. Avaliação da exposição humana a agrotóxicos. In: PERES, F.; MOREIRA, J. C. (org.). **É veneno ou é remédio?** Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 121-136.

OLIVEIRA-SILVA, J. J. et al. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n.2, p.130-135, 2001.

OPAS/OMS. **Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos**. Brasília: [s. n.], 1996.

ORTIZ-PEREZ, E.; CIANZIO, S. R.; WILEY, H.; HORNER, H. T.; DAVIS, W. H.; PALMER, R. G. Insect-mediated crosspollination in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. I. **Agronomic performance**. **Field Crops Research**, v. 101, p. 259-268, 2007.

PARKINSON, A. **Biotransformation of xenobiotics**. In: Casarett & Doull's Toxicology. The basic science of poisons. Ed: Klaassen CD. Mc Graw-Hill: 2001.

PARRÓN, T.; HERNÁNDEZ, A. F.; VILLANUEVA, E. Increased risk of suicide with exposure to pesticides in an intensive agricultural area. A 12-year retrospective study. **Forensic Sci Int**, v. 79, n. 1, p. 53-63, 1996.

PASCHOAL, A. D. Pragas, praguicidas e a crise ambiental: problemas e soluções. **Fundação Getúlio Vargas**: Rio de Janeiro, 1979.

PAULUHN, J. **Study for acute inhalation toxicity to the rat.** Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1987.

PEARCE, N.E.; SMITH, A. H.; HOWARD, J.K.; SHEPPARD, R. A.; GILES, H.J.; TEAGUE, C.A. Case-control study of multiple mydoma and farm ing. **British journal of cancer**, v. 54, p. 493-500, 1986.

PELEGRINO, J. R.; CALORE, E. E.; SALDIVA, P. H. N.; ALMEIDA, V. F.; PERES, N. M.; VILELA-DE-ALMEIDA, L.. Morphometric studies of specific brain regions of rats chronically intoxicated with the organophosphate methamidophos. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 64, p. 251–255, 2006.

PIMENTEL, D. Green revolution agriculture and chemical hazards. **Science of the total environment**, Netherlands, v.188, n. 1, p. 86-98, set. 1996.

PIRES, D. X.; CALDAS, E. D.; RECENA, M. C. P. Intoxicações provocadas por agrotóxicos de uso agrícola na microrregião de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, no período de 1992 a 2002. **Cad Saúde Pública**, v. 21, n. 3, p. 804-814, 2005a.

PRUETT, S. B.; HAN, Y.; MUNSON, A. E.; FUCHS, B. A. Assessment of cholinergic influences on a primary humoral immune response. **Immunology**, v.77, p.428-435, 1992.

PEAKALL, T.J. ET AL. Organochlorine residues in Alaskan peregrines. **Pestic Monit J.** v. 8. p. 255–260.1975.

QUISTAD, G. B.; FUKUTO, T. R., and METCALF, R. L. Insecticidal, anticholinesterase, and hydrolytic properties of phosphoramidothiolates. **J. Agric. Food Chem.**, n. 18, p. 189-194, 1970.

RAO, P. Haematological Effects in Fishes from Complex Polluted Waters in Visakhapatnam Harbours. **Indian Marine Environmental Reesearch**, v. 30, n. 30, p. 217-231, 1990.

RAY, D. E. Chronic effects of low level exposure to anticholinesterases - a mechanistic review. **Toxicology Letters**. v. 102-103, p. 527-533, 1998.

RAY, D. E.; RICHARDS, P. G. The potential for toxic effects of chronic, low-dose exposure to organophosphates. **Toxicology Letters**, v. 120, p. 343-351, 2001.

RECENA, M. C. P.; CALDAS, E. D.; PIRES, D. X.; ROSE, E.; PONTES, J. C. Pesticides exposure in Culturama, Brazil: Knowledge, attitudes, and practices. **Environmental Research**, v. 102, p. 230-236, 2006.

RECIO, R.; ROBBINS, W. A.; BORJA-ABURTO, V.; MORÁN-MARTÍNEZ, J.; FROINES, J. R.; HERNÁNDEZ, R. M.; CEBRIÁN, M. E. Organophosphorous pesticide exposure increases the frequency of sperm sex null aneuploidy. **Environ Health Perspect**, v. 109, p. 1237-1240, 2001.

REPETTO, R.; BALIGA, S.S. Los plaguicidas y el sistema inmunitario: riesgos para la salud pública. **World Resources Institute**, 1996.

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

RISHER, J. F.; MINK, F. L.; STARA, J. F. The toxicologic effects of the carbamate insecticide aldicarb in mammals: a review. **Environmental Health Perspectives**, v. 72, p. 267-281, 1987.

ROBINSON, C. P.; BEIERGROHSLEIN, D. Cholinesterase inhibition by methamidophos and its subsequent reactivation. **Pestic Biochem Physiol**, n. 13, p. 267-273, 1980.

RODGERS, K. E.; IMAMURA, T.; DEVENS, B. H. Effects of subchronic treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate on cellular and humoral immune response systems. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 181, p. 310-318, 1985a.

RODGERS, K. E.; IMAMURA, T.; DEVENS, B. H. Investigations into the mechanism of immunocompetence caused by acute treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate. II: Effect on the ability of murine macrophages to present antigen. **Immunopharmacology**, v. 10, p. 181-189, 1985b.

RODGERS, K. E.; IMAMURA, T.; DEVENS, B. H. Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate. I: characterization of immune cell population affected. **Immunopharmacology**, v. 10, p. 171-180, 1985c.

RODGERS, K. E.; IMAMURA, T.; DEVENS, B. H. Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate: generation of suppressive macrophages from treated animals. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 88, p. 279-281, 1987.

RODGERS K, XIONG S. Effect of administration of malathion for 90 days on macrophage function and mast cell degranulation. **Toxicol Lett**, v. 93, n. 1, p. 73-82, 1997.

RODVALL, Y., DICH, J., WIKLUND, K. Cancer risk in offspring of male pesticide applicators in agriculture in Sweden. **Occupational Environment Medicine**, Helsinki, v. 60, n. 10, p. 798-801, out. 2003.

ROCH, P. & COOPER, E.L. Cellular but not humoral antibacterial activity of earthworms is inhibited by Aroclor 1254. **Ecotoxicology and Environmental Safety** v.22. p. 283-290, 1991.

ROMEIRO, A. R.; ABRANTES, F. J. Meio ambiente e modernização agrícola. **Revista Brasileira de Geografia**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 1, p. 03-45, jan-mar 1981.

ROSATI, J. L. R.; DUTRA, A. A. M.; MORAES, A. C. L.; FERREIRA, M. C. L.; ROCHA, L. F. R. Intoxicação por Carbamatos e Organofosforados. **JBM**, 69 (3). p. 73-96. 1995.

ROSS, P. S. Seals, **Pollution, and Oisease**: Environmental Contaminant-Induced Immunosuppression. [1995?]. Dissertation (Ph.D.) - Universiteit Utrecht, Utrecht, Netherlands, sep. 1995a.

ROSS, P. S.; DE SWART, R. L.; REIJNDERS, P. J. H.; VAN LOVEREN, H.; VOS, I. G.; OSTERHAUS, A. D. M. E. Contaminant-Related Suppression of Delayed Type Hypersensitivity and Antibody Responses in Harbor Seals Fed Herring from the Baltic Sea. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n.2, p. 162-167, 1995b.

ROZMAN, K.K.; KLAASSEN, C.D. **Absorption, distribution and excretion of toxicants**. In: Casarett & Doull's Toxicology. The basic science of poisons. Ed: Klaassen CD. Mc Graw-Hill: 2001.

RUEGG, E. F. **Impacto dos agrotóxicos sobre o ambiente, a saúde e a sociedade**. São Paulo: Ícone, 1986.

SAADEH, A. M.; ALALY, M. K.; FARSAKH, N. A.; GHANI, M. A. Clinical and socio demographic future of acute carbamate and organophosphate poisoning: a study of adult patients in North Jordan. **Journal of toxicology - Clinical toxicology**, v. 34, p. 45-51, 1996.

SALAMA, A.K.M. **Toxicological studies on some insecticides. Pharmacokinetics, placental transfer, milk transfer, and metabolism studies of [<sup>14</sup>CH<sub>3</sub>S]-**

**methamidophos and/or [<sup>14</sup>C]-acephate in rat.** Dissertation, Alexandria University, Faculty of Agriculture. Submitted to WHO by Bayer/Tomen, 1990.

SAMS, C.; MASON, H.J.; RAWBONE, R. Evidence for the activation of organophosphate pesticides by cytochromes P450 3A4 and 2D6 in human liver microsomes. **Toxicol Lett**, v. 116, n. 3, p. 217-221, 2000.

SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L.; DACOSTA, J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 159-170, 2007.

SATAR, S.; SATAR, D.; KIRIM, S.; LEVENTERLER, H. Effects of acute organophosphate poisoning on thyroid hormones in rats. **Am J Ther**, v. 12, n. 3, p. 238-242, 2005.

SATAR, D.D.; SATAR, S.; METE, U.O.; SUCHARD, J.R.; TOPAL, M.; KARAKOC, E.; KAYA, M. Ultrastructural changes in rat thyroid tissue after acute organophosphate poisoning and effects of antidotal therapy with atropine and pralidoxime: a single-blind, ex vivo study. **Current therapeutic research**, v. 69, n. 4, 2008.

SCHANKER, H.M.; RACHELEFSKY, G.; SIEGEL, S.; KATZ, R.; SPECTOR, S.; ROHR, A.; RODRIQUIZ, C.; WOLOSHIN, K.; PAPANEK, P.J. JR. Immediate and delayed type hypersensitivity to malathion. **Ann Allergy**, v. 69, n. 6, p. 526-528, 1992.  
RTECS - Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. 1990. National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH. Canadian Centre for Occupational Health and Safety, Hamilton, Ontario. Disponível em:  
<http://74.125.47.132/search?q=cache:nYu8HZaQ8SYJ:www.eea.gov.eg/English/NIPP/substances/dieldrin/METHAMIDOPHOS.doc+Registry+of+Toxic+Effects+of+Chemical+Substances.+National+Institute+for+Occupational+Safety+and+Health,+Cincinnati,+OH.+methamidophos&cd=4&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acessado em 8/5/2009.

SCORZA JÚNIOR, R.P.; DA SILVA, J.P. Potencial de contaminação da água subterrânea por pesticidas na Bacia do Rio Dourados, MS. Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente, Curitiba, v. 17, p. 87-106, jan./dez. 2007.

SENANAYAKE, N.; KARALLIEDDE, L. Neurotoxic Effects of Organophosphorus Insecticides. **New England journal of medicine**, v. 316, p. 761-763, 1987.

SELGRADE, M. K.; DANIELS, M. J.; ILLING, J. W.; RALLSTON, A. L.; GRADY, M. A.; CHARLET, E.; GRAHAM, J. A. Increased Susceptibility to Parathion Poisoning Following Immune Cytomegalovirus Infection. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 76, p. 356-364, 1984.

SENANAYAKE, N.; PEIRES, H. Mortality due to poisoning in a developing agricultural country: trends over 20 years. **Human and experimental toxicology**, v. 14, p. 808-11, 1995.

SENANAYAKE, N., KARALLIEDDE, L. 1987. Neurotoxic Effects of Organophosphorus Insecticides. An intermediate syndrome. **N. Engl. J. Med.** v. 761, p. 761-763, 1987.

SENANAYAKE, N.; JOHNSON, M. K. Acute Polyneuropathy after Poisoning by a New Organophosphate Insecticide. **The New England Journal of Medicine**, v. 306, p. 155-157, 1982.

SILVA, C.L. **Análise da vulnerabilidade ambiental aos principais pesticidas recomendados para os sistemas de produção de algodão, arroz, café, cana-de-açúcar, citros, milho e soja.** Campinas, 2004. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas Faculdade De Engenharia Agrícola.

SINITOX. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas **Óbitos Registrados de Intoxicação Humana por Agente Tóxico e Circunstância. Brasil, 2003.** Disponível em: [http://www.fiocruz.br/sinitox/2003/tab11\\_brasil2003.pdf](http://www.fiocruz.br/sinitox/2003/tab11_brasil2003.pdf). Acesso em 8/6/2009.

SINITOX. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas **Óbitos Registrados de Intoxicação Humana por Agente Tóxico e Circunstância. Brasil, 2003.** Disponível em: [http://www.fiocruz.br/sinitox/\[1997,1998,1999,2000,2001,2002,2003,2004,2005,2006,2007,\]/tab11\\_brasil.pdf](http://www.fiocruz.br/sinitox/[1997,1998,1999,2000,2001,2002,2003,2004,2005,2006,2007,]/tab11_brasil.pdf). Acesso em 8/6/2009.

SHEETS, L. P.; LAKE, S. G. **A Developmental Neurotoxicity Screening Study with Technical Grade methamidophos (Monitor) In Wistar Rats.** Relatório não publicado. Bayer Corporation Agriculture Division Toxicology. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 2002.

SHEETS, L. P.; HAMILTON, B. F.; SANGHA, G. K.; THYSSEN, J. H. Subchronic neurotoxicity screening studies with six organophosphate insecticides: an assessment of behavior and morphology relative to cholinesterase inhibition. **Fundam Appl Toxicol**, v. 35, n. 1, p. 101-119, 1997.

SOBREIRA, A.G.P.; ADISSI P.J. Agrotóxicos: falsas premissas e debates. **Ciência & Saúde Coletiva** v. 8, n. 4, p. 985-90, 2003.

SILVA, A. B.; REZENDE, S. B.; SOUSA, A. R.; RESENDE, M.; LEITE, A. P. Uso de agrotóxicos no sistema de produção de hortaliças no Município de Camocim de São Félix, Pernambuco. **Embrapa Solos Boletim de Pesquisa**, n. 6, Rio de Janeiro, p. 01-22, 1999.

SIWICKI, A. K.; COSSARINI-DUNIER, M.; STUDNICKA, M.; DEMAEL, A. In Vivo Effect of an Organophosphorus Insecticide. Trichlorfon on Immune Response of Carp (*Cyprinus carpio*): II. Effect of Trichlorfon on Nonspecific Immune Response in Carp (*Cyprinus carpio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 19, p. 98-105, 1990.

SLOTKIN, T. A.; BODWELL, B. E.; LEVIN, E. D.; SEIDLER, F. J. Neonatal exposure to low doses of diazinon: long-term effects on neural cell development and acetylcholine systems. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 3, p. 340-348, 2008a.

SLOTKIN, T. A.; BODWELL, B. E.; RYDE, I. T.; LEVIN, E. D.; SEIDLER, F. J. Exposure of neonatal rats to parathion elicits sex-selective impairment of acetylcholine systems in brain regions during adolescence and adulthood. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 10, p. 1308-1314, 2008b.

SLOTKIN, T. A.; LEVIN, E. D.; SEIDLER, F. J. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate insecticides: effects on brain development are separable from systemic toxicity. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 5, p. 746-751, 2006.

SLOTKIN, T. A.; SEIDLER, F. J. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphates in vivo: transcriptional responses of pathways for brain cell development, cell signaling, cytotoxicity and neurotransmitter systems. **Brain Res Bull**, v. 72, n. 4-6, p. 232-274, 2007.

SLOTKIN, T. A.; SEIDLER, F. J.; FUMAGALLI, F. Exposure to organophosphates reduces the expression of neurotrophic factors in neonatal rat brain regions: similarities and differences in the effects of chlorpyrifos and diazinon on the fibroblast growth factor superfamily. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 6, 2007.

SONNENSCHNEIN, C.; SOTO, A.M. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 65, n. 1-6, p. 143-150, 1998.

SPASSOVA, D.; WHITE, T.; SINGH, A.K. Acute effects of acephate and methamidophos on acetylcholinesterase activity, endocrine system and amino acid concentrations in rats. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol**, v. 126, n. 1, p. 79-89, 2000.

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. **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, p. 1117-1127, 2003.

SOTH, T.; HOSOKAWA, M. Organophosphate and their impacts on the global environment. **Neurotoxicology**, v. 21, p. 1-4, 2000.

STEENLAND, K.; JENKINS, B.; AMES, R. G.; O'MALLEY, M.; CHRISLIP, D.; RUSSO, J. Chronic neurological sequelae to organophosphate pesticide poisoning. **Am J Public Health**, v. 84, p. 731-736, 1994.

STEPHENS, R.; SPURGEON, A.; CALVERT, I. A.; BEACH, J.; LEVY, L. S.; BERRY, H., et al. Neuropsychological effects of long-term exposure to organophosphates in sheep dip. **Lancet**, v. 345, p. 1135-1139, 1995.

STODDART, J. F. **Comprehensive Organic Chemistry: The synthesis and reaction of organic compounds**. 6<sup>th</sup> ed., Oxford, C. 1979.

STOKES, L.; STARK, A.; MARSHALL, E.; NARANG, A. Neurotoxicity among pesticide applicators exposed to organophosphates. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 52, p. 648-653, 1995.

SULTAN, C.; BALAGUER, P.; TEROUANNE, B.; GEORGET, V.; PARIS, F.; JEANDEL, C.; LUMBROSO, S.; NICOLAS, J. Environmental xenoestrogens, antiandrogens and disorders of male sexual differentiation. **Mol Cell Endocrinol**, v. 178, n. 1-2, p. 99-105, 2001.

SUMI, Y.; OODE, S. Y.; TANAKA, H. Chinese dumpling scare hits Japan - a case of methamidophos food poisoning. **J Toxicol Sci.**, v. 33, n. 4, p. 485-486, 2008.

SUN, D. H.; ZHOU, H. D.; XUE, S. Z et al; Epidemiologic survey on organophosphate-induced delayed polyneuropathy (OPIDP) among patients recovered from Methamidophos poisoning. **Med Lav**, v. 89, n. 2, p. 123-128. 1998.

THOMSON, W. T. **Agricultural Chemicals Book I: Insecticides**. Fresno (CA): Thomson Publications, 1992.

THOMPSON, C. M.; CASTELLINO, S.; FUKUTO, T. R. A carbon-13 nuclear magnetic resonance study on an organophosphate. Formation and characterization of methamidophos (O,Sdimethyl phosphoramidothioate) S-oxide. **J. Org. Chem.** v. 49, p. 1696-1699, 1984.

THOMPSON, C. M.; FUKUTO, T. R. Mechanism of cholinesterase inhibition by Methamidophos. **J. Agr. Food Chem**, v. 30, p. 282-284, 1982.

THRASHER, J.D.; MADISON, R.; BROUGHTON, A. Immunologic abnormalities in humans exposed to chlorpyrifos: preliminary observations. **Arch Environ Health**, v. 48, n. 2, p. 89-93, 1993.

TIEFENBACH, B.; HENNINGHAUSEN, G.; WICHNER, S. Effects of some phosphororganic pesticides on functions and viability of lymphocytes *in vitro*. **Wiss. Beitr. Martin Luther Univ. Halle-Wittenberg**, v. 19, p. 43-50, 1990.

TIEFENBACH, B.; WICHNER, S. Dosage and mechanism of action of methamidophos in the mouse immune system. **Z. Ges. Hyg.** v. 31, p. 228-231, 1985.

TOMASZEWSKA, E.; HEBERT, V. R. Analysis of O,S-dimethyl hydrogen phosphorothioate in urine, a specific biomarker for methamidophos. **J Agric Food Chem**, n. 51, p. 6103-6109, 2003.

TOMLIN, C. **The pesticide manual: a world compendium, incorporating the agrochemicals handbook**. 10th ed. Great Britain: Crop Protection Publications, 1994. p. 462-463.

TOY, D. F. **Phosphorus Chemistry in Everyday Living**. American Chemical Society: Washington, D. C., 1976.

TREVISAN, L.R.P. *Análise de resíduos de pesticidas em matrizes agronômicas por métodos cromatográficos* Tese de Doutorado. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz". USP, 2002.

TOPPARI, J.; LARSEN, J.C.; CHRISTIANSEN, P.; GIWERCMAN, A.; GRANDJEAN, P.; GUILLETTE, L.J. JR.; JÉGOU, B.; JENSEN, T.K.; JOUANNET, P.; KEIDING, N.; LEFFERS, H.; MCLACHLAN, J.A.; MEYER, O.; MÜLLER, J.; RAJPERT-DE MEYTS, E.; SCHEIKE, T.; SHARPE, R.; SUMPTER, J.; SKAKKEBAEK, N.E. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. **Environ Health Perspect**, v. 104, suppl 4, p. 741-803, 1996.

TUOMISTO, J.; MÄNNISTÖ, P. Neurotransmitter regulation of anterior pituitary hormones. **Pharmacol Rev**, v. 37, n. 3, p. 249-332, 1985.

TYNDALL, R.L.; DANIEL, J.C. JR. Alterations in uterine and serum esterases in pregnant mammals. **Fertil Steril**, v. 26, n. 11, p. 1098-1104, 1975.

U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE. Hazardous Substance Data Bank. Washington, DC, 1995.5-9.

VAN LEEUWEN, M.T.; GRULICH, A.E.; WEBSTER, A.C.; MCCREDIE, M.R.; STEWART, J.H.; MCDONALD, S.P.; AMIN, J.; KALDOR, J.M.; CHAPMAN, J.R.;

VAJDIC, C.M. Immunosuppression and other risk factors for early and late non-Hodgkin lymphoma after kidney transplantation. **Blood**. 2009 [Epub ahead of print].

VAN WIJNGAARDEN, E. An exploratory investigation of suicide and occupational exposure. **JOEM**, v. 45, 96–101, 2003.

VARGAS, M. A. T. **A micronucleus study in mice for the product Methamidophos Técnico Fersol**. Bioagri - Biotecnologia Agrícola S/C. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994b.

VARGAS, M. A. T. **The *Salmonella typhimurium* reverse mutation by Methamidophos Técnico Fersol**. Bioagri- Biotecnologia Agrícola S/C. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994a.

VARGAS, M. A. T.; OLIVEIRA, T. C.; RODRIGUES, P. H. M. **A micronucleus study in mice for the product Methamidophós 730 PILL HBT** Relatório não publicado. Bioplan – Biotecnologia Planalto S/A Ltda, de propriedade da Herbitécnica Defensivos Agrícolas Ltda. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994.

VARGAS, M. A. T.; RODRIGUES, P. H. M. **Teste de hipersensibilidade em cobaias para o produto químico Methamidophós 730 PIL Herbitécnica**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994e.

VARGAS, M. A. T.; RODRIGUES, P. H. M. **Teste de irritação / corrosão ocular a curto prazo em coelhos, para o produto químico Methamidophós 730 PIL Herbitécnica**. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994c.

VARGAS, M. A. T.; RODRIGUES, P. H. M. **Teste de irritação / corrosão cutânea a curto prazo em coelhos, para o produto químico Methamidophós 730 PIL Herbitécnica**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994d.

VARGAS, M. A. T.; RODRIGUES, P. H. M. **Teste de toxicidade cutânea a curto prazo para ratos, para o produto químico Methamidophós 730 PIL Herbitécnica**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994b.

VARGAS, M. A. T.; RODRIGUES, P. H. M. **Teste de toxicidade oral a curto prazo para ratos, para o produto químico Methamidophós 730 PIL Herbitécnica**. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994a.

VARGAS, M. A. T.; TOLEDO, S. M. **The Salmonella typhimurium reverse mutation by Methamidophós 730 PILL HBT**. Relatório não publicado. Bioplan – Biotecnologia Planalto S/A Ltda, de propriedade da Herbitecnica Defensivos Agrícolas Ltda. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994.

VEIGA, S. S. **Mutagenicidade em células eucarióticas (micronúcleo)**. Biomesos Assessoria Farmacológica S/C LTDA. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994b.

VEIGA, S. S. **Teste de mutagenicidade do Metamidophos Técnico Agripec sobre Salmonella typhimurium**. Biomesos Assessoria Farmacológica S/C. Relatório não publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994a.

VEIGA, S. S. **Teste de mutagenicidade do Metamidophos Técnico Agripec sobre Salmonella typhimurium**. Biomesos Assessoria Farmacológica S/C. Não Publicado. Apresentado à ANVISA para fins de registro de produto agrotóxico. 1994a.

VIDAIR, C. A. Age dependence of organophosphate and carbamate neurotoxicity in the postnatal rat: extrapolation to the human. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 196, p. 287-302, 2004.

VIEIRA, E. M.; PRADO, A. G. S.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. O. Estudo da adsorção/desorção do ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. **Química Nova**, v. 22, p. 305-308, 1999.

VILLENEUVE, D. C.; WILLES, R. F.; LACROIX, J. B.; PHILLIPS, W. E. Placental transfer of <sup>14</sup>C-parathion administered intravenously to sheep. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v. 21, p. 542–548, 1972.

VOCCIA, I.; BLAKLEY, B.; BROUSSEAU, P.; FOURNIER, M. Immunotoxicity of pesticides: a review. **Toxicol Ind Health**. v. 15, n. 1-2, p. 119-32, 1999

VOLKOVA, E. V. Naturaleza de las alteraciones fibrosas y estado de la actividad funcional del sistema tensoactivo durante la tuberculosis pulmonar en el marco de la intoxicación crónica por plaguicidas. **Tesis de Maestría en Medicina**, 1991.

WAICHMAN, A. V. Uma proposta de avaliação integrada de risco do uso de agrotóxicos no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 38, n. 1, p. 45-51, 2008.

WESSELING, C.; KEIFER, M.; AHLBOM, A.; MCCONNELL, R.; MOON, J.; ROSENSTOCK, L.; HOGSTEDT, C. Long-term neurobehavioral effects of mild

poisonings with organophosphate and n-methyl carbamate pesticides among banana workers. **Int J Occup Environ Health**, v.8, p. 27-34, 2002.

WHO/ FAO. Decision Guidance Documents: Methamidophos, 1997. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/W5715E/w5715e02.htm> Acessado em 8/6/2009.

WHO/FAO Data Sheets on Pesticides; mimeographed series of documents, WHO/PCS Nos. 1-94, Geneva, World Health Organization. Disponível em: <http://www.inchem.org/pages/pds.html>. Acesso em : 8/5/2009.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION PUBLIC HEALTH. **Impact of Pesticides Used in Agriculture**. World Health Organization and United Nations of Environmental Programme, Geneva, 1990b.

WOODWELL, GM; WURSTER, CF, JR Y ISAACSON, PA.DDT Residues in an east coast estuary: a case of biological concentration of a persistent insecticide. **Science**, **156** p. **821**. **1967**.

WOODRUFF, T, WOLFF, M.S., DAVIS, D.L. Y HAYWARD, D. Organochlorine exposure estimation in the study of cancer etiology. **Environ. Res.** 65: 132-144. 1994.

WU, M. L.; DENG, J. F.; TSAI, W. J.; GER, J.; WONG, S. S.; LI, H. P. Food poisoning due to methamidophos-contaminated vegetables. **J Toxicol Clin Toxicol**, v. 39, n, 4, p. 333-336, 2001.

ZEEMAN, M. G.; BRINDLEY, W. A. Effects of Toxic Agents Upon Fish Immune Systems: A Review. In: SHARMA, R. P. (ed.). **Immunological Considerations in Toxicology**: v. 11. Florida: CRC Press, 1981. p.1-60.

ZELICOFF, J. T. Fish Immunotoxicology, In: DEAN, J. H.; LUSTER, M. I.; MUNSON, A. E.; KIMBER, I. (eds.). **Immunotoxicology and Immunopharmacology**. 2. Ed. Nueva York: Raven Press, p.71-95, 1994.