



Agência Nacional de Vigilância Sanitária

www.anvisa.gov.br

Consulta Pública nº 90, 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 Fosmete, 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 Fosmete estará disponível, na íntegra, durante o período de consulta no endereço eletrônico 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

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 Fosmete 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 e alíneas 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 nº 10, de 22 de fevereiro de 2008, que estabelece a reavaliação toxicológica de produtos técnicos e formulados à base do ingrediente ativo Fosmete;

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 fosmete apresenta características neurotóxicas, sendo capaz de provocar a síndrome intermediária;

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

Art. 1º Estabelecer a reclassificação toxicológica aguda de todos os produtos formulados à base do ingrediente ativo Fosmete para Classe I- Extremamente Tóxico.

Art. 2º Estabelecer a Ingestão Diária Aceitável - IDA - do fosmete em 0,005mg/kg de peso corpóreo/dia.

Art. 3º Excluir a aplicação costal e manual de todos os produtos formulados à base do ingrediente ativo Fosmete, ficando apenas permitida a aplicação tratorizada.

Art. 4º Estabelecer a comercialização dos produtos formulados à base do ingrediente ativo Fosmete apenas na apresentação de embalagens hidrossolúveis dispostas em sacos metalizados ou outro.

Art. 5º Ficarão mantidas as culturas de maçã, citros e pêssego para os produtos formulados à base do ingrediente ativo Fosmete.

Art. 6º A partir da data de publicação desta RDC, no prazo de 120 dias, a empresa deverá apresentar novos estudos de resíduos, para as referidas culturas autorizadas, em conformidade com as determinações previstas na RDC nº 216/2006, com a quantificação do fosmete e do fosmete-oxon, para estabelecimento de novos LMRs (limites máximos de resíduos).

Art. 6º Esta Resolução entra em vigor na data da sua publicação.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO



NOTA TÉCNICA
REAVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO INGREDIENTE ATIVO FOSMETE

1. APRESENTAÇÃO E MOTIVAÇÕES PARA REAVALIAÇÃO	2
2. INTRODUÇÃO.....	3
2.1 IDENTIDADE QUÍMICA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	5
2.2 PRODUÇÃO E USO.....	6
2.3 RELEVÂNCIA PARA A SAÚDE PÚBLICA.....	7
2. TOXICOCINÉTICA	12
3.1 VIAS DE ABSORÇÃO.....	12
3.2 DISTRIBUIÇÃO	13
3.3 BIOTRANSFORMAÇÃO.....	15
3.4 EXCREÇÃO	15
4. AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA.....	16
4.1 TOXICIDADE SUBCRÔNICA.....	18
4.2 TOXICIDADE CRÔNICA	20
4.3 TOXICIDADE SOBRE O SISTEMA REPRODUTIVO E DESENVOLVIMENTO	28
4.3.1 Toxicidade reprodutiva	28
4.3.2 Toxicidade sobre o desenvolvimento	30
4.4 NEUROTOXICIDADE.....	33
4.4.1 Mecanismos de ação.....	34
4.4.2 Manifestações clínicas.....	35
4.4.3 Neurotoxicidade aguda – Síndrome colinérgica.....	36
4.4.4 Síndrome intermediária.....	41
4.4.5 Polineuropatia retardada	42
4.4.6 Estudos experimentais de neurotoxicidade	43
5. ASPECTOS REGULATÓRIOS – A SITUAÇÃO INTERNACIONAL DO REGISTRO DO FOSMETE	46
6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

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 foi elaborada com o apoio de especialistas da equipe 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 agronômica.

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.

No Brasil, uma vez concedido o registro de determinado agrotóxico, este possui validade *ad eternum*, sem previsão de qualquer prazo para renovação ou revalidação do mesmo, até que os órgãos reguladores decidam reavaliá-lo. O conhecimento técnico científico sobre os ingredientes ativos e especialmente sobre o surgimento de perigos e riscos associados ao uso é dinâmico e pode apresentar novas evidências impondo a reavaliação toxicológica e de efeitos sobre a saúde e ao ambiente. A Lei nº 7.802/89 e o Decreto nº 4.074/02 amparam este procedimento.

Em relação aos aspectos toxicológicos, a reavaliação de agrotóxicos ocorre quando há alguma indicação de perigo ou risco à saúde humana, em comparação a avaliação feita para a concessão de registro. As novas evidências podem ser apresentadas mediante novos estudos e pelo avanço dos conhecimentos científicos. Alertas em função de observações epidemiológicas, clínicas ou por eventuais acidentes podem servir como evidências, mesmo quando os estudos experimentais conduzidos em animais de laboratório não são suficientes para concluir sobre a nocividade do produto em humanos.

O fosmete está incluso no Anexo I da Diretiva das Substâncias Perigosas 67/548 da Comunidade Econômica Européia (Dangerous Substances Directive 67/548/EEC). Esta diretiva, orientadora das substâncias perigosas, é uma das principais leis da União Européia a respeito da segurança química. Foi feita com base no art. 94 do Tratado de Roma. A medida foi decorrente da avaliação da comissão de diretiva orientadora para alteração da diretiva 91/414/EEC do Conselho de 23 abril 2007/EC para incluir o fosmete e outros compostos como substância ativa.

2. Introdução

Os organofosforados são de grande importância para a saúde pública em decorrência de sua elevada toxicidade, tendo sido historicamente usados como inseticidas e como agentes químicos de guerras.

O fosmete, assim como diversos outros compostos inseticidas (por ex.: parationa etílica e metílica, forato, triclofom, thiram, malationa, clorpirifós, acefato), pertence ao

grupo químico dos organofosforados (OP), que são inibidores irreversíveis 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 Lassaingne 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 et al., 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 no tecido linfocitário. 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 tecidos linfócitos (TEICHER; SOTOMAYOR, 1994).

A qualidade inseticida dos organofosforados foi primeiramente observada na Alemanha durante a II Guerra Mundial em um estudo de 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 por serem menos persistentes no ambiente, porém com 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.

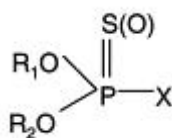


Figura 1: Estrutura química geral dos organofosforados (OP).

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, CARR, 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 tiofosfonatos. Ainda, os fosforamidatos apresentam no mínimo um grupo -NH₂ na molécula. Os grupos amino dos fosforamidatos podem ser: não-substituídos, mono ou di-substituídos. 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

O fosmete é um organofosforado cuja estrutura molecular apresentada na figura 1 possui uma ligação P=S, conferindo-lhe um caráter oxidante importante no processo metabólico e no potencial efeito tóxico (vide Figura 2).

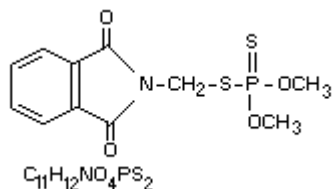


Figura 2: Estrutura molecular do fosmete.

Nome técnico ou comum: FOSMETE (phosmet)

Número CAS: 732-11-6

Nome químico: O,O-dimethyl S-phthalimidomethyl phosphorodithioate

Sinonímia: PMP

Densidade: de 1,03 g/cm³

Pressão de vapor, Pa em 20°C: insignificante

Coefficiente de partição, log Pow: 2,83

Decomposição abaixo do ponto de ebulição (<100°C)

Ponto de fusão: 72°C

Solubilidade na água: 0,003g/100 ml em 20°C

Grupo químico: Organofosforado

Classe: Inseticida e acaricida

Classificação toxicológica: Classe II

Ingestão Diária Aceitável (IDA): 0,01mg/kg p.c/dia

2.2 Produção e uso

A utilização dos agrotóxicos no Brasil tem trazido sérias conseqüências, tanto para o ambiente como para a saúde do trabalhador rural. 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 673 mil toneladas de produtos formulados no ano de 2008 (SINDAG, 2009). Atualmente ocupa o primeiro lugar no mundo em vendas, com um valor no ano de 2008 de US\$ 7,1 bilhões (ANDEF, 2009).

O fosmete é utilizado em plantas como inseticida e acaricida (frutas, cereais, forragem, vegetais, batata, algodão, tabaco, floresta de pinus, grãos estocados) (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1976).

A mistura de fosmete com outros agrotóxicos possui efeitos sinérgicos com compostos tais como o Trimidan (carbofenotiona) com o acefato e com 4-fenil-1,3-dioxan (LARGE; PITTT, 1975; NAKATOMI; ISHBE, 1975; UETANI et al, 1974 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1976).

As condições necessárias de proteção coletiva durante o uso são: ventilação e exaustão local. Impedir a dispersão de poeira ou névoa e evitar a exposição de adolescentes e das crianças. Não pode ser transportado junto com alimentos ou ingredientes destinados a alimentos (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2004).

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). Os efeitos tóxicos associados aos organofosforados de forma geral são: a neurotoxicidade, a imunotoxicidade, a carcinogenicidade, a desregulação endócrina e alterações no desenvolvimento do indivíduo.

Algumas condições como idade, gênero, via e dose de exposição contribuem para uma maior susceptibilidade 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 ocupadas 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)

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

1998	5.268	1.663	31,57
1997	5.474	1.457	26,62

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

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 susceptibilidade na atividade de aplicação de agrotóxicos e de modos de aplicação.

Os trabalhadores são um dos 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. Não são utilizados equipamentos de proteção individual porque estes são caros, desconfortáveis e inadequados para o clima quente da região. A falta de treinamento e o escasso conhecimento sobre os perigos dos agrotóxicos contribuem para a manipulação incorreta durante a preparação, aplicação e disposição das embalagens vazias. Nestas condições é alta a exposição dos agricultores, suas famílias, consumidores e 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 e vida (ARAUJO, 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 em 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 et al, 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, 2000). 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 (2005) 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 outros estudos (SENANAYAKE; PEIRES, 1995; SAADEH et al, 1996; SOTH; HOSOKAWA, 2000; SOARES; ALMEIDA; MORO, 2003).

A literatura científica internacional tem registrado evidências de intoxicações por agrotóxicos em populações, particularmente crianças e suas famílias, que envolvem dois mecanismos principais: a exposição ocupacional direta e a exposição por proximidade da atividade ocupacional. Revisão de literatura desenvolvida por Sterman-smith (2008), demonstram essas evidências na medida em que os estudos analisados registraram elevados níveis de concentração de OP, particularmente o fosmete, nas amostras analisadas desde poeira a solo domiciliar, o que pode representar contaminação, pelas roupas ou sapatos, como um importante vetor domiciliar.

Com semelhante preocupação, Simcox et al (1995) em estudo transversal para avaliar a exposição de crianças oriundas de famílias de agricultores, encontraram significância estatística para os altos níveis de concentração de OP na poeira domiciliar e solo de residências onde pelo menos um dos moradores era trabalhador rural, quando comparado com outros domicílios de controle, localizadas em área distante e cujos pais não eram envolvidos na atividade agrícola. Esse estudo, desenvolvido em área agrícola do Estado de Washington, contou com amostras coletadas do solo de área onde as crianças brincavam em 59 residências, sendo 26 de fazendeiros, 22 de trabalhadores rurais e 11 de famílias não rurais. O fosmete foi um dos OP analisados por cromatografia de fase gasosa/detecção espectrofotometria seletiva de massa. Os dados revelaram que o fosmete era utilizado por 22% dos agricultores e havia sido aplicado há cerca de 1 a 4 semanas antes da coleta da amostra. Todos os compostos OP foram identificados em 62% das amostras e dois terços dos domicílios apresentaram um OP em nível superior a 1000ng/g. Embora utilizado por apenas 22% dos agricultores, o fosmete foi identificado em 98% das amostras provenientes de famílias agrícolas, das quais, em 96% das amostras de fazendeiros e 100% de trabalhadores rurais, tendo sido considerado o OP com níveis mais elevados nessas amostras. A concentração de compostos OP foi significativamente inferior nos domicílios de referência, sendo que a concentração média de fosmete observado foi entre 3 a 5 vezes mais elevada do que nas residências de referência, tendo sido responsável pela maior concentração observada nas amostras analisadas, em que a concentração total dos OP foi de 21,5 ppm, e a de fosmete foi de 17 ppm. Esse estudo nos EUA demonstra que crianças de famílias de agricultores apresentam alto potencial de exposição a OP, particularmente o fosmete, com elevado risco de provável intoxicação por esse composto.

Para avaliar a relação entre exposição crônica a agrotóxicos e os efeitos neurocomportamentais entre trabalhadores agrícolas, comparando com outros trabalhadores, Rothlein et al (2006), procederam com análises dos níveis de metabólitos como o dialquil-fosfato urinário, análises de poeira domiciliar, informações sobre as práticas de trabalho, aplicando em seguida um teste de avaliação neurocomportamental (Behavioral Assessment and Research System – BARS). Os trabalhadores agrícolas apresentavam exposição a vários OP, dentre os quais fosmete foi identificado em 96% das amostras domiciliares. O estudo demonstrou significativa correlação entre os níveis de metabólito urinário e baixa *performance* no teste neurocomportamental.

Em estudo para avaliar a exposição ocupacional a agrotóxicos, seus riscos para a saúde e os mecanismos de regulação do Estado da Califórnia, Woodruff et al (1994) compararam dose estimada de 41 compostos, dentre os quais o fosmete, com indicadores de toxicidade aguda. Os autores destacam que as doses estimadas de agrotóxicos absorvidos pelos trabalhadores representam significantes percentagens de medidas de toxicidade, especialmente para efeitos crônicos, que se apresentaram mais elevados dos que os agudos. Essa questão se torna mais importante ao observar que esse grupo populacional geralmente apresenta dificuldades de acesso a recursos tecnológicos de controle e monitoramento de riscos e danos à saúde. Além disso, constata-se dificuldade em se estabelecer relação direta entre exposição e os efeitos crônicos, o que demanda o desenvolvimento de estudos epidemiológicos para analisar os efeitos crônicos decorrentes da exposição a agrotóxicos.

2. Toxicocinética

3.1 Vias de absorção

O fosmete é um organofosforado lipossolúvel (GOOD et al, 1993; PURDEY, 1998) rapidamente absorvido em mamíferos através das vias digestiva, respiratória e dérmica (EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998; INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994; 2004; ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2006). 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).

Diversos fatores podem interferir na absorção dos organofosforados, modificando a toxicocinética e toxicidade desses compostos. A temperatura ambiental elevada e alta umidade relativa aumentam a absorção cutânea, possivelmente em consequência do aumento da taxa de respiração, da frequência e do fluxo sanguíneo para os tecidos que ocorrem nestas condições. 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).

Um estudo de absorção dérmica conduzido em ratos machos [linhagem Crl: CD[®] (SD) BR] com a formulação Imidan 50-WP, revelou que urina foi a principal rota de excreção e em menor quantidade as fezes. Os níveis de doses foram diluídos nas seguintes proporções: 1 para 2 (dose A), 1 para 10 (dose B) e 1 para 100 (dose C). A média do percentual de dose excretada na urina no intervalo entre 10-24h foi 0,1% para a dose A; 1,1% para a dose B e 5,4% para a dose C. (Jeffcoat, A. R *et al*, 1987)

3.2 Distribuição

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). A exposição pré-natal a organofosforados foi demonstrada através da detecção de desses compostos e de seus metabólitos no mecônio, o conteúdo intestinal do recém-nascido, em decorrência da absorção através do cordão umbilical, difusão através da superfície da placenta e ou deglutição do líquido amniótico pelo feto (WHYATT et al, 2001 apud BURATTI; LEONI; TESTAI, 2007).

O fosmete atravessa a placenta (ACKERMANN et al, 1976 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994; ACKERMANN; ENGST, 1970 apud PURDLEY, 1998). Há indícios de concentração fetal, uma vez que o fosmete foi encontrado no feto em níveis duas vezes maiores que os detectados nas mães (ACKERMANN; ENGST, 1970 apud PURDLEY, 1998). O

fosmete também produz efeitos teratogênicos como hidrocefalia em proles de ratos cujas mães foram expostas a doses diárias de 1,5 mg/kg de fosmete durante o 13º dia de gestação (MARTSON; VORONINA, 1976).

A absorção, distribuição, metabolismo e excreção de ¹⁴C-fosmete foram estudados em ratos, caprinos e galinhas. O produto foi rapidamente absorvido e distribuído em todas as três espécies. Caprinos em lactação tiveram adicionados na dieta uma dose equivalente de 8-8,8 ppm de ¹⁴C-fosmete durante 04 dias. Menos de 6% da dose administrada permaneceu nos tecidos comestíveis no momento do abate entre 13-14 horas após a última dose. O total de radioatividade equivalente variou de 0,006mg/kg de fosmete no tecido adiposo a 0,24 mg/kg nos rins. Nove metabólitos contendo o núcleo ftalimida foram identificados. Não foram detectados fosmete ou fosmete-oxon nos tecidos comestíveis (<0,002-0,003 mg/kg) ou no leite (<0,004 mg/kg) (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998).

Em galinhas em fase de postura tratadas com fosmete detectou-se no momento do abate que os tecidos comestíveis e os ovos tinham apenas 0,3% da dose total. Nas gemas dos ovos o maior nível equivalente a fosmete foi de 0,040 mg/kg no 7º dia, e nas claras dos ovos 0,007 mg/kg no 4º dia. No abate os níveis de radioatividade total equivalente ao fosmete foram de 0,24 mg/kg no fígado, 0,21 mg/kg nos rins, 0,021 mg/kg no músculo do peito, 0,015 mg/kg no músculo da coxa, 0,005 mg/kg no tecido adiposo e 0,068 mg/kg no sangue. O fosmete não foi detectado (<0,005 mg/kg) em nenhum dos tecidos comestíveis, 0,001 mg/kg foi encontrado nas gemas dos ovos. Nenhum dos metabólitos excedeu 0,005 mg/kg nos tecidos comestíveis ou nos ovos. Os metabólitos identificados nos tecidos comestíveis e nos ovos foram a ftalimida e o ácido ftálico (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998).

Em um estudo envolvendo caprinos em lactação (raça não especificada), fosmete marcado com ¹⁴C foi adicionado na dieta no equivalente a 8 ppm por 4 dias. Os níveis de resíduos no leite foram de 0,014-0,017 ppm, representando 0,2% da dose administrada. O fosmete não foi detectado no leite ou nos tecidos comestíveis. Os metabólitos que foram detectados incluíram N-(metiltiometil)ftalimida e o ácido N(metilsulfonilmetil)ftálico. Houve diferenças consideráveis nas concentrações relativas dos metabólitos nos diferentes tecidos, com elevada proporção de ácido N(metilsulfonilmetil)ftálico no leite, rins e músculo. No leite o metabólito mais

abundante foi o N-(metiltiometil)ftalimida (TARR; HEMINGWAY, 1993a apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

Fosmete marcado com ^{14}C foi adicionado na dieta de 15 galinhas da raça Leghorn em fase de postura numa concentração de 10,5 ppm por 7 dias. Os metabólitos detectados nos tecidos comestíveis e nas gemas dos ovos incluíram a ftalimida e o ácido ftálico (TARR; HEMINGWAY, 1993b apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

Grupos de 5 machos e 5 fêmeas de ratos Sprague-Dawley foram tratados com uma dose oral única de 1 ou 25 mg/kg de ^{14}C -fosmete. Outros grupos foram tratados com 14 doses diárias de 1 mg/kg de fosmete seguido de uma dose oral única de 1 mg/kg do composto marcado. As menores concentrações foram encontradas nos ossos e nos tecidos adiposos e as maiores marcações na pele e, em menor extensão, nos rins (FISHER, 1989 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

3.3 Biotransformação

O fosmete é metabolizado e convertido nos metabólitos oxon fosmete, ácido N-(metilsulfinilmetil)ftalâmico, ácido N-(metilsulfonilmetil)ftalâmico, N-(metiltiometil)ftalimida, O,O-dietilfosforotioato (MC BAIN; MENN; CASIDA, 1968; FORD; MENN; MEYDING, 1966; FISHER, 1989, TARR; HEMINGWAY, 1993).

A administração oral (gavage) do fosmete radiomarcado (^{14}C -R-1504) revelou que a substância teste é rapidamente e predominantemente eliminada pela urina. Os dois metabólitos majoritários identificados foram: o Ácido N-(metilsulfinilmetil) ftalâmico – PaAMS(O)M (52 – 66%) e ácido N-(metilsulfonilmetil) ftalâmico - PaAMS(O₂)M (8 – 26%). (Fisher, G. D., 1990).

A conversão do fosmete a oxon fosmete se dá pela ação do sistema enzimático NADPH₂, como observado em ratos (MC BAIN; MENN; CASIDA, 1968). Já a hidrólise do fosmete produz O,O-dietilfosforotioato (FISHER, 1989).

Após a administração através de inoculação direta de fosmete, foi observado que fetos de ratos metabolizam rapidamente esse organofosforado, produzindo ftalimida, ácido ftálico e seus derivados hidrolisados (ACKERMANN *et al*, 1978).

3.4 Excreção

O fosmete é rapidamente excretado em mamíferos principalmente através da urina, e, em menor proporção, pelas fezes. Baixos níveis do composto são excretados ainda na forma de CO₂ através do ar expirado. Através dessas vias, são excretados tanto o composto original quanto os seus metabólitos (EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998; INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994; 2004; ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2006).

O fosmete é rapidamente eliminado em mamíferos. Ratos tratados com dose única de 23 a 35 mg/kg de fosmete excretaram mais de 75% da dose pela urina e por volta de 15% nas fezes. Menos de 3% foi encontrado nos tecidos após 2 dias (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION 1986 apud EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996). Outros estudos mostraram aproximadamente que 80% da dose é eliminada pela urina e 20% pelas fezes após 03 dias.

Os alquilfosfatos dimetilfosfato (DMP), dimetiltiofosfato (DMTP) e dimetilditiofosfato (DMDTP) são metabólitos comuns que se originam a partir da biotransformação do fosfato em humanos. Todavia, não são metabólitos específicos para esse composto (FENSKE et al, 2000; APREA *et al*, 2004; ROTHLEIN *et al*, 2006).

4. Avaliação Toxicológica

A toxicidade aguda do ingrediente ativo (IA) fosmete foi avaliada com base nos dados disponíveis em relatórios de agências ou institutos internacionais, tais como o EPA (Environmental Protection Agency) e o IPCS (International Programme on Chemical Safety), bem como nos estudos encaminhados à ANVISA com o intuito de suportar o registro dos produtos técnicos e formulados à base desse IA. Os estudos foram conduzidos em animais experimentais (ratos, coelhos, camundongos, entre outros) através da exposição pelas vias oral, inalatória, dérmica, ocular, intraperitoneal, percutânea e subcutânea. Os dados de doses letais (oral e dérmica) e concentrações letais estão sumarizados na tabela 2.

Tabela 2 - Estudos de toxicidade aguda do ingrediente ativo fosmete

Espécie	Linhagem	Via	Pureza (%)	DL50 (mg/kg) ou CL50 (mg/l)	Referência
Rato	Charles River	Oral	92,5	121,3	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Oral	-	113	EPA (2000)
Rato	Sprague-Dawley	Oral	-	♂ - 310	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Wistar (albino)	Oral	95,4	229,56	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	albino	Oral	-	♂ - 310 (267 – 360)	Ray, D. G. (1964) <i>apud</i> IPCS (1994)
Rato	Sprague - Dawley	Oral	-	♂ - 245 (161 – 367)	Meyding, G. D. (1965) <i>apud</i> IPCS (1994)
Rato	Sprague – Dawley albino	Oral	98	♂ - 140 (76 – 255)	Nuclear Science Corp. (1962) <i>apud</i> IPCS (1994)
Rato	albino	Oral	-	92,5 - 164	Danilenko, L. P. (1969) <i>apud</i> IPCS (1994)
Rato	Sprague – Dawley albino	Oral	-	135 - 147	Bullock, C. H. (1971) <i>apud</i> IPCS (1994)
Rato	Sprague – Dawley albino	Oral	92,5	♂ - 121,3 (90,6 – 162,5) ♀ - 121,3 (96,7 – 152,1)	Castles, T. R. (1977) <i>apud</i> IPCS (1994)
Camundongo	Swiss-Webster albino	Oral	-	♂ - 50,1 (34,4 – 73)	Meyding, G. D. (1965) <i>apud</i> IPCS (1994)
Camundongo	Swiss-Webster albino	Oral	-	♂ - 20 - 43	Bullock, C. H. (1971) <i>apud</i> IPCS (1994)
Camundongo	-	Oral	95	♂ - 36,9 (21,7 – 62,8)	Bullock, C. H. (1972) <i>apud</i> IPCS (1994)
Camundongo	albino	Oral	-	38 (♂ e ♀)	Johnston, C. D. (1966) <i>apud</i> IPCS (1994)
Camundongo	albino	Oral	-	26 - 60	Danilenko, L. P. (1969) <i>apud</i> IPCS (1994)
Porquinho da Índia	-	Oral	-	200	Danilenko, L. P. (1969) <i>apud</i> IPCS (1994)
Galinha	White Leghorn	Oral	94,7	♀ - 2020	Sprague, G. L. (1982) <i>apud</i> IPCS (1994)
Rato	Wistar	Dérmica	92,7	>1.000	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Coelho	-	Dérmica	-	>5.000	EPA (2000)
Rato	Charles River	Inalatória (4h)	92,5	0,15	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Inalatória	-	>0,152	EPA (2000)
Camundongo	Swiss-Webster	Subcutânea	-	♂ - 300	Meyding, G. D. (1965) <i>apud</i> IPCS (1994)
Rato	Sprague - Dawley	Subcutânea	-	♂ - >1.200	Meyding, G. D. (1965) <i>apud</i> IPCS (1994)
Coelho	New Zealand	Percutânea	92,5	>5.000	Castles, T. R. (1977) <i>apud</i> IPCS (1994)
Camundongo	Swiss-Webster	Intraperitoneal	-	40 - 50	Meyding, G. D. (1965) <i>apud</i> IPCS (1994)
Rato	Sprague - Dawley	Intraperitoneal	-	≅ 100	Meyding, G. D. (1965) <i>apud</i> IPCS (1994)

Os estudos agudos conduzidos com o fosmete mostraram elevada toxicidade pelas vias oral e inalatória. As principais alterações observadas nos estudos de DL₅₀ oral foram: edema e congestão nos pulmões, estômago com focos vermelhos e

hemorrágicos, bexiga com espessamento de mucosa e hemorragia, tremores, salivação, prostração, cromodacriorréia, urina em excesso e diminuição dos reflexos. Ratos expostos pela via inalatória apresentaram, durante o período de exposição, irritação nasal e ocular, inquietação e estrabismo.

Com relação à via dérmica e ocular, o fosmete foi considerado levemente irritante para a pele e olhos de coelhos. Os testes de sensibilização dérmica foram considerados negativos.

4.1 Toxicidade subcrônica

Estudo 1

Ano: 2003

Espécie: Cães (Beagle)

Número de animais: 3/grupo/sexo

Doses: 1,5; 3 e 6 mg/kg/dia

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 4 semanas

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 97%

Referência - Brow, M. A. *et al.* (2003). Dose-range finding oral (feeding) toxicity study in the dog. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do ingrediente ativo fosmete quando administrado na dieta de cães pelo período de 4 semanas, bem como estabelecer níveis de doses para estudos subsequentes.

A atividade da colinesterase plasmática foi inibida nos machos e fêmeas tratados com a maior dose. Houve inibição da ação da colinesterase eritrocitária, com significância estatística, nos machos que receberam 1,5 mg/Kg/dia, bem como nos machos e fêmeas tratados com 3 e 6 mg/Kg/dia. Quanto à atividade da colinesterase cerebral, foi observada inibição, com significância estatística e biológica, nos animais que receberam a substância teste na dieta. O LOAEL fixado para o estudo foi de 1,5 mg/Kg de peso corpóreo por dia

Estudo 2

Ano: 1962

Espécie: Cães (Beagles)

Número de animais: 4/grupo/sexo

Doses: 10, 75 e 563 ppm

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 14 semanas

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 98% ± 0,5

Referência - Johnston, C.D. (1962) Imidan: an evaluation of safety of Imidan in the rat and the dog. Stauffer Chemical Company. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

O fosmete foi incorporado na dieta de cães por 14 dias com o objetivo de avaliar o potencial de toxicidade dessa molécula. Após o período de exposição, um animal tratado com a menor dose e outro com a dose intermediária apresentaram diminuição do peso corpóreo, essa perda variou entre 7 e 14% do peso inicial dos mesmos.

Houve inibição da atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária nos animais tratados com a maior dose. Já a colinesterase cerebral apresentou 95% de inibição nos animais que receberam 563 ppm da substância teste.

Os animais do grupo de maior dose apresentaram aumento no peso relativo dos rins e adrenais. Com relação aos achados histopatológicos, foram observadas alterações sutis nas células do fígado dos animais tratados com a maior dose.

Estudo 3

Ano: 1962

Espécie: Ratos (Charles River)

Número de animais: 15/grupo/sexo

Doses: 20, 100 e 500 ppm

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 14 semanas

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 98% ± 0,5

Referência - Johnston, C.D. (1962) Imidan: an evaluation of safety of Imidan in the rat and the dog. Stauffer Chemical Company. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

O objetivo do estudo foi avaliar o potencial tóxico do ingrediente ativo fosmete. Dois grupos (I e II) de ratos foram tratados com a substância teste incorporada à dieta. O primeiro grupo de ratos foi tratado por 14 semanas e um segundo grupo foi

introduzido ao estudo aproximadamente 4 semanas após o início do primeiro. Um animal tratado com a maior dose morreu na 13ª semana de estudo.

A média do peso corpóreo dos machos do grupo I que receberam a maior dose foi cerca de 85% o peso dos animais do controle na 14ª semana. A média do peso para os demais grupos (I e II) de ambos os sexos foi 90% dos respectivos controles.

A atividade da colinesterase eritrócitária foi, na segunda semana de tratamento, drasticamente inibida nos animais (fêmeas e machos) que receberam a maior dose, permanecendo praticamente inibida durante a 3ª e 14ª semana. Com relação aos machos e fêmeas tratados com 100 ppm foi observada cerca de 50% de inibição dessa enzima.

Machos tratados com 500 ppm de fosmete apresentaram, na 13ª semana do estudo, cerca de 50% da atividade da colinesterase plasmática inibida. Já as fêmeas que receberam a maior dose apresentaram somente cerca de 20% dessa enzima em atividade durante a 14ª semana. Com relação aos animais (machos e fêmeas) tratados com 100 ppm da substância teste foi observada ligeira inibição da atividade da colinesterase plasmática. Os grupos tratados com a menor dose praticamente não apresentaram inibição na ação dessa enzima.

Avaliações da colinesterase cerebral indicaram que apenas 20 – 25% dessa enzima permaneceram ativas nos ratos tratados com a maior dose, cerca de 60% nos grupos que receberam 100 ppm de fosmete e 90 – 95% nos animais tratados com a menor dose.

Foi observada ligeira diminuição na média do peso relativo da próstata de machos que receberam a maior dose da substância teste e um aumento sutil no peso relativo dos rins de fêmeas tratadas com 100 e 500 ppm de fosmete. Quanto aos achados histopatológicos, foi observada ligeira degeneração das células do fígado principalmente nos animais que receberam a maior dose.

4.2 Toxicidade crônica

4.2.1 Estudos de carcinogenicidade e genotoxicidade

Estudo 1

Ano: 1966

Espécie: Ratos (Charles River)

Número de animais: 25/grupo/sexo

Doses: 20, 40 e 400 ppm

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 2 anos (24 meses)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): não especificada

Referência – Lobdell, B. J. & Johnston, C.D. (1966) Imidan: safety evaluation by two-year feeding studies in the rat and the dog. Stauffer Chemical Company. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

Ratos foram tratados com fosmete incorporado à dieta durante dois anos com o objetivo de avaliar a toxicidade em longo prazo. Durante o período compreendido entre a 8ª e 96ª semana os machos e as fêmeas tratados com a maior dose apresentaram de 83 a 97% e de 90 – 100%, respectivamente, do peso corpóreo dos animais não tratados com a substância teste.

A atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária foram inibidas em cerca de 70 – 74% nos animais (machos e fêmeas) tratados com a maior dose no período entre a 14ª e a 104ª semana de estudo. Ao final do estudo, os machos tratados com 40 ppm de fosmete apresentaram a atividade da colinesterase eritrocitária inibida em 10% e a da colinesterase plasmática em 45%. A atividade da colinesterase cerebral foi substancialmente inibida ao término do estudo nos ratos, de ambos os sexos, que receberam 400 ppm da substância teste.

Os dados de autópsia revelaram aumento na incidência de acúmulo de muco no trato respiratório, bem como aumento do peso dos pulmões nos animais tratados com a maior dose. Outros achados incluem: alterações inflamatória crônica e aguda nos pulmões e rins, congestão de pulmão, fígado e rins, degeneração hepática e renal e uma variedade de neoplasmas. A histopatologia mostrou que, nos animais que receberam 400 ppm de fosmete na dieta, a broncopneumonia foi uma anormalidade comum, bem como moderada vacuolação em células do fígado. Uma grande porção de ratos que receberam 400 e 40 ppm de fosmete apresentou neoplasmas na glândula pituitária, em comparação aos grupos controle e tratados com a menor dose. Também foram observados adenomas na tireóide em todos os grupos tratados, inclusive no grupo que não recebeu a substância teste.

Devido ao pequeno número de animais que sobreviveram até o término do estudo, não foi possível estabelecer uma conclusão satisfatória sobre o potencial carcinogênico do fosmete.

Estudo 2

Ano: 1966

Espécie: Cães (Beagles)

Número de animais: 3/grupo/sexo

Doses: 20, 40 e 400 ppm

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 2 anos (24 meses)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): não especificada

Referência – Lobdell, B. J. & Johnston, C.D. (1966) Imidan: safety evaluation by two-year feeding studies in the rat and the dog. Stauffer Chemical Company. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

O objetivo do estudo foi avaliar o potencial carcinogênico do ingrediente ativo fosmete, quando administrado na dieta de cães durante dois anos.

Todos os cães sobreviveram, à exceção de uma fêmea tratada com a maior dose, que foi sacrificada na 52ª semana por apresentar péssimas condições de saúde.

No começo da 29ª semana foram observados os seguintes sinais: ansiedade, atividade reduzida, dilatação parcial da pupila, lacrimejamento, hiperatividade, “acomodação incompleta”, salivação excessiva, êmese, alopecia e/ou dermatite não específica, ligeira a definida injeção escleral, leve a moderada hiperemia da gengiva e da mucosa oral, diarreia e/ou fezes mucóides.

No dia do sacrifício, um cão apresentou tremores musculares e enrijecimento dos membros; e alguns foram encontrados ensanguentados na gaiola. Foram observados edema em todo o trato gastrointestinal com evidência de hemorragia no estômago. Em adição, as adrenais pareciam ampliadas, o baço apresentou textura granular e a glândula pituitária aspecto hemorrágico.

Na 42ª semana do estudo uma fêmea tratada com a maior dose apresentou alteração da frequência cardíaca e outra tratada com a menor dose exibiu elevação da temperatura corpórea. Na 52ª semana, um macho tratado com a maior foi sacrificado em estado terminal após receber 400 ppm de fosmete na dieta, as alterações

histopatológicas revelaram moderada atelectasia e congestão pulmonar, congestão do fígado, do baço e das adrenais e infiltração celular ao redor dos rins.

Estudo 3

Ano: 1991

Espécie: Sprague-Dawley

Número de animais: 60 ou 70*/grupo/sexo e 20**/grupo/sexo

Doses: 20, 40, 200ppm (12 e 24 meses) e 400 ppm (12 meses), equivalente a 1,1; 1,8; 9,4 e 23 mg/kg/dia para machos e 1,1; 2,1; 10,9 e 27 mg/kg/dia para fêmeas.

Via: Oral (dieta)

Tempo máximo de exposição: 2 anos (24 meses)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 94.3% (a repetição do ensaio mostrou que a pureza da substância teste era de 95,2%).

Referência – Chang, J.C.F., Morrissey, R.L. & Wyand, S. (1991) 2-Year chronic toxicity/oncogenicity study with R-1504 in rats. Laboratório Ciba-Geigy Corp. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

*Grupo controle

**Grupo tratado com 400 ppm (grupo satélite)

O objetivo do estudo foi avaliar o potencial carcinogênico do ingrediente ativo fosmete, quando administrado na dieta de ratos pelo período de até dois anos. Os ratos foram divididos em 4 grupos de dose (20, 40 200 e 400 ppm) mais um grupo que não recebeu a substância teste, os animais foram tratados pelo tempo máximo de 24 meses, a exceção do grupo tratado com 400 ppm que permaneceu no estudo por 1 ano.

Durante todo o estudo, foi observada redução no ganho de peso nos animais, de ambos os sexos, tratados com a maior dose e durante a fase inicial nas fêmeas tratadas com 40 e 200 ppm.

A inibição da atividade das colinesterases foi um efeito atribuído à administração do fosmete. Os machos tratados com a menor dose apresentaram, aos 6 meses de estudo, diminuição na ação da colinesterase eritrocitária em torno de 16% em relação ao grupo controle, já os que receberam 40 ppm a inibição foi, nos intervalos de 6, 18 e 24 meses, entre 16 – 19% e de 64 – 71%, em todos os períodos avaliados, nos machos que receberam 200 ppm da substância teste; nos tratados com 400 ppm, aos 6 e 12 meses, a redução foi de cerca de 77%. A colinesterase plasmática foi deprimida, com

significância estatística, em quase 50% nos grupos de machos que receberam a maior dose, aos 6 e 12 meses de estudo, em comparação ao grupo controle e em cerca de 54% no intervalo de 18 meses nos tratados com 200 ppm. Houve inibição, com significância estatística, da colinesterase cerebral nos machos que receberam 200 ppm de fosmete na dieta, aos 12 meses essa inibição foi de 20% em comparação ao controle e de 12% ao término do estudo, já no grupo tratado com 400 ppm a inibição foi de 34% no período de 12 meses.

Com relação às fêmeas, também foi observada inibição na atividade da colinesterase plasmática, eritrocitária e cerebral. A atividade da colinesterase plasmática foi significativamente deprimida em relação ao controle, nas fêmeas tratadas com 40 ppm, aos 6 meses de estudo, a inibição foi de 26%, com 200 ppm, no período de 6 – 24 meses, de aproximadamente 50% e na maior dose foi entre 68 – 74%, nos intervalos de 6 e 12 meses. Quanto à ação da colinesterase eritrocitária, houve decréscimo de cerca de 20% no grupo tratado com 40 ppm, aos 6, 18 e 24 meses; as fêmeas que receberam 200 ppm exibiram, em todos os intervalos avaliados, inibição que variou de 70 – 77% e as tratadas com a maior dose a depressão dessa enzima ficou entre 78 – 91%. Aos 12 e 24 meses de estudo, a atividade da colinesterase cerebral foi inibida, de 27% e 19 %, respectivamente, nas fêmeas que receberam 200 ppm e nas tratadas com 400 ppm essa inibição foi de 43% na avaliação que ocorreu aos 12 meses.

A análise hematológica mostrou, aos 6 meses de estudo, que machos tratados com 200 ppm de fosmete apresentaram redução na quantidade de células brancas do sangue, essa alteração foi estatisticamente significativa. Nas fêmeas, os parâmetros hematológicos que também apresentaram alterações com significância estatística incluem: redução na quantidade de células brancas nos grupos tratados com 20, 40 e 200 ppm, diminuição na concentração de hemoglobina e nos valores de hematócritos nas fêmeas que receberam 400 ppm da substância teste e nas tratadas com 40, 200 e 400 ppm houve decréscimo na média do volume corpuscular.

A avaliação histopatológica revelou, durante a última metade do estudo, um aumento na incidência de gordura no fígado nos machos tratados com as maiores doses e nas fêmeas que receberam 200 ppm de fosmete, os machos exibiram um perfil mais severo dessa alteração.

O NOEL estabelecido pelo diretor do estudo foi de 20 ppm (equivalente a 1,1 mg/kg/dia para machos e fêmeas), baseado na inibição da atividade da colinesterase, nas

alterações de parâmetros hematológicos e na incidência e severidade de gordura no fígado.

Estudo 4

Ano: 1984

Espécie: Camundongos (B6C3F1)

Número de animais: 60/grupo/sexo

Doses: 5, 25 e 100 ppm

Via: Oral (dieta)

Tempo máximo de exposição: 2 anos (24 meses)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 94,7%

Referência – Katz, A., Frank, D.W., Zwicker, G.M., Sprague, G.L., Turnier, J.C. & Freudenthal, R.I. (1984). Two-year dietary oncogenicity study in mice with Imidan technical. Stauffer Chemical Company. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

O intuito do estudo foi averiguar o potencial carcinogênico do fosmete quando administrado a camundongos pelo período de dois anos. Os animais foram divididos em 3 grupos de dose (5, 25 e 100 ppm) mais um grupo que não recebeu a substância teste (grupo controle).

Um achado relacionado à exposição de camundongos à substância teste foi o aumento, com significância estatística, na incidência de convulsões nos machos tratados com a maior dose em relação ao grupo controle.

A atividade das colinesterases foi inibida nos animais tratados. Machos e fêmeas expostas a maior dose apresentaram, aos 12 meses e ao término do estudo, inibição de aproximadamente 50% na ação da colinesterase plasmática. Fêmeas que receberam 25 ppm de fosmete exibiram aos 12 meses do estudo ligeira depressão (13%) na atividade da colinesterase plasmática. A avaliação da colinesterase cerebral no intervalo de 12 meses revelou que as fêmeas que receberam o fosmete na dieta apresentaram inibição dessa enzima entre 28 – 34% e entre 22 – 31% nos machos. Ao término do estudo, as fêmeas expostas a 25 e 100 ppm apresentaram 14 e 22%, respectivamente, de inibição na atividade da colinesterase cerebral.

Com relação aos parâmetros hematológicos, foram observadas, aos 12 meses de estudo, reduções nos níveis de hemoglobina e hematócrito nos machos tratados com a maior dose. Todas as fêmeas que receberam fosmete na dieta apresentaram ligeira

redução nos valores de hematócrito, aumento na média da concentração de hemoglobina corpuscular e discreta depressão na quantidade média de hemácias durante a primeira metade do estudo.

Machos tratados com 100 ppm da substância teste apresentaram, aos 12 meses de estudo, aumento no peso do fígado, e ao final do estudo foi observado a prevalência de vacuolação citoplasmática nos hepatócitos. As fêmeas que receberam a maior dose exibiram, aos 12 meses, significativa redução no peso do cérebro, coração e rins.

Quando aos achados neoplásicos, houve um significativo aumento de adenomas hepáticos nos machos tratados por 2 anos com 100 ppm. A incidência de carcinoma hepatocelular foi semelhante entre os machos tratados com a maior dose e os que não receberam o fosmete na dieta. Durante todo o estudo, o número total de animais com tumores benignos e/ou malignos foi: 23, 21, 23 e 36, nos machos que receberam, respectivamente, 0, 5, 25 e 100 ppm da substância teste. As fêmeas tiveram 10, 8, 8 e 18 tumores, respectivamente, no controle e nos grupos tratados com 5, 25 e 100 ppm.

Baseado na inibição da colinesterase cerebral e plasmática, nas alterações no fígado (vacuolação e adenomas) e no aumento da incidência de convulsões, o NOEL estabelecido para o estudo foi de 5 ppm, equivalente a 1 e 1,2 mg/Kg/dia para machos e fêmeas, respectivamente.

Dados na literatura indicam que vários OP 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;).

Ensaio biológico *in vitro e in vivo*, mediante análise genotóxica e carcinogênica de OP 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.

Um bioensaio em 26 ratos com dieta de fosmete, 400 ppm por 16 semanas, mostrou lesões neoplásicas e pré-neoplásicas no rim e na tireóide (HASEGAWA et al, 1993). O IPCS, analisando um estudo de 1986, concluiu que em camundongos o fosmete não foi carcinogênico, porém dos dois estudos em ratos apenas um de 1991 foi conclusivo para a carcinogenicidade, o outro de 1966 foi feito em um pequeno grupo e com um número pequeno de ratos que permaneceram vivos até o final do estudo, sendo

por isso de difícil interpretação quanto ao potencial carcinogênico do fosmete (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2004).

Fosmete se mostrou mutagênico no teste de Ames na presença e na ausência de ativação metabólica nas linhagens TA100 e TA97 (VLCKOVA et al, 1993) e em cultura *in vitro* de linfócitos humanos, com um aumento significativo de metáfases com aberrações cromossômicas (KURINNYI, ILINSKAIA, 1977).

Em um estudo de Slamenová (1992) foi identificado que o fosmete induziu lesões no DNA na presença e na ausência de ativação metabólica, mutagenicidade, com base na capacidade de induzir resistência de 6-tioguanina em células V79 de hamsters, e transformação morfológica em células embrionárias de hamster syrian.

Segundo o International Programme on Chemical Safety (1994) e os estudos aportados na ANVISA, o fosmete apresenta para testes de genotoxicidade as seguintes características (Tabelas 3 e 4):

Tabela 3: Ensaios *in vitro* e *in vivo* realizados para avaliação da genotoxicidade do fosmete.

Testes <i>in vitro</i>				
Desfecho	Microorganismo/ Linhagem de células	Conclusão	Ano do estudo	Observação
Mutação reversa	S. typhimurium	negativo	1975; 1976	Sem informação de pureza e ativação metabólica
	S. typhimurium	positivo	1983; 1986	
	B. subtilis	negativo	1975; 1976	Sem informação de pureza e ativação metabólica
	E. coli	negativo	1975; 1976;	
	E. coli	negativo	1983	Sem informação sobre ativação metabólica
Transformação celular	Células de camundongos	negativo	1986	
Mutação Forward Tk	Células de linfoma de camundongos	positivo ^a / negativo ^b	1986	^a na ausência de ativação metabólica ^b na presença de ativação metabólica
Aberração cromossômica	Células de linfoma de camundongos	negativo	1986	
Trocas entre cromátides irmãs	Células de linfoma de camundongos	positivo	1986	
Quebra e reparo de DNA	Fibroblastos humanos	negativo	1986	
Testes <i>in vivo</i>				
Micronúcleo	Medula óssea de camundongos	negativo	1986	

Fonte: INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (1994) adaptado.

Tabela 4: Ensaios *in vitro* e *in vivo* realizados para avaliação da genotoxicidade do fosmete, aportados na ANVISA.

Tipo do teste	Microrganismo/ animal/ linhagem celular	Pureza (%)	Doses	Resultado	Referência
Aberrações cromossômicas	Células de linfoma de camundongos	95,7	0,04 – 0,1 mg/ml* 0,008 – 0,04 mg/ml**	Negativo	Snyder, R. D. <i>et al</i> (1986a). Dossiê de registro submetido à ANVISA.
Dano e reparo do DNA	Fibroblasto Humano	95,7	0,25; 0,5 e 1 mg/ml	Negativo	Snyder, R. D. <i>et al</i> (1986b). Dossiê de registro submetido à ANVISA.
Ensaio para avaliar o potencial mutagênico	Células de linfoma de camundongos	95,7	0,004 – 0,04 mg/ml**	Negativo	Hertzel, K. M. <i>et al</i> (1986) Dossiê de registro submetido à ANVISA.
Ensaio para avaliar o potencial mutagênico	Células de linfoma de camundongos	95,7	0,02 – 0,1 mg/ml*	Negativo	Hertzel, K. M. <i>et al</i> (1986) <i>apud</i> IPCS (1994)

* Na ausência de ativação metabólica

** Na presença de ativação metabólica

A EPA, baseada nos estudos de carcinogenicidade e mutagenicidade do fosmete, aponta evidências sugestivas de carcinogenicidade em animais, mas não suficientes para avaliar o potencial carcinogênico em humanos (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2006).

4.3 Toxicidade sobre o sistema reprodutivo e desenvolvimento

4.3.1 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).

4.3.1.1 Estudos de toxicidade reprodutiva: multigeração

Em um estudo de três gerações realizado com ratos CD, no qual a geração F₀ foi formada por 2 grupos de 20 machos e 20 fêmeas, um grupo de cada sexo não recebeu tratamento, enquanto o outro recebeu 40 ppm de fosmete técnico (99% de pureza) na alimentação, equivalente a 2mg/kg pc/dia, ou metade dessa concentração durante as três primeiras semanas. Os animais de cada grupo foram acasalados duas vezes, e os filhotes foram examinados ao nascimento e ao desmame, quando os ratos F_{1a} foram mortos. Os ratos da geração F₀ foram sacrificados, mas não foi feita a necropsia. Os ratos da geração F_{1b} foram guardados para fazer três novos grupos de 20 ratos de cada sexo, os quais receberam 0, 40 ou 80 ppm de fosmete na dieta do desmame ao sacrifício. O acasalamento dos ratos da geração F_{1b} produziu as ninhadas F_{2a} e F_{2b}; os filhotes da geração F_{2a} foram sacrificados e os da geração F_{2b} foram usados, como na geração anterior, para fazer 3 novos grupos de ratos F_{2a} e F_{2b}. Os filhotes foram sacrificados no desmame. Os animais dos grupos tratados e controles foram comparados ao longo do estudo. A avaliação histopatológica dos animais da geração F_{3b} revelou conteúdo de glicogênio reduzido e vacuolização hepática mais frequentemente nos animais tratados do que nos animais controles; no entanto, os achados anteriores não em qualquer grupo de doses. O NOAEL para esse estudo foi fixado em 40 ppm, equivalente a 2 mg/kg pc/dia (HOLLINGSWORTH et al, 1965 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

Em um estudo de duas gerações, ratos foram expostos a 0,0; 20,0; 80,0 ou 300 ppm (equivalente a 1,5; 6,3 ou 24,3 mg/kg em machos F₀; 1,5; 6,3 ou 24,3 mg/kg em machos F₁; 1,5; 6,0 ou 24,4 em fêmeas F₀; e 1,5; 6,2 ou 26,4 mg/kg em fêmeas F₁) de fosmete (95,2% de pureza) na dieta. O tratamento da geração F₀ começou aos 56 dias de vida, e o acasalamento ocorreu 56 dias depois. Os animais da geração F_{1a} foram desmamados no dia 21 e sacrificados. Posteriormente, ratos da geração F₀ foram acasalados novamente para produzir a ninhada F_{1b}, da qual, em torno de, 25 machos e 25 fêmeas foram usados para formar os pais F₁. Os pais F₁ com aproximadamente 114

dias de vida foram acasalados para produzir a ninhada F₂. Foram observados sinais de toxicidade nos pais de ambas as gerações expostos a 80 e 300 ppm. Redução no ganho de peso corporal e no consumo de alimento foi observada nos animais de ambos os sexos expostos a 300 ppm. O peso dos testículos dos machos estava reduzido em ambas as gerações e redução do peso do baço e presença de vacuolização foi identificada na geração F₁. Foi observada desidratação nas fêmeas F₀ expostas a 300 ppm, e cromorinorréia foi vista nas fêmeas da geração F₁ na concentração de 300 ppm. Nos animais expostos a concentração de 80 ppm, foi observada redução do ganho de peso nos machos F₀ e redução da atividade colinesterásica eritrocitária em ambas as gerações; nas fêmeas parentais F₀ observou-se redução do ganho de peso durante a lactação e redução do peso relativo do fígado e das adrenais. Redução do peso relativa do baço e do timo foi observada na geração F₁, e redução da atividade colinesterásica eritrocitária em ambas as gerações. A atividade colinesterásica plasmática estava reduzida somente nos machos (pais) F₀. As taxas de acasalamento e fertilidade estavam reduzidas nos animais expostos a 80 e 300 ppm, e observou-se redução no número de filhotes por ninhada, redução do peso e da sobrevivência dos filhotes expostos a 300 ppm. O NOAEL para toxicidade dos pais e efeitos sobre o desempenho reprodutivo foi fixado em 20 ppm (equivalente a **1,3 mg/kg**), e para toxicidade do desenvolvimento foi fixado em 80 ppm (equivalente a 5,0 mg/kg) (MEYER; WALBERG, 1990 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

4.3.2 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).

Estudo 1

Ano: 1991

Espécie: Rato (Wistar)

Número de animais: 24/grupo/sexo

Doses: 5; 10 e 15mg/kg/dia

Via: Oral (gavage)

Tempo máximo de exposição: 7º ao 16º da gestação

Dia do sacrifício: 22º de gestação

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96,4%

Referência – Hodge, M.C.E. (1991) Phosmet: teratogenicity study in the rat. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

Os sinais de toxicidade materna observados durante o estudo foram: redução do ganho de peso e do consumo de alimentos e sinais clínicos, tais como agitação, piloereção, salivação, manchas ao redor do focinho e boca e incontinência urinária nos animais tratados com a maior dose.

Houve redução na ninhada do grupo tratado com 15 mg/kg/dia em relação ao grupo controle. Os filhotes dos grupos que receberam 5 e/ou 15 mg/kg/dia apresentaram ausência de ossificação na terceira e quarta vértebras cervicais em comparação aos animais não tratados com a substância teste. Segundo o autor do estudo esses achados não foram atribuídos à administração do fosmete.

O NOEL estabelecido para o estudo foi de 15 mg/kg de peso corpóreo por dia, baseado na toxicidade materna.

Estudo 2

Ano: 1991

Espécie: Coelho (New Zealand)

Número de animais: 20/grupo/sexo

Doses: 2; 5 e 15mg/kg/dia

Via: Oral (gavage)

Tempo máximo de exposição: 7º ao 19º da gestação

Dia do sacrifício: 30º de gestação

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 96,4%

Referência – Moxon, M.E. (1991) Phosmet: teratogenicity study in the rabbit. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

No grupo tratado com a maior dose foi observado: redução no ganho de peso materno, agitação, salivação, respiração irregular e “modo de andar sem uniformidade”.

Sinais de aborto foram observados em 3 animais tratados com 5 mg/kg que morreram próximo ao término do estudo (2 no dia 26 e 1 no dia 27). Nos outros grupos, foram observadas 3 mortes, uma no recebeu a menor dose e duas no grupo tratado com a maior dose.

Nos animais dos grupos que receberam 5 e 15 mg/kg/dia foi observado aumento, com relevância estatística, na incidência de fetos que apresentaram redução na ossificação de áreas específicas do esqueleto.

O NOAEL estabelecido pelo estudo para toxicidade materna e fetotoxicidade foi de 2 mg/kg.

Ratos

Ratas *Wistar* receberam uma dose única de 30 mg/kg de fosmete uma vez no dia 9 de gestação ou 1,5 mg/kg em dias alternados através da gestação. Observou-se um aumento da mortalidade pós-implantação dos embriões. Anormalidades no desenvolvimento, tal como hipognatia e hidrocefalia, foram verificadas nos animais expostos a dose de 30 mg/kg de fosmete nos dias 9 ou 13. O NOAEL não pôde ser fixado (MARTSON; VORONINA, 1976 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

Ratas CD receberam 10; 22; 27 ou 29 mg/kg de fosmete (95,8% de pureza), na dieta, entre os dias 6-15 de gestação, e foram sacrificadas no dia 21 de gestação. O tamanho dos grupos variou de 47 controles a 17 e 23 nas duas maiores doses. Foi observado redução no ganho de peso e consumo de alimentos nos animais expostos a 22 mg/kg de fosmete pc/dia. O NOAEL para toxicidade materna foi fixado em 10 mg/kg e para fetotoxicidade foi fixado em 29 mg/kg. Em um estudo similar no qual o fosmete foi administrado, via gavagem, nas doses de 5; 10; 20; 25 ou 30 mg/kg, foi observada uma diminuição na sobrevivência dos animais nas duas maiores doses. Não foi observada redução na proporção de ratas que ficaram grávidas na dose de 25 mg/kg, e redução do consumo de alimento em doses ≥ 10 mg/kg e redução do ganho de peso nas doses ≥ 20 mg/kg. O NOAEL não pôde ser fixado, pois o estudo não tinha um grupo controle positivo (STAPLES et al, 1976 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

Coelhos

Coelhas brancas New Zealand foram expostas à 35 mg/kg de fosmete por gavagem do dia 7 ao dia 12 de gestação; e foram sacrificadas no dia 28 de gestação. Não foram observados efeitos embriotóxicos, no entanto, o período de tratamento foi curto e incluiu somente uma parte do período de organogênese. O NOAEL foi fixado na única dose estudada 35 mg/kg (FABRO et al, 1966 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

Foi realizado um estudo de toxicidade do desenvolvimento com grupos de 10 coelhas brancas New Zealand expostas a 5; 10 ou 15 mg/kg de fosmete (96,4% de pureza) por gavagem. Os fetos foram avaliados somente para malformações externas e fenda palatina. Toxicidade materna foi observada nos animais expostos a 15 mg/kg, mas não foi registrado malformações (PINTO, 1991 apud FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2003).

Macacos

Macacas Rhesus grávidas (*Macaca mulatta*; n=7) receberam 2,0; 4,0 ou 8,0 mg/kg de fosmete por entubação gástrica do dia 22 ao dia 32 de gestação; não foi formado grupo controle. A cesárea das macacas foi realizada após os dias 83-87 de gestação, exceto quando ocorreu reabsorção ou aborto. Não foi observada relação dose resposta quanto à mortalidade fetal e não foi observado o aparecimento de fetos anormais; 2 e 1 fêmeas expostas a 2,0 e 8,0 mg/kg, respectivamente, sofreram aborto ou reabsorções. O NOAEL foi fixado em 8 mg/kg (COURTNEY; FINKELSTEIN, 1968 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

4.4 Neurotoxicidade

Efeitos neurotóxicos podem ser observados em vários níveis de organização do sistema nervoso, incluindo neuroquímico, anatômico, fisiológico ou comportamental. No nível neuroquímico, o agente neurotóxico pode inibir a síntese de transmissores ou macromoléculas, alterar o fluxo de íons através da membrana celular, ou impedir a liberação de neurotransmissores no terminal nervoso. Alterações anatômicas podem incluir alterações no corpo celular, o axônio, ou na bainha de mielina. No nível fisiológico o químico pode alterar o limiar para ativação neural ou reduzir a velocidade de neurotransmissão. Alterações de comportamento podem incluir alterações significativas na visão, audição, ou tato; alterações de reflexos simples e complexos e

funções motoras; alterações nas funções cognitivas como aprendizado, memória ou atenção; e alterações no humor como medo ou raiva, desorientação como pessoa, tempo ou espaço, ou distorções de pensamentos e sentimentos, tal como delírio e alucinações.

O principal efeito prejudicial associado à exposição à OP envolve efeitos, em nível neuroquímico, no sistema nervoso e suas conseqüências.

4.4.1 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; JAMESON; SEIDLER, SLOTKIN, 2007; NARAVANENI; JAMIL, 2007; SLOTKIN; SEIDLER; FUMAGALLI, 2007; ALON et al, 2008; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008; DAVIES; EDDLESTON; BUCKLEY, 2008; LAETZ et al, 2009).

Assim como outros compostos organofosforados, a exposição a altas doses de fosmete pode modificar certas proteínas de membrana induzindo uma modificação covalente e produzindo uma alteração conformacional irreversível (JOHNSON, 1990 apud PURDLEY, 1998). Através desse mecanismo o fosmete modifica o sítio ativo da AChE, inibindo a sua atividade enzimática e podendo provocar alterações patofisiológicas. O fosmete ainda tem a habilidade de se ligar a múltiplos sítios ativos de outras enzimas (EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1999; HAZARDOUS SUBSTANCE DATABANK, 2007) além da AChE, modificando a estrutura dessas proteínas e impedindo suas corretas atividades metabólicas (MARQUIS, 1985 apud PURDLEY, 1998).

Os agrotóxicos organofosforados inibem a AChE de modo similar tanto em espécies alvo quanto em espécies não-alvo. Essa propriedade toxicológica, aliada a certas propriedades toxicocinéticas, torna esses compostos perigosos em termos de

exposições ocupacionais, acidentais e intencionais. (CARVALHO, 1993; BOUCHARD et al, 2003; SHEETS et al, 1997; REY; RICHARDS, 2001).

A exposição crônica a agrotóxicos organofosforados, ainda que em baixas doses, pode produzir efeitos neurotóxicos (RAY; RICHARDS, 2001; SLOTKIN; LEVIN; SEIDLER, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008; SLOTKIN et al, 2008). A exposição a baixas doses durante o desenvolvimento fetal também pode produzir neurotoxicidade (HARNLY et al, 2005; SLOTKIN; LEVIN; SEIDLER, 2006; JAMESON; SEIDLER, SLOTKIN, 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). A exposição a baixas doses de organofosforados *in utero* ou em recém-nascidos pode levar à deficiência nas habilidades cognitivas dos bebês (BERKOWITZ et al, 2004 apud BURATTI; LEONI; TESTAI, 2007). 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; LEVIN; SEIDLER, 2006; SLOTKIN et al, 2008a). Também foi demonstrado que crianças em geral são mais suscetíveis a organofosforados devido aos altos níveis de exposição e ou à imaturidade do metabolismo (MILLER et al, 1996 apud BURATTI; LEONI; TESTAI, 2007; COLE et al, 2003 apud BURATTI; LEONI; TESTAI, 2007).

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 seqüelas neurológicas de longo prazo (WESSELING et al, 2002; KAMEL; HOPPIN, 2004).

4.4.2 Manifestações clínicas

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).

Estudos epidemiológicos também sugerem que a exposição à organofosforados está associada a 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).

4.4.3 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).

As manifestações clínicas mais comuns decorrentes da **intoxicação aguda por fosmete** estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5. Manifestações clínicas da intoxicação aguda por fosmete

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	INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2006; HAZARDOUS SUBSTANCES DATABANK, 2007.
Efeitos Muscarínicos	Gastrointestinais: náusea, vômito, cólicas abdominais, diarreia, defecação involuntária	
	Respiratórias: sangramento nasal, tosse, sibilância, dor torácica, rinorréia, broncoconstricção, broncorréia, dispnéia, edema pulmonar	
	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 pelo **fosmete** foi descrita em 04 indivíduos que entraram em contato com um homem de 40 anos que ingeriu um inseticida formulado à base de fosmete. O paciente ingeriu intencionalmente aproximadamente 110 g de um inseticida contendo 73% de naftaleno, xileno e surfactante e 11,6% de fosmete. Cerca de 20 minutos após a ingestão o paciente apresentou secreções orais e bronquiais profusas, vômitos, broncoespasmos e dificuldade respiratória, havendo a necessidade de ventilação mecânica. O homem que levou o paciente ao hospital necessitou de cuidados médicos após apresentar sintomas de intoxicação pelo organofosforado. Alguns membros da equipe do hospital que entraram em contato com o paciente também apresentaram sintomas menos de uma hora após sua chegada na unidade. Após os casos foi recomendada a descontaminação da pele do paciente e o armazenamento do conteúdo gástrico do mesmo em um contêiner selado para minimizar a evaporação. O primeiro caso entre os profissionais de saúde foi o de uma auxiliar de enfermagem de 45 anos que apresentou dificuldade respiratória, secreções profusas, vômitos, diaforese e fraqueza após ter entrado em contato com a pele, as secreções respiratórias e o vômito do paciente. A auxiliar ficou hospitalizada 09 dias e houve a necessidade de ventilação mecânica para manter a respiração. No segundo caso, uma enfermeira de 32 anos apresentou diaforese, confusão, salivação excessiva e dores abdominais enquanto cuidava do paciente. O terceiro caso foi o de uma enfermeira de 56 anos que manifestou cefaléia, dispnéia e confusão após tratar o paciente. A enfermeira de 56 anos deu

entrada no hospital e manifestou alucinações após tratamento com atropina (CENTERS FOR DISEASE CONTROL; MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT, 2001 apud HAZARDOUS SUBSTANCES DATABANK, 2007).

Em abril de 1997, uma mulher de 35 anos de idade entrou em contato com uma solução concentrada de **fosmete**. Houve exposição dérmica e a ingestão de uma bebida possivelmente contaminada pelo composto. Menos de uma hora após a exposição, ela desenvolveu irritação dérmica, respiração acelerada, dor no peito, taquicardia, dor abdominal e náuseas (CENTERS FOR DISEASE CONTROL; MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT, 1999 apud HAZARDOUS SUBSTANCES DATABANK, 2007).

Em abril de 1992, uma veterinária de 21 anos manifestou sinais de intoxicação aguda após aplicar um produto à base de **fosmete** em um cachorro. Duas horas após a exposição ela apresentou irritação dérmica nas mãos e nos braços. Horas depois ela manifestou mal-estar, dores no peito, náuseas, vômitos, tontura, diarreia, dores abdominais, tremores, visão embaçada e salivação excessiva. Houve a necessidade de cuidados médicos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL; MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT, 1999 apud HAZARDOUS SUBSTANCES DATABANK, 2007).

Em setembro de 1986, uma mulher de 33 anos de idade que tratava cachorros com um inseticida líquido à base de **fosmete** (11,6%) relatou que periodicamente apresentava cefaléia, náuseas, vômitos, cansaço, visão embaçada, transpiração excessiva e confusão. Durante quase um ano as manifestações se tornaram mais frequentes, e os sintomas ficaram mais severos com o decorrer do tempo. De acordo com amigos, durante os episódios agudos a mulher manifestava miose, com pupilas puntiformes. A exposição ao composto ocorria cronicamente há pelo menos 18 meses, tendo a mulher relatado tratar com o inseticida uma média de 10 cães por dia durante o verão. Ela informou que o produto frequentemente entrava em contato com a sua pele (CENTERS FOR DISEASE CONTROL; MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT, 1988 apud HAZARDOUS SUBSTANCES DATABANK, 2007).

Durante os anos de 1989-1997, 06 casos de envenenamento por exposição ocupacional ao **fosmete** foram reportados em mulheres. Em cinco dos casos as manifestações foram sistêmicas; em um caso os sintomas foram localizados (manifestações oculares). A partir de 1993, outros 12 casos de intoxicação em decorrência da exposição ocupacional ao ingrediente ativo fosmete foram relatados ao

TESS (Sistema de Vigilância de Exposições Tóxicas) (CENTERS FOR DISEASE CONTROL; MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT, 1999 apud HAZARDOUS SUBSTANCES DATABANK, 2007).

Em setembro de 1986, o Serviço de Informação e Sistema de Avaliação de Riscos da Califórnia conduziu uma pesquisa por telefone. Vinte e quatro indivíduos que tratavam animais na área da Baía de São Francisco e em Los Angeles foram selecionados aleatoriamente. Destes, 12 relataram usar frequentemente produtos contra pulgas, apresentando frequentemente sintomas quando trabalhavam com tais produtos. Os sintomas mais comuns foram cefaléia, tontura, náusea, fadiga e dermatite. Duas pessoas relataram sudorese, lacrimejamento e confusão. Inseticidas contendo **fosmete** foram os mais relacionados com os sintomas. A maioria dos trabalhadores relatou não utilizar aventais ou luvas e nem aplicar os pesticidas de acordo com as instruções nos rótulos dos produtos. Geralmente concentrações não diluídas do produto eram aplicadas com as mãos desprotegidas, e a pele e os olhos eram frequentemente expostos ao produto. Um dos casos foi o de uma mulher de 30 anos que tratava de 8 a 12 cães por dia, durante 03 anos. Por um ano ela apresentou tonturas frequentes, fadiga, desmaios, visão embaçada, dores no tórax, sudorese e calafrios. Durante três episódios ela teve miose pupilar. Ao evitar o contato com o produto, os níveis de AChE eritrocitária da mulher aumentaram em mais de 30% (CENTERS FOR DISEASE CONTROL; MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT, 1988 apud HAZARDOUS SUBSTANCES DATABANK, 2007).

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 qual agrotóxico organofosforado que levou ao desenvolvimento dos sintomas (KAMEL; HOPPIN, 2004).

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 cônjuges 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.

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.

4.4.4 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).

Good et al (1993) descreveram alterações patofisiológicas em um homem de 51 anos de idade exposto ao **fosmete**. O homem desenvolveu uma síndrome neuromuscular progressiva (**síndrome intermediária**) com fraqueza muscular, hiperreflexia e alterações mentais. Entretanto, não houve manifestação prévia de sintomas característicos de toxicidade aguda. O paciente deu entrada no hospital cinco dias após apresentar diplopia, sensação de desmaio e ataxia. Os sintomas tiveram início 18 horas após o homem terem entrado em contato com a forma líquida do produto através das mãos e da face. Nos dias seguintes o paciente manifestou alterações na marcha, disfagia, secreções orais profusas, alterações no timbre da voz, disartria e transpiração excessiva. Cinco dias após a exposição apareceram sintomas como fraqueza da musculatura que eleva a mandíbula e queda das pálpebras (ptose). O exame clínico do paciente revelou outras manifestações musculares como fraqueza dos músculos faciais, da língua, do pescoço, dos músculos distais e, mais marcadamente, dos músculos proximais. No hospital o paciente apresentou fraqueza progressiva dos músculos respiratórios, havendo a necessidade de ventilação mecânica por 44 dias. Nos primeiros 10 dias o homem manifestou alucinações, desorientação e mioclonias nas extremidades. Quatro meses após a exposição o paciente ainda apresentava fraqueza muscular e fadiga. O paciente não manifestou miopatia, o que pode refletir degeneração da placa motora com perda de receptores.

4.4.5 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 MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2002). 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).

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).

Não foram encontrados casos de polineuropatia retardada em humanos em decorrência da exposição ao fosmete.

4.4.6 Estudos experimentais de neurotoxicidade

Varsik et al. (2005) realizaram um estudo de neurotoxicidade com codornas (*Coturnix coturnix japonica*). Neuropatia periférica foi induzida nos animais após

exposição crônica a compostos organofosforados (fosmete). Após 4 semanas, os animais apresentaram os primeiros sintomas de envenenamento pós OP (apatia, diarreia). Durante o segundo mês de administração diária da substância tóxica, uma aparente **neuropatia periférica e autônoma com ataxia** foi desenvolvida. Distúrbio tóxico do sistema nervoso foi confirmado pelo exame do potencial somatosensorial cortical e espinhal (SEP) produzido após estimulação do nervo tibial. O prolongamento do tempo de condução periférica confirmou a lesão nervosa periférica. Os autores sugerem que essas alterações eletrofisiológicas e clínicas, reveladas por distúrbios do sistema nervoso, são causadas pelo fluxo axonal vagaroso e parado, transporte de proteínas e outras substâncias, bem como demielinização do axônio (VARSIK et al, 2005).

O potencial neurotóxico do triclorfon, diazinon, **fosmete**, diclorvós, fosfamidon e coumafós foi avaliado quanto a sua capacidade de inibir a atividade da esterase neuropática alvo cerebral (NTE) em galinhas adultas. O leptofós foi usado como agente neurotóxico de referência. Todos os compostos foram administrados em uma alta dose oral única, e as atividades da acetilcolinesterase (AChE) e NTE foram medidas 24 h e 6 semanas depois. Com exceção do leptofós, todos os compostos produziram **sinais colinérgicos severos com inibição da AChE cerebral** maior que 81% em 24h. Por outro lado, a atividade NTE cerebral estava 86% inibida pelo leptofós e em menos extensão pelos outros compostos. No entanto, nenhum dos outros compostos produziu neurotoxicidade retardada clínica como foi observada com o leptofós. O autor concluiu que **os compostos OP testados são potencialmente neurotóxicos devido a sua capacidade de inibir a atividade NTE**, mas a extensão da inibição necessária para o desenvolvimento de neurotoxicidade retardada clínica (>80%) provavelmente não ocorreu com esses compostos devido a sua atividade colinérgica severa (ABDELSALAM, 1999).

Um estudo de neurotoxicidade foi realizado para avaliar **neuropatia retardada** em galinhas. Três grupos com 10 galinhas brancas Leghorn receberam 100, 316 e 1000ppm de fosmete na dieta, equivalente a 12,5; 39,5 ou 125 mg/kg, durante 6-7 semanas; um grupo controle positivo (n=10) recebeu 1000ppm de fosfato tri-orto-cresil, e um outro grupo de 3 galinhas dieta normal. Uma das galinhas do grupo positivo morreu e 8 sobreviventes apresentaram paralisia e ataxia severa por 4 semanas. Uma das aves que recebeu a mais alta dose de fosmete apresentou ataxia leve. Degeneração axonal da espinha e degeneração mielínica foi vista em aves tratadas com fosfato de tri-

orto-cresil, no entanto as aves que receberam fosmete não apresentaram essa alteração (JOHNSTON, 1963b apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

Grupos de 10 galinhas brancas Leghorn receberam 0,0; 0,02; 0,20 ou 2,05 g/kg pc fosmete (94,7% de pureza), oralmente em cápsulas gelatinosas, duas vezes ao dia durante 21 dias e foram sacrificadas 21 dias após a segunda dose. O grupo controle positivo recebeu 0,5 g/kg fosfato tri-orto-cresil. Atropina (118 mg/kg) e cloreto de pralidoxima (55 mg/kg) foram administrados, por via subcutânea, nos dias 1 e 22 do estudo a todas as aves tratadas com fosmete; as aves que apresentaram sinais clínicos severos foram tratadas com os dois antídotos. Sinais transitórios de toxicidade colinérgica foram observados nas duas maiores doses; no entanto, não foram observados sinais clínicos ou histopatológicos sugestivos de neuropatia retardada (Sprague, 1982 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1994).

Foi realizado um estudo para avaliar a capacidade do fosmete em induzir **polineuropatia retardada** em galinhas Lohmann marrons (*Gallus gallus domesticus*). A DL₅₀ do fosmete foi determinada em um estudo preliminar com sete grupos de 10 aves e foi estimada como sendo 580 mg/kg pc (95% IC, 410-770). Um grupo de 24 aves recebeu 600 mg/kg de fosmete; 12 aves receberam óleo de milho (veículo) e outras 12 receberam 1 g/kg fosfato de tri-orto-cresil como controle positivo. Todas as aves receberam injeção subcutânea de 20mg/kg de sulfato de atropina antes do tratamento, e outra injeção foi administrada nas aves que apresentaram sinais clínicos.

As aves foram observadas quanto ao aparecimento de sinais clínicos adversos, ataxia e efeitos sobre o peso corporal. Após 48h, 3 aves de cada grupo (fosmete, veículo e controle positivo) foram sacrificadas e tiveram as atividades da acetilcolinesterase cerebral e a esterase alvo cerebral e do cordão espinhal estimadas. Após 21 dias, seis aves de cada grupo foram sacrificadas e fixadas por perfusão; a cabeça, coluna espinhal, e o nervo tibial e ciático dissecado foram retirados e estocados em formalina tamponada a 10%.

Não foram observados sinais de ataxia nas aves tratadas com fosmete, enquanto 8 das 12 aves expostas ao fosfato de tri-orto-cresil desenvolveram ataxia clínica, a partir do dia 11. A atividade da acetilcolinesterase cerebral estava 37% reduzida nas aves que receberam fosmete em relação ao grupo controle veículo, mas a atividade da esterase

neuropática alvo no cérebro e no cordão espinhal estava similar a do grupo controle. As aves que receberam fosfato de tri-orto-cresil, no entanto, apresentaram atividade acetilcolinesterase similar ao controle veículo, enquanto que a **atividade da esterase neuropática alvo estava marcadamente inibida**, sendo 9,6% do valor do controle no cérebro e 20% do encontrado no controle no cordão espinhal. Não foram observadas diferenças quanto ao peso corporal no grupo controle, mas o grupo exposto ao fosfato de tri-orto-cresil apresentou perda de peso. Os animais tratados com fosmete apresentaram perda de peso inicialmente e depois se recuperaram. A avaliação histopatológica não mostrou nenhuma evidência de alterações características de neuropatia retardada nas galinhas expostas ao fosmete e ao grupo controle veículo, enquanto que as aves que receberam fosfato de tri-orto-cresil apresentaram degeneração axonal mínima no cerebelo e degeneração axonal mínima ou moderada em um ou mais níveis do cordão espinhal e em algumas regiões do nervo periférico (Johnson, 1997 *apud* JOINT MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 1998).

5. Aspectos regulatórios – a situação internacional do registro do fosmete

Tabela 6: Situação Internacional do registro dos produtos a base de fosmete

País	Status Regulatório
Austrália	Proridade 4 para ser reavaliado (existência de apenas 1 produto registrado)
Canadá	Em processo de reavaliação
Estados Unidos	Registrado
EU	Incluído no Anexo I da Diretiva 91/414/EEC

6. Conclusões e recomendações

Pela Lei brasileira 7.802/89 um agrotóxico pode ter seu registro banido quando: da ausência de métodos para desativação do produto; da 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 pacote de dados de mutagenicidade e genotoxicidade não demonstra que ele seja claramente mutagênico. Há dados positivos em estudos *in vitro*, mas vários outros com resultados negativos. Ainda, os estudos *in vivo*, que apresentam maior peso da evidência, relataram resultados negativos.

Em relação à carcinogenicidade, o fosmete não está classificado internacionalmente como carcinogênico para humanos, apesar de haver evidências que podem sugerir esse potencial em uma espécie de animais. De qualquer forma, tal evidência não o classificaria como uma substância carcinogênica, segundo a legislação brasileira vigente, que indica que para tal, a positividade deveria ser relatada em pelo menos duas espécies (Portaria 03/1992).

Ainda, os estudos para avaliar os efeitos do fosmete sobre o desenvolvimento não possibilitam afirmar que essa substância seja enquadrada como teratogênica, de acordo com os critérios estabelecidos pela legislação brasileira.

O principal mecanismo de neurotoxicidade do fosmete decorre da inibição da acetilcolinesterase, enzima essencial para a transmissão normal do impulso nervoso. A intoxicação aguda por fosmete 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, taquicardia, dor de cabeça, tontura, cansaço, ansiedade, confusão mental e visão turva. Em casos mais graves pode ocorrer depressão do centro respiratório.

Os efeitos neurotóxicos crônicos provocados pela exposição ao fosmete manifestam-se através da inibição da esterase neuropática alvo que foi observada em doses abaixo da DL_{50} .

De acordo com os resultados apresentados, o fosmete é capaz de provocar a síndrome intermediária, mas o conjunto das evidências não o aponta como causador da polineuropatia retardada.

Tendo em vista os estudos agudos aportados na ANVISA, é indicada a reclassificação do produto, uma vez que o estudo de toxicidade inalatória (CL_{50}) aponta para um limiar dentro da classificação toxicológica I – Extremamente tóxico, e não II conforme estabelecido atualmente pela monografia da ANVISA.

Em relação aos estudos crônicos, com base nos dados avaliados nessa nota técnica, a dose de referência crônica (ou IDA) deve ser alterada para 0,005mg/kg de p.c./dia, baseado no LOAEL de 1,5 mg/kg de p.c./dia proveniente do estudo de cães, que foi a espécie mais sensível, acrescido de um fator de segurança adicional de 3.

Considerando o conjunto de evidências que não apresentam, neste momento, um claro indicativo de enquadramento do ingrediente ativo nas proibições de registro, de acordo com os critérios definidos na legislação brasileira, medidas mitigatórias com a finalidade de reduzir/minimizar o perigo devem ser tomadas. Ainda, considerando a

existência de um único produto formulado à base desse ingrediente ativo, considerando que os riscos para exposição dietética dos alimentos autorizados são aceitáveis e que o cenário ocupacional é o que traz uma maior preocupação. Indicamos que esse ingrediente ativo apenas seja comercializado na forma de sacos hidrossolúveis e aplicado somente por equipamento tratorizado com o objetivo de minimizar ao máximo a exposição dos trabalhadores.

Por fim, a empresa deverá apresentar novos estudos de resíduos para as culturas autorizadas (maçã, citros e pêssego), em conformidade com as determinações previstas na RDC nº 216/2006, com a quantificação do fosmete e do fosmete-oxon, para estabelecimento de novos LMRs.

7. Referências bibliográficas

ABDELSALAM, E. B. Neurotoxic potential of six organophosphorus compounds in adult hens. **Vet Hum Toxicol.** v.41, n. 5, p. 290-2. 1999.

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.

ACKERMANN, H.; FAUST, H.; KAGAN, Y. S.; VORONINA, V. H. Metabolic and toxic behaviors of phthalimide derivatives in albino rat. II Placental Passage of chloromethyl phthalimide oxymethylphthalamide and phthalimide their fetal metabolism. **Archives of toxicology**, Berlin, n. 40, p. 255-261, 1978.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY DIVISION. **Toxicological profile for Methyl parathion.** Atlanta, 2001.

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.

ALBERT, A. **Selective toxicity: the physico-chemical basis of therapy.** New York: Wiley, p. 173-211, 1973.

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.

ANDEF. Tecnologia em primeiro lugar. **Defesa vegetal**, p. 16, maio de 2009.

ANDREWS, A.H. Abnormal reactions and their frequency in cattle following the use of OP earble fly dressings. **Vet. Record**, v. 109, p.171-175. 1981.

APREA, C.; TERENCEZONI, B.; DE ANGELIS, V.; SCIARRA, G.; LUNGHINI, L.; BORZACCHI, G.; VASCONI, D.; FANI, D.; QUERCIA, A.; SALVAN, A. SETTIMI, L. Evaluation of skin and respiratory doses and urinary excretion of alkylphosphates in workers exposed to dimethoate during treatment of olive trees. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**, v. 48, p. 127-134, 2004.

ARAÚJO, 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.

ARAÚJO, 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.

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>. 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.

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.

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.

BOUCHARD M, NH GOSELIN, RC BRUNET, O SAMUEL, MJ DUMOULIN AND G CARRIER. A toxicokinetic model of malathion and its metabolites as a tool to assess human exposure and risk through measurements of urinary biomarkers. **Toxicol. Sci.**, v. 73, p. 182–194, 2003.

BOWMAN, M.; BECK, E.; DERBYSHIRE, LC.; et al. responses from cows fed silages containing Imidan residues. **J. Dairy Sci**, v. 51, n. 8, p.1219-1224, 1968.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de Vigilância de Populações Expostas a Agrotóxicos**. Brasília, Organização Pan-Americana da Saúde, 1997.

BURATTI, F. M.; LEONI, C.; TESTAI, E. The Human Metabolism of Organophosphorothionate Pesticides: Consequences for Toxicological Risk Assessment. **J. Verbr. Lebensm**, v. 2, p. 37-44, 2007. Disponível em: <www.springerlink.com/index/T76474137W645J40.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2009.

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>. Acesso em 05 mai. 2009.

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.

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

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.

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.

CROWE, K.M., BUSHWAY, A.A., BUSHWAY, R.J., DAVIS-Dentici, D. Microbial Degradation of Phosmet on Blueberry Fruit and in Aqueous Systems by Indigenous Bacterial Flora on Lowbush Blueberries (*Vaccinium angustifolium*). **Journal of Food Science**, v. 72, n. 8, p. 292-299. 2007.

CROWE, K.M., BUSHWAY, A.A., BUSHWAY, R.J., HAZEN, R.A. Evaluation of Chemical and Photochemical Oxidation Process for degradation of Phosmet on Lowbush Blueberries (*Vaccinium angustifolium*). **J. Agric. Food Chem**, v. 54, p. 9608-9613. 2006.

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.

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.

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.

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.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Human Health Assessment Scoping Document in Support of Registration**. 2009. Disponível em: <http://www.regulations.gov/search/search_results.jsp?css=0&&Ntk=All&Ntx=mode+matchall&Ne=2+8+11+8053+8054+8098+8074+8066+8084+8055&N=0&Ntt=phosmet&sid=1229DEE88B80m> acesso em 21 jul. 2009.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Memorandum – Phosmet**. 1999. Disponível em: <<http://cesi.bnu.edu.cn/www.epa.gov/pesticides/op/phosmet/fqpasfc.pdf>>. Acesso em: 30 jun. 2009.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Office of Prevention, Pesticides, and Toxic Substances. June 17, 2001. Disponível em: <<http://www.epa.gov/op/phosmet.htm>>. Acesso em 4 ago 2009

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Reregistration Eligibility Decision for Phosmet**. 2006. Disponível em: < www.epa.gov/EPA-PEST/2001/.../p23004.htm >. Acesso em: 30 jun. 2009.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Pesticide fact handbook**. Noyes Data Corp., Park Ridge, NJ, 1988

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.

EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK (EXTOXNET) Pesticide Information Profiles: Phosmet. A Pesticide Information Project of Cooperative Extension Offices of Cornell University, Oregon State University, the University of Idaho, and the University of California at Davis and the Institute for Environmental Toxicology, Michigan State University. Revised June 1996. Disponível em: <<http://extoxnet.orst.edu/pips/phosmet.htm>>. Acesso em: 30 jun. 2009.

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. (mimeo); Relatório de pesquisa.

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.

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.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, n.1, p. 25-38, 2007.

FENSKE, R. A.; KISSEL, J. C.; LU, C.; KALMAN, D. A.; SIMCOX, N. J.; ALLEN E. H.; KEIFER, M. C. Biologically based pesticide dose estimates for children in an agricultural community. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, n. 6, p. 515-520, 2000.

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

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.

FISHER, G. D. **Metabolism study in rats: recovery of administered dose**: unpublished report T-13031. Farmington: Ciba-Geigy Corp: Environmental Health Center, 1989. Submitted to WHO by Zeneca Agrochemicals, R-1504.

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

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Phosmet (addendum): Pesticide residues in food, 2003.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO). **Pesticide Residues in Food – Evaluations 1997**. Part I: Residues and Part II: Toxicology. Rome, 1998. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/W8141E/w8141e00.HTM>>. Acesso em: 30 jun. 2009.

FORD, I. M.; MENN, J. J.; MEYDING, G. D. Metabolism of N (mercaptomethyl) phthalimide-carbonyl-C¹⁴-(S-(O,O-dimethylphosphorothioate) (Imidan-C14): balance study in the rat. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, n. 14, p. 83-86, 1966.

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

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

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.

GERMANO, P.M.L. ; GERMANO, M. I. S. . Encefalopatia espongiiforme bovina - síndrome da vaca louca: doença emergente transmissível por alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 89, p. 45-52, 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

GOOD, J. L.; KHURANA, R. K.; MAYER, R. F.; CINTRA, W M; ALBUQUERQUE, E. X. Pathophysiological studies of neuromuscular function in subacute organophosphate poisoning induced by phosmet. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**. v. 56, s.n., p.290-294, 1993.

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.

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.

HASEGAWA, R. et al. Carcinogenic potential of some pesticides in a medium-term multi-organ bioassay in rats. **Int J Cancer**. v. 28;54, n. 3, p. 489-93. mai. 1993.

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

HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK (HSDB). **Methamidophos**. 2003. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~1e1bpj:1>>. Acesso em: 20 mai 2009.

HAZARDOUS SUBSTANCES DATABANK (HSDB) (ceased updating 2002). Disponível em <<http://ds.datastarweb.com/ds/products/datastar/sheets/hsdb.htm>>. Acessado em 8 de junho de 2009.

HAZARDOUS SUBSTANCES DATABANK (HSDB). Phosmet. 2007. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+732-11-6>>. Acesso em: 01 jul. 2009.

HOINVILLE, L.L. Decline in incidence of BSE in cattle born after the introduction of the feed ban. **The veterinary record**, v. 134, p.274-275. 1994.

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

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.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios**, v.24, Rio de Janeiro, 2004, 27p.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Phosmet**. 2004. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0543.htm>> Acesso em 29 jul. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Phosmet**: Pesticide residues in food: 1976 evaluations. 1976. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v076pr21.htm>> Acesso em 29 jul. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Phosmet**: Pesticide residues in food: 1984 evaluations. 1984. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v84pr37.htm>> Acesso em 29 jul. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Phosmet**: Pesticide residues in food: 1994 evaluations. 1994. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0543.htm>> Acesso em 29 jul. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Phosmet**: Pesticide residues in food: 2003 evaluations. 2003. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v2003pr09.htm>> Acesso em 29 jul. 2009.

IZMEROV, N.F. (EDITOR). **Scientific Reviews of Sovietic Literature on Toxicity and hazards of Chemical**. USSR State Committee for Science and thenoclogy. Phitalophose, v. 46, p. 9-12. 1983.

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.

JOINT WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES (JMPR). **Evaluations 1998 Part II Toxicological**. PHOSMET (addendum). 1998.

KALOYANOVA-SIMEONOVA, F. Pesticides Toxic. Action and Prophylaxis. Bulgarian Academy Science, 1977.

KAMEL, A., BYRNE, C., VIGO, C., FERRARIO, J., STAFFORD, C., VERDIN, G., SIEGELMAN, F., KNIZNER, S., HETRICK, J. Oxidation of selected organophosphate pesticides during chlorination of simulated drinking water. **Eater research**, v. 43, p.522-534. 2009.

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.

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.

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>. 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.

KIRAY J, SZENTESI I, RUZICKA M, CZEIZE A. Chromosome studies in workers producing organophosphate insecticides. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. v.8, n. 3, p. 309-319. 1979

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.

KURINNYI, A. I., PILINSKAIA, M. A. Cytogenetic activity of the pesticides phthalophos, chlorophos and gardona in a culture of human lymphocytes. **Genetika**, v. 13, n. 2, p. 337-9. 1977.

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.

LARGE, G.B., PITT, L.S. Thiophosphate synergists. Stauffer Chemical Co. **U.S. Patent**, v. 3, n. 886, p. 273, 27 de maio de 1975.

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

LOEWENHERZ, C.; FENSKE, R. A.; SIMCOX, N. J.; BELLAMY, G.; KALMAN, D. Biological monitoring of organophosphorus pesticide exposure among children of agricultural workers in central Washington State. **Environmental Health Perspectives**, v. 105, n. 12, p. 1344-1353, 1997.

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.

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.

MARTSON, L. V.; VORONINA, V. M. Experimental study of the effect of a series of phosphoroorganic pesticides (Dipterex and Imidan) on embriogenesis. **Environmental Health Perspectives**, v. 13, p. 121-125, 1976.

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 durind photolysis of fenitrotjion – by HPLC fractionation followed by mutagenicity testing and high-resolution GC-MS analysis. **Chemosphere**, Oxford, v. 64, n. 1, p. 144-155. 2005.

MCBAIN, J. B.; MENN, J. J.; CASIDA, J. E. Metabolism of carbonyl-C¹⁴-labelled Imidan, N-(mercaptomethyl)phthalimide-S-(O,O-dimethylphosphorodithioate), in rats and cockroaches. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, n. 16, p. 813-820, 1968.

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.

MCKINLEY, M.P., LONGO, F.M, VALLETTA, J.S et al. Nerve Growth factor induces gene expression of the prion protein and amyloid protein precursor in the developing hamster CNS. **Prog Brain Res**, v. 86, p. 227-238. 1990.

MENN, J.J., J.B. MCBAIN, B.J. ADELSON, AND G.G. PATCHETT. Degradation of N-(mercaptomethyl) phthalimide-S-(O,O-dimethyl and phosphorodithioate) (Imidan) in soils. *J. Econ. Entomol.*, vol. 58: 875–878., 1965.

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.

MOREIRA, J.C.; JACOB, S.C.; PERES, F. et al. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 7, n. 2, p. 299-311. 2002.

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.

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.

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

NAKOTOMI, K., ISHIBE, K. (Hokko Chemical Industry Co. Ltd.). Insecticidal synergism with acephate phosphorothioate mixtures. **Japanese Patent**, v.75, n. 71, p. 838. 1975.

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.

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): 18.26.1990.

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.

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.

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.

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.

PEAKALL, T.J. et al. Organochlorine residues in Alaskan peregrines. **Pestic Monit J**. v. 8. p. 255-260. 1975.

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, 2005.

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.

PURDEY, M. High-dose exposure to systemic phosmet insecticide modifies the phosphatidylinositol anchor on the prion protein: the origins of new variant transmissible spongiform encephalopathies? **Medical Hypotheses**, v. 50, p. 91-111, 1998.

PURDEY, M. The UK Epidemic of BSE: slow virus or chronic pesticide-initiated modification of the prion protein? Part 1: mechanisms for a chemically induced pathogenesis/transmissibility. **Medical Hypotheses**. v. 46, s.n., p. 429-443, 1996a.

PURDEY, M. The UK Epidemic of BSE: slow virus or chronic pesticide-initiated modification of the prion protein? Part 2: an epidemiological perspective. **Medical Hypotheses**. v. 46, s.n., p. 445-454, 1996b.

RAO, P. Haematological Effects in Fishes from Complex Polluted Waters in Visakhapatnam Harbours. **Indian Marine Environmental Research**, 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.

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.

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.

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.

ROGOFF, W.M.; BRODY, G.; ROTH, A.R.; BATCHELDER, G.H.; MEYDING, G.D.; BIGLEY, W.S.; GRETZ, G.H.; ORCHARD, R. Efficacy, cholinesterase inhibition and residue persistence of Imidan for the control of cattle grubs. **J. Econ. Entomol.**, v. 60, n. 3, p.640-6, 1967.

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**, v. 69, n. 3. p. 73-96, 1995.

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

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, 1995.

ROTHLEIN, Joan; ROHLMAN, Diane; LASAREV, Michael; PHILLIPS, Jackie; MUNIZ, Juan; MCCAULEY, Linda. Organophosphate Pesticide Exposure and Neurobehavioral Performance in Agricultural and Nonagricultural Hispanic Workers. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n.5, p. 691-696, 2006

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.

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.

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.

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

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.

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.

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.

SIMCOX, Nancy J.; FENSKE, Richard A.; WOLZ, Sarah A.; LEE, I-Chwen; KALMAN, David A. Pesticides in Household Dust and Soil: Exposure Pathways for Children of Agricultural Families **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n. 12, p. 1126-1134, 1995

SINDAG. In: Workshop de Avaliação da Exposição de Misturadores, abastecedores e aplicadores a agrotóxicos, Brasília, 2009.

SINDERHAUF, K., SCHWACK, W. Photolysis experiments on phosmet, an Organophosphorus insecticide. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p.5990-5995, 2003.

SINDERHAUF, K.; SCHWACK, W. Photodegradation Chemistry of the Insecticide Phosmet in Lipid Models and in the presence of Wood Wax, Employing a N-Labeled Compound. **J. Agric. Food Chem.**, 52:8046-8052, 2004.

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. Acesso em 8/6/2009.

SINITOX. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas Óbitos Registrados de Intoxicação Humana por Agente Tóxico e Circunstância. Brasil, 2007. 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.

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.

SLAMENOVA, D, et al. Decemtionone (Imidan)-induced single-strand breaks to human DNA, mutations at the hprt locus of V79 cells, and morphological transformations of embryo cells. **Environ. Mol Mutagen**, v. 20, n. 1, p. 73-8. 1992.

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, 2008.

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.

SNELSON, J.T. **Private communication from Department of Primary Industry**, Australia, 1976.

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.

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

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

STEDMAN-SMITH, Margaret M. **Ocumenting Perceptions About Pesticides and Other Environmental Exposures With Photovoice: Mothers' Concerns for their Children**. 2008. Tese (Doutorado em Filosofia) - Faculty of the Graduate School of the University of Minnesota, Estados Unidos, 2008.

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**. 6th 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.

TARR, J. B.; HEMINGWAY, R. J. **The nature of the residues of orally administered [carbonyl-¹⁴C]-phosmet in tissues and eggs of laying hens**: unpublished report No. 1227-1, RR 93-046B. Richmond, (CA): Zeneca Agricultural Products: Western Research Center: ICI Americas Inc, 14 Jan. 1983. Submitted to WHO by Zeneca Agrochemicals.

TEICHER, B. A.; SOTOMAYOR, E. A. In **Cancer Chemotherapeutic Agents**; Foye, W. O., ed.; American Chemical Society: Washington, D.C., 1994.

TILSON, H.A. Behavioral indices of neurotoxicity: what can be measured? **Am J Ind Med**. v.17, n.5, p.567-575, 1990.

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

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

VARSIK P, BURANOVA D, KONDAS M, KUCERA P, GOLDENBERG Z, POKORNA V. Chronic toxic neuropathy after organophosphorus poisoning in quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Bratisl Lek Listy**. v.106, n. 10, p. 293-6. 2005.

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 ¹⁴C-parathion administered intravenously to sheep. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v. 21, p. 542-548, 1972.

VLCKOVA, V, et al. Mutagenic activity of phosmet, the active component of the organophosphorus insecticide Decemtionone EK 20 in Salmonella and Saccharomyces assays. **Mutat Res.** v. 302, n. 3, p. 153-6. jul. 1993.

WAHEED, I. B., ALINIAZEE, M.T. Spider Fauna in Apple Ecosystem of Western Oregon and its Field Susceptibility to Chemical and Microbial Insecticides. *Ecotoxicology*, v. 94, n.1, p.60-75. 2001.

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.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), International Programme on Chemical Safety (IPCS). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 1990-1991 [*on-line*]. Geneva; 1990. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/hq/1990/WHO_PCS_90.1_REV.1.pdf. Acesso em 4/8/2009.

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.

WOODRUFF, Tracey J.; KYLE, Amy D.; BOIS, FrédéricY.. Evaluating Health Risks from Occupational Exposure to Pesticides and the Regulatory Response. **Environmental Health Perspectives**, v. 102, n.12, p. 1088-1096, 1994.

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.

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.