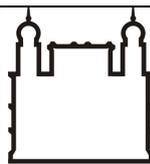




Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Gerência Geral de Toxicologia



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

NOTA TÉCNICA REAVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO INGREDIENTE ATIVO FORATO

1.	APRESENTAÇÃO E MOTIVAÇÕES PARA REAVALIAÇÃO.....	2
2.	INTRODUÇÃO	3
2.1	IDENTIDADE QUÍMICA DO FORATO	5
2.2	PRODUÇÃO E USO	5
2.3	RELEVÂNCIA PARA A SAÚDE PÚBLICA	6
3.	TOXICOCINÉTICA.....	10
3.1.	VIAS DE EXPOSIÇÃO E ABSORÇÃO	10
3.2.	DISTRIBUIÇÃO	11
3.3.	BIOTRANSFORMAÇÃO.....	12
3.4.	EXCREÇÃO	12
4.	AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA.....	13
4.1	ASPECTOS GERAIS DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS EM SERES HUMANOS	13
4.2.	TOXICIDADE AGUDA	16
4.3.	TOXICIDADE SUBCRÔNICA	17
4.4.	TOXICIDADE CRÔNICA, CARCINOGENICIDADE E GENOTOXICIDADE.....	20
4.5.	TOXICIDADE SOBRE O SISTEMA ENDÓCRINO, REPRODUTIVO E DESENVOLVIMENTO	29
4.5.1.	<i>Toxicidade sobre o sistema endócrino</i>	29
4.5.2.	<i>Toxicidade reprodutiva</i>	31
4.5.3.	<i>Toxicidade sobre o desenvolvimento embrionário</i>	33
4.6.	IMUNOTOXICIDADE	38
4.7.	NEUROTOXICIDADE	39
4.7.1.	<i>Mecanismo de ação</i>	40
4.7.2.	<i>Manifestações clínicas</i>	42
4.7.3.	<i>Neurotoxicidade aguda</i>	43
4.7.4.	<i>Síndrome intermediária</i>	49
4.7.5.	<i>Polineuropatia retardada</i>	50
4.7.6.	<i>Estudos experimentais de neurotoxicidade</i>	51
4.8.	NEFROTOXICIDADE.....	61
4.9.	TOXICIDADE SOBRE O SISTEMA RESPIRATÓRIO	62
6.	ASPECTOS REGULATÓRIOS – A SITUAÇÃO INTERNACIONAL DO REGISTRO DO FORATO	63
7.	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	64
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

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 pelos especialistas da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ.

A partir da data de sua publicação, a mesma ficará em Consulta Pública por 60 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 o 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 e ao meio ambiente e com relação à 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; emite o 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 técnico em humanos.

A ANVISA, diante de alertas de efeitos adversos do forato, que se configuram dentre os proibitivos de registro, publicou a reavaliação deste agrotóxico cuja análise é o objeto da presente nota.

2. Introdução

O forato, assim como diversos outros compostos inseticidas (por ex.: parationa etílica e metílica, fosmete, metamidofós, triclorfom, 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 Lassaigue em 1820, com a esterificação do ácido fosfórico. Vinte e cinco anos mais tarde, uma série de derivados de fosfinas foi preparada por Thinard e colaboradores e a partir destes

trabalhos o progresso da investigação dos compostos de fósforo foi acelerado (SANTOS, 2007).

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

Observou-se durante a I Guerra Mundial que indivíduos asfixiados com o gás mostarda, bis (2- cloroetil) sulfeto tinham como conseqüências danos na medula óssea e 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 – OP - 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, 1988). Foi também a partir dessa época que aumentou de forma drástica o número de casos de intoxicação por OP, mesmo em baixas doses (ARAUJO 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.

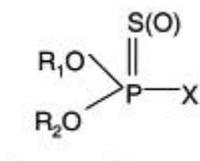


Figura 1: Estrutura química geral dos organofosforados (OP)

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 “tio” (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 do forato

O forato apresenta as seguintes características:

Nome comum: Forato

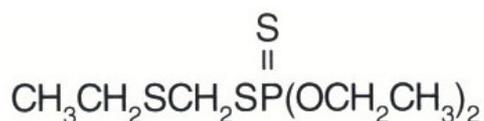
Sinonímia: EI 3911; CL 35,024; AC 35024

Nome químico: O,O-diethyl S-ethylthiomethyl phosphorodithioate

Número de registro no CAS (*Chemical Abstracts Service*): 298-02-2

Fórmula empírica: C₇H₁₇O₂PS₃

Fórmula estrutural:



Grupo Químico: Organofosforado

Classe Agronômica: Inseticida, acaricida e nematicida

Classificação toxicológica: I – Extremamente tóxico

Fonte: ANVISA, 2010

2.2 Produção e uso

A utilização dos agrotóxicos no Brasil tem trazido sérias consequências, tanto para o meio ambiente como para a saúde do trabalhador rural. Essas consequências 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, com um mercado no ano de 2010 de US\$7,3 bilhões de comercialização de agrotóxicos e 790 mil toneladas de produtos. É o maior consumidor da América Latina, com consumo estimado em 84% da quantidade comercializada nesta região.

De acordo com a EPA mais de um milhão de toneladas de forato foram utilizadas nos EUA no ano de 1999 (BANO; Musarrat, 2003).

O forato, segundo a monografia da ANVISA (ANVISA, 2009) pode ser aplicado no solo nas culturas de algodão, amendoim, batata, café, feijão, milho, tomate, trigo (Tabela 1). A Ingestão Diária Aceitável (IDA) do forato está estabelecida atualmente em 0,0005 mg/kg de peso corpóreo e os Limites Máximos de Resíduos (LMR) expressos como forato conforme constam a seguir.

Tabela 1: Limites Máximos de Resíduos - LMR e respectivos intervalos de segurança para o forato, por cultura agrícola

Cultura	LMR (mg/kg)*	Intervalo de Segurança (dias)
Algodão	0,05	(1)
Amendoim	0,05	(1)
Batata	0,05	(1)
Café	0,05	90
Feijão	0,1	(1)
Milho	0,05	(1)
Tomate	0,1	(1)
Trigo	0,05	(1)

(1): Intervalo de segurança não determinado devido à modalidade de emprego.

*: Os LMRs referem-se à soma de forato, seu análogo oxigenado, e seus sulfóxidos e sulfonas, expressos como forato.

Fonte: BRASIL, 2009

2.3 Relevância para a saúde pública

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

HANDY, 2003). Dentre os efeitos tóxicos associados aos organofosforados encontram-se 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 suscetibilidade individual, de maneira que crianças, idosos e mulheres em idade fértil constituem grupos populacionais de especial risco aos agrotóxicos (OLIVEIRA, 2004).

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

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

Em relação ao contexto de vulnerabilidades quanto à exposição, há grande subnotificação de intoxicações por agrotóxicos no Brasil. Estima-se que para cada caso registrado de intoxicação por agrotóxico ocorrem outros 50 sem notificação, ou com notificação errônea (OPAS, 1996; SOBREIRA; ADISSI, 2003). Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde, 70% das intoxicações por agrotóxicos ocorridas no mundo são devidas a exposições ocupacionais (OLIVEIRA-SILVA, 2001). Segundo dados do IBGE (2004), das 84.596.294 pessoas com mais de 10 anos 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 2) (SINITOX, 2007).

Tabela 2: Distribuição do número de casos de intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola no período de 1997-2007, no Brasil, segundo dados do SINITOX (Série 1997-2009)

Ano	Casos de intoxicação humana por agrotóxicos	Casos em circunstâncias ocupacionais
2009	5.204	1.158
2007	6.260	1.514
2006	6.757	1.926
2005	6.870	1.745
2004	6.034	1.763
2003	5.945	1.748
2002	5.591	1.788
2001	5.384	1.378
2000	5.127	1.378
1999	4.674	1.499
1998	5.268	1.663
1997	5.474	1.457

Fonte: Série SINITOX, 1997 -2009 (<http://www.fiocruz.br/sinitox>).

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. A tabela 3 relaciona alguns dos principais problemas existentes no Brasil em relação à exposição a agrotóxicos.

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 (ARAÚJO; NOGUEIRA; AUGUSTO, 2000).

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

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

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

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

No Rio Grande do Sul, um estudo de base populacional, descreveu o perfil sócio-demográfico e a prevalência de algumas morbidades. Entre os resultados obtidos destaca-se que 75% dos trabalhadores utilizavam agrotóxicos, a maioria organofosforados (FARIA et al, 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 utilização de um agrotóxico deve obedecer às indicações e recomendações estabelecidas pela monografia da ANVISA, conforme sua classe toxicológica.

O forato é considerado um dos mais tóxicos organofosforados inibidores da acetilcolinesterase, com média de DL_{50} variando entre 2 e 4 mg/kg de peso corpóreo (Hazardous Substances Data Bank, 1988). Outro agravante para a saúde humana é que o forato e seus metabólitos ou derivados são facilmente absorvidos através do contato com a pele e mucosas.

Devido à sua comparativa alta solubilidade em água (50mg/L), o forato possui grande potencial de contaminação de águas superficiais destinadas ao consumo humano (RANI et al, 2009), sendo a concentração máxima aceitável de forato em água de consumo humano 0,002 mg/L (CANADA, 1990).

O forato teve seu uso restrito pela EPA em razão de sua alta toxicidade dérmica, oral e inalatória e pelos efeitos sobre os ecossistemas, especialmente em relação aos pássaros e animais aquáticos. Entre diversas restrições, foi proibida a aplicação aérea, bem como o seu uso no inverno e também em áreas com a presença de mananciais destinados ao abastecimento humano. As formulações podem conter no máximo 5% de forato. (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2006). Em relação à exposição ocupacional o forato encontra-se como o mais importante determinante de acidentes de trabalho com agrotóxicos nos Estados Unidos (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2006).

3. Toxicocinética

3.1. Vias de exposição e absorção

O forato é um organofosforado lipossolúvel (PETER, PRABHAKAR; PICHAMUTHU, 2008b) rapidamente absorvido por mamíferos através das vias oral, inalatória e dérmica, apresentando alta toxicidade através dessas vias de exposição (BOSHOF; PRETORIUS, 1979; WORLD HEALTH ORGANIZATION/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 1988; CANADÁ, 1990; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; BHARGAVA; KULDEEP; SARASWAT, 1998; HEALTH COUNCIL OF THE NETHERLANDS, 2003; JOINT/FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2006; UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/ FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2009).

Estudos demonstram que o forato é rapidamente absorvido por via oral (gavagem) em ratos (JOINT/FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2006), bem como pelo trato gastrointestinal (CANADÁ, 1990; HEALTH COUNCIL OF THE NETHERLANDS, 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).

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).

Após a absorção, o forato é rapidamente distribuído em mamíferos. Seis horas após a administração oral (gavagem) de uma dose única (0,44 mg/kg) de ¹⁴C-forato (pureza > 98%) em ratas, resíduos do composto foram detectados no sangue (0,168 ppm), rins (0,163 ppm), fígado (0,142 ppm), pele (0,109 ppm), músculo (0,100 ppm) e tecidos adiposos (0,031 ppm). Após 192 horas (8 dias), resíduos no fígado e rins ainda

puderam ser detectados (MILLER; WU, 1990 apud JOINT/FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2006).

Em ratos machos tratados com uma dose única (0,8 mg/kg) de ¹⁴C-forato, resíduos não fosforilados foram detectados no fígado, rins e músculos (HUSSAIN, 1987 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1996).

3.3. Biotransformação

O forato pode ser oxidado a oxon forato, sulfóxido de forato e forato sulfona (ETO, 1994 apud HAJJAR; HODGSON, 1982; CHAPMAN ET AL, 1982; SZETO ET AL, 1990 apud HONG; PEHKONEN; BROOKS, 2000; HODGSON, 1983). O forato também sofre hidrólise, através do ataque nucleofílico no átomo de fósforo central ou no carbono da cadeia lateral (HONG; PEHKONEN; BROOKS, 2000).

A formação de sulfóxido de forato é catalisada, principalmente, pela ação da enzima monooxigenase dependente de flavina-adenina-dinucleotídeo (FAD) (HAJJAR; HODGSON, 1982; HODGSON, 1983; HODGSON; LEVI, 1992). Entretanto a sulfoxidação do forato também pode ocorrer por enzimas da família CYP, que também catalizam reações de oxidação desse organofosforado (LEVI; HODGSON, 1988). As enzimas CYP também estão envolvidas na produção dos metabólitos forato sulfona, oxon sulfóxido e oxon sulfona forato, através de reações de oxidação ou de dessulfuração (LEVI; HODGSON, 1988).

3.4. Excreção

Mamíferos expostos ao forato eliminam tanto o composto original quanto os seus metabólitos principalmente através da urina, e, em menor proporção, pelas fezes (BROKOPP; WYATT; GABICA, 1981; WORLD HEALTH ORGANIZATION/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 1988). Os percentuais de eliminação variam de acordo com a espécie (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1996; HEALTH COUNCIL OF THE NETHERLANDS, 2003; JOINT/FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2006).

A administração oral de uma dose única de 2 mg/kg de forato radiomarcado em ratos machos resultou em eliminação do composto através da urina (35%) e nas fezes (3,5%) dentro de um período de 06 dias (144 horas). Ratos machos tratados com 6 doses diárias de 1 mg/kg, excretaram 12% do fósforo radiomarcado na urina e 6% nas fezes

dentro de 7 dias (BOWMAN; CASIDA, 1958 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1996).

Após a administração oral (gavagem) de uma dose única (0,44 mg/kg) de ¹⁴C-forato (pureza > 98%) em ratas, 78% da dose administrada foi eliminada através da urina em 24 horas. A eliminação através das fezes correspondeu a apenas 8% da dose administrada. Ao final do estudo, mais de 94% da dose administrada foi convertida a metabólitos não fosforilados (MILLER; WU, 1990 apud JOINT/FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2006).

Os metabólitos O,O-dimetilfosfato, O,O-dietilfosfato, O,O-dimetiltiofosforotioato e O,O-dietiltiofosforotioato foram encontrados em amostras de urina de agricultores expostos a produtos formulados com o ingrediente ativo forato (SHAFIK et al, 1973).

4. Avaliação Toxicológica

4.1 Aspectos gerais das manifestações clínicas em seres humanos

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

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

Os mecanismos de ação dos organofosforados e sua toxicidade aguda são bem conhecidos e caracterizam-se pelos efeitos muscarínicos (ou colinérgicos), nicotínicos e neurológicos. O principal efeito da exposição aguda se relaciona à inibição da enzima

acetilcolinesterase e seu consequente acúmulo nas fendas sinápticas (ECOBICHON, 2001).

Conforme Kamanyire e Karalliedde (2004) embora a inibição da acetilcolinesterase seja o principal mecanismo na toxicologia dos organofosforados, a suscetibilidade individual, a inibição de outros sistemas enzimáticos e os efeitos diretos dos organofosforados nos tecidos também são importantes. As consequências da inibição de outros sistemas enzimáticos por compostos organofosforados ainda são incertos, entretanto já se tem conhecimento do comprometimento de carboxiesterases tissulares no soro, fígado, intestino e outros tecidos. As carboxiesterases parecem contribuir para a degradação metabólica dos organofosforados e a inibição dessas enzimas contribui para potencializar sua toxicidade. Esses autores citam alguns efeitos já evidenciados em animais e que também podem acometer humanos:

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

Os sinais e sintomas das intoxicações agudas por organofosforados variam em relação ao tipo de ação e ao órgão alvo. No Sistema Nervoso Autônomo, os efeitos muscarínicos ocorrem no aparelho digestivo, com perda de apetite, náuseas, vômitos, dores abdominais, diarréia e defecação involuntária; no aparelho respiratório: rinorréia, hiperemia de vias aéreas superiores, broncoespasmo e aumento da secreção brônquica, edema pulmonar; no sistema circulatório: bradicardia, bloqueio aurículo-ventricular; no sistema ocular: lacrimejamento, dor ocular, congestão da conjuntiva, distúrbio de visão, espasmo ciliar, dor no supercílio e miose; no aparelho urinário: diurese frequente e

involuntária; nas glândulas exócrinas: transpiração excessiva, salivação extrema. Outras alterações observadas são: micção involuntária, sudorese, ereção peniana, bradicardia e hipotensão (ECOBICHON, 2001).

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

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

Diversos casos de intoxicação aguda envolvendo comunidades de Kerala, Índia, foram registrados por Usha e Harikrishnan (2004). Dentre esses casos, cinco registros de casos envolvendo a exposição ao forato no período entre 1999 e 2002 são dignos de nota. Conforme os autores, em julho de 1999 aproximadamente 12 pessoas residentes de região de plantação de banana foram severamente intoxicadas por forato. Em seguida à utilização do produto, houve chuva na região, fazendo com que o produto evaporasse rapidamente e se espalhasse pela área vizinha, atingindo as residências. Os sintomas apareceram logo após a aplicação do produto e os intoxicados necessitaram de hospitalização. Em junho de 2001, um rapaz de 16 anos foi a óbito em decorrência da exposição ocupacional ao forato por um período de uma semana. Nesse mesmo ano, 40 mulheres trabalhadoras rurais em uma plantação de chá foram intoxicadas durante a colheita das folhas. Os sintomas apareceram nos primeiros 30 minutos após a exposição, caracterizados por tontura, vertigem, visão turva, vômitos. Trinta e sete mulheres apresentaram quadros mais graves e permaneceram hospitalizadas por dois dias. Os autores destacam que em julho de 2002, 31 crianças de uma escola do ensino fundamental foram contaminadas por forato aplicado em plantação nas proximidades da escola. As crianças apresentaram quadro de cefaléia, dor torácica, dificuldade respiratória, náusea, vertigem, visão turva e dor abdominal, sendo que um deles apresentou convulsões mesmo após 24h de tratamento. Em junho de 2003 houve o

registro de óbito de uma criança, de um ano e meio, filha de agricultores, em decorrência da intoxicação por forato após ingestão acidental do produto.

Embora não seja muito frequente, casos de intoxicação subcrônica podem ser observados em sujeitos expostos ao forato. Das e Jena (2000) relataram caso clínico em que houve associação entre encefalopatia, síndrome intermediária e polineuropatia retardada induzida por organofosforados.

Conforme Peter et al. (2008a) descreveram, alterações da consciência ou coma são fenômenos que podem ocorrer em casos de intoxicação aguda severa e apresentam prognóstico ruim. Esses autores desenvolveram um estudo de coorte prospectivo, onde acompanharam durante um ano 35 pacientes admitidos em unidade hospitalar com intoxicação aguda grave por OP, dentre os quais o forato. O quadro clínico agudo foi constituído por sinais e sintomas colinérgicos (miose, salivação, lacrimejamento, sudorese e bradicardia). Os pacientes evoluíram com comprometimento encefálico grave, caracterizado por coma profundo por volta do quinto dia após a intoxicação aguda. Dentre os pacientes, quatro foram intoxicados por forato, dos quais um evoluiu para coma profundo.

4.2. Toxicidade Aguda

A toxicidade aguda do ingrediente ativo (IA) forato foi avaliada com base nos dados disponíveis em relatórios de agências ou institutos internacionais, tais como a 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 e camundongos) através de exposição pelas vias oral, inalatória, dérmica, ocular, intravenosa e intraperitoneal. Os dados de doses letais (oral e dérmica) e concentrações letais estão sumarizados na tabela 3.

Tabela 3 – Estudos agudos sobre o ingrediente ativo forato

Espécie	Linhagem	Via	Pureza (%)	DL50 (mg/kg) ou CL50 (mg/l)	Referência
Rato	Wistar	Oral	90	<50 (♂)	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Oral	-	♂ - 3,7 ♀ - 1,4	EPA (2006)

Rato	-	Oral	-	1,9 - 10	Blinn, R.C. (1992) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Rato	-	Oral	-	♂ - 2,3 ♀ - 1,1	Gaines, T.B. (1969) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Rato	-	Oral	-	♂ - 2,8 ♀ - 1,6	Anon (1976) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Rato	-	Oral	-	♂ - 3,7 ♀ - 1,4	Newell, G.W. & Dilley, J.V. (1978) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Camundongo	-	Oral	-	11	Blinn, R.C. (1992) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Camundongo	-	Intraperitoneal	-	3	Blinn, R.C. (1992) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Rato	Wistar	Dérmica	90	<200 (♂)	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Dérmica	-	♂ - 9,3 ♀ - 3,9	EPA (2006)
Rato	-	Dérmica	-	3	Blinn, R.C. (1992) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Rato	-	Dérmica	-	♂ - 6,2 ♀ - 2,5	Gaines, T.B. (1969) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Rato	-	Dérmica	-	♂ - 5,7	American Cyanamid Co., 1976 <i>Apud</i> IPCS (1994)
Rato	-	Dérmica	-	♂ - 9,3 ♀ - 3,9	Newell, G.W. & Dilley, J.V. (1978) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Coelho	-	Dérmica	-	♂ - 5,2	Anon (1976) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Rato	-	Inalatória	-	♂ - 0,06 0,011	EPA (2006)
Rato	-	Inalatória (1h)	-	♂ - 60 mg/m ³ ♀ - 11 mg/m ³	Newell, G.W. & Dilley, J.V. (1978) <i>Apud</i> IPCS (1994)

Os estudos agudos, conduzidos em animais experimentais, mostraram que o forato apresenta elevada toxicidade pelas vias oral, dérmica e inalatória. As principais alterações observadas nos testes de DL₅₀ oral foram: tremores, convulsões, salivação, inibição da atividade, lacrimejamento, exoftalmia, hemorragia no trato gastrointestinal, fígado escuro, entre outras.

O forato foi considerado levemente irritante para os olhos de coelhos. Com relação aos estudos de DL₅₀ dérmica, os tremores foram os principais sinais clínicos observados nos animais expostos ao forato. Os testes de sensibilização dérmica feitos com a substância em questão foram considerados negativos.

Dessa forma, o forato é classificado como Classe I – Extremamente Tóxico.

4.3. Toxicidade Subcrônica

Estudo 1

Ano:1990

Espécie: Camundongo (Crl:CD-1)

Número de animais: 20/grupo/sexo

Doses: 1, 3 e 6 ppm – Equivalente a 0,18; 0,55 e 1,10 mg/kg/dia para machos e 0,23; 0,67 e 1,38 mg/kg/dia para fêmeas

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 13 semanas

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 92,1%

Referência: Trutter, J.A. (1990) 13-Week dietary toxicity study in albino mice with AC 35.024. Final report, Project ID No. 362-201. Unpublished report dated 16 May 1990 from Hazleton Laboratories America Inc. *Apud* IPCS 1994.

Os animais expostos às maiores doses exibiram significativa inibição da atividade da colinesterase plasmática, o mesmo achado também foi observado em fêmeas tratadas com 1 ppm de forato. Houve significativo decréscimo na atividade da colinesterase eritrocitária nos machos e fêmeas que receberam a maior dose, a inibição em relação ao grupo controle foi de 50% nos machos e 61% nas fêmeas. Houve ligeira redução (-17%) na atividade da colinesterase eritrocitária nas fêmeas expostas a 3 ppm da substância teste. Foi observada inibição em cerca de 50% na atividade da colinesterase cerebral nos machos e fêmeas tratados com 6 ppm, quando expostos a 3 ppm os animais exibiram mais de 10% de inibição na atividade dessa enzima em relação ao grupo não tratado. O NOAEL não pôde ser estabelecido.

Estudo 2

Ano:1956

Espécie: Rato

Número de animais: 50/grupo/sexo e 25 /grupo/sexo

Doses: 0,22; 0,66; 2 e 6 ppm (equivalente a 0,01; 0,03; 0,1 e 0,3 mg/kg/dia) e 12 e 18 (equivalente a 0,6 e 0,9 mg/kg/dia)

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 13 semanas

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 92%

Referência: Tusing, T.W., Kindzin, W., Hanzal, R. & Howard, J. (1956) Repeated oral administration (dogs). Experimental insecticide 3911, 92%. Unpublished report from Hazleton Labs, Inc. Submitted to WHO by Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Wayne, NJ, USA. *Apud* IPCS 1994.

Ocasionalmente, foram observados tremores intermitentes e excitabilidade nas fêmeas expostas a 6 ppm de forato. Os machos e as fêmeas que receberam 12 e 18 ppm apresentaram severa excitabilidade, tremores intermitentes e ataxia, culminando na morte de 50% dos animais tratados com 12 ppm e de todos os expostos a 18 ppm. Os animais que receberam 6 ppm exibiram significativa inibição da atividade da colinesterase plasmática, eritrocitária e cerebral. As fêmeas expostas a 2 ppm exibiram redução na atividade da colinesterase eritrocitária. O NOAEL estabelecido para o estudo foi 0,66 ppm ou 0,03 mg/kg/dia baseado na inibição da colinesterase eritrocitária nas fêmeas.

Estudo 3

Ano: 1987

Espécie: Cães (Beagle)

Número de animais: 2/grupo/sexo

Doses: 0, 01; 0,05; 0,10, 0,25 e 0,50 mg/kg/dia

Via: Oral (cápsulas)

Tempo de exposição: 14 dias

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 92,1%

Referência: Piccirillo, V.J., Shellenberger, T.E. & Dauvin, E. M. (1987) 14-Day range-finding oral toxicity study in the dog with AC 35,024. Revised final report No. 85013. Unpublished report dated 11 February 1987 from Tegeris Laboratories Inc., Princeton, NJ, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA. *Apud* IPCS 1994.

Uma fêmea exposta a 0,50 mg/kg/dia exibiu excessiva salivação e tremores. Os animais (machos e fêmeas) tratados com a maior dose apresentaram decréscimo no ganho de peso corpóreo em relação ao grupo controle.

A atividade da colinesterase plasmática foi significativamente reduzida nos machos e fêmeas tratados com doses iguais ou acima de 0,10 mg/kg/dia, os machos que receberam 0,05 mg/kg/dia também apresentaram inibição na atividade dessa enzima em relação aos valores observados antes do tratamento e nos animais não tratados (grupo controle). Houve significativa diminuição (>20%) na atividade da colinesterase eritrocitária nos machos e fêmeas tratados com a maior dose. Quanto à atividade da colinesterase cerebral, foi observada inibição entre 31 e 69% nos animais que receberam 0,10 mg/kg/dia ou mais da substância teste. O NOAEL estabelecido foi 0,01 mg/kg/dia

baseado na inibição da atividade da colinesterase plasmática nos machos tratados com 0,05 mg/kg/dia.

Estudo 4

Ano: 1987

Espécie: Cães (Beagle)

Número de animais: 6/grupo/sexo

Doses: 0, 0,005; 0,01; 0,05 e 0,25 mg/kg/dia

Via: Oral (cápsulas)

Tempo de exposição: 1 ano

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 92,1%

Referência: Shellenberger, T.E. & Tegeris, A.S. (1987) One-year oral toxicity study in purebred beagle dogs with AC 35,024. Final report N° 85015. Unpublished report dated 20 February 1987 from Tegeris Laboratories Inc., Laurel, MD, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA. *Apud* IPCS 1994.

Tremores moderados foram observados em um macho e duas fêmeas durante a 23^a e 52^a semana de tratamento com a maior dose. A média do peso corpóreo e o ganho de peso foi 26% menor, em relação ao grupo controle, nos machos tratados com 0,25 mg/kg/dia.

Machos tratados com a maior dose apresentaram significativa ($p < 0,05$) redução nos níveis de proteínas totais, essas observações foram realizadas durante a 6^a semana, 3^o e 6^o meses e ao término do tratamento.

Os animais tratados com 0,25 mg/kg/dia apresentaram inibição de mais de 20% na atividade da colinesterase eritrocitária e entre 43 e 54% da colinesterase cerebral. As doses iguais ou superiores a 0,05 mg/kg/dia reduziram significativamente a atividade da colinesterase plasmática nos machos e fêmeas expostos. O NOAEL estabelecido foi 0,01 mg/kg/dia baseado na inibição da atividade da colinesterase plasmática nos animais tratados com 0,05 mg/kg/dia.

4.4. Toxicidade crônica, carcinogenicidade e genotoxicidade

Na fisiopatologia dos efeitos crônicos decorrente da exposição aos agrotóxicos estão envolvidos, além dos aspectos toxicológicos próprios de cada produto, as características da exposição tais como a intensidade, a duração e a interação com outros

produtos químicos, com os quais pode haver potencialização da ação tóxica, e outros condicionantes biossociais do exposto.

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

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

A maioria dos carcinógenos apresenta uma propriedade em comum: são eletrofílicos altamente reativos que interagem com locais nucleofílicos na célula; sendo o DNA alvo de preferência (SANTOS et al., 2008). Nessa ligação, os adutos de DNA são formados por ligações covalentes. Essa formação pode mutar proto-oncogenes ou genes supressores de tumor e iniciar o processo de carcinogênese (KINZLER; VOGELSTEIN, 1996, apud LOUREIRO; MASCIO; MEDEIROS, 2002). Após essa mutação ocorrem alterações no processo de divisão celular que resultam na perda de características funcionais e na formação de tumores (CUNNINGHAM; MATTHEWS, 1995).

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

Um estudo prospectivo realizado com 52.395 aplicadores de agrotóxicos na Carolina do Norte e em Iowa nos EUA, de 1993 a 1997 (ALAVANJA, et al., 2002 apud EPA, 2002) mostrou associação de risco para câncer e o uso de agrotóxicos, entre eles o forato. Em 2006, Mahajan et al, verificaram um maior risco de desenvolvimento de câncer de próstata quando o histórico familiar era positivo para essa neoplasia em agricultores expostos ao forato do mesmo grupo citado acima.

A seguir estão descritos os estudos sobre o potencial carcinogênico do ingrediente ativo forato, aportados no dossiê toxicológico da ANVISA.

Estudo 1

Ano:1981

Espécie: Rato - Crl:COBS CD (SD) BR

Nº de animais: 50/grupo/sexo

Doses: 1, 3 e 6 ppm – equivalente a 0,05; 0,16 e 0,32 mg/kg/dia para machos e 0,07; 0,19 e 0,43 mg/kg/dia para fêmeas

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 2 anos (24 meses)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 84,5%

Referência: Manus, A. G. et al. (1981). 24-Month Chronic Toxicity and Potential Carcinogenicity Study in Rats. Litton Bionetics. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

O objetivo do estudo foi avaliar o potencial carcinogênico do forato. Ratos receberam a substância teste incorporada à dieta nas doses de 1, 3 ou 6 ppm durante 24 meses. Foi observado um aumento no número de animais em condições moribundas ou que foram encontrados mortos, em todos os grupos, inclusive no controle, contudo esse aumento foi maior no grupo de fêmeas tratadas com a maior dose, sendo que apenas 36% dos animais desse grupo sobreviveram até o final do estudo. Durante a 9ª semana de tratamento os animais apresentaram tremores, esse sinal clínico, segundo o diretor do estudo, foi atribuído a uma superdosagem (327% a mais da dose que deveria ser administrada). As fêmeas que receberam na dieta a dose de 6 ppm de forato apresentaram redução no ganho de peso, em comparação ao grupo controle, durante as primeiras 26 semanas e entre a 74ª e 102ª semanas. Com relação aos parâmetros hematológicos avaliados, as fêmeas tratadas com a maior dose apresentaram, aos 12 meses de estudo, diminuição na quantidade de eritrócitos, hemoglobina e hematócritos. Já machos tratados com 6 ppm de forato exibiram reduções na quantidade de hemoglobina e de leucócitos. Quanto aos parâmetros bioquímicos avaliados, os machos tratados com 1 ppm da substância teste apresentaram, aos 6 meses de tratamento, redução nos níveis da enzima aspartato aminotransferase (AST).

Foi observada inibição da atividade da colinesterase plasmática, maior que 20% e dose-relacionada, nos machos tratados com 6 ppm na avaliação realizada aos 12 meses, em todos os machos tratados ao final do estudo e nas fêmeas que receberam 3 e 6 ppm em todos os períodos amostrados (3, 6, 12 e 24 meses).

Machos que receberam a maior dose e fêmeas tratadas com 3 ou 6 ppm apresentaram inibição, maior que 20%, na atividade da colinesterase cerebral. A colinesterase eritrocitária não foi significativamente inibida, apresentando menos de 20% de inibição nos períodos observados.

Dados de necropsia revelaram aumento na razão entre o peso corpóreo e as adrenais, cérebro, coração, fígado e baço nas fêmeas tratadas com 6 ppm da substância teste. Nos exames patológicos e histopatológicos foi observado aumento na incidência de inflamação e hiperplasia epitelial da porção dianteira do estômago dos animais de ambos os sexos, mas especialmente dos machos, tratados com a maior dose. Esse efeito foi aparentemente relacionado ao tratamento com o forato.

O NOEL estabelecido para o estudo foi 1 ppm, equivalente a 0,05 mg/kg de peso corpóreo por dia.

Estudo 2

Ano:1981

Espécie: Camundongos - CD-1

Nº de animais: 50/grupo/sexo

Doses: 1, 3 e 6 ppm - equivalente a 0,15; 0,45 e 0,90 mg/kg/dia

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 18 meses

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 91,7%

Referência: Manus, A. G. et al. (1981). 18-Month chronic toxicity and potential carcinogenicity study in mice. Litton Bionetics. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

O objetivo do estudo foi avaliar o potencial carcinogênico do ingrediente ativo forato quando administrado na dieta de camundongos nas doses de 1, 3 ou 6 ppm pelo período de 18 meses. Os animais tinham 41 dias de idade quando iniciaram o tratamento.

Durante o curso do estudo 91 camundongos morreram ou foram sacrificados em condições moribundas. Foi observado mortalidade em todos os grupos tratados, inclusive no controle [Machos: controle – 5/50 (10%); 1 ppm – 7/50 (14%); 3 ppm – 11/50 (22%) e 6 ppm – 9/5 (18%). Fêmeas: controle – 13/50 (26%); 1 ppm – 13/50 (26%); 3 ppm – 16/50 (32,7%) e 6 ppm – 17/50 (34,7%)].

Os animais que receberam a substância teste (em todas as doses), bem como os do grupo controle apresentaram perda de pêlo em regiões restritas do corpo ou em múltiplas áreas. Os machos tratados com a maior dose apresentaram redução do peso corpóreo nas primeiras semanas do estudo (1^a, 3^a e 5^a semana), já as fêmeas que receberam 6 ppm da substância teste exibiram diminuição de peso em praticamente todas as 25 primeiras semanas do estudo. Com relação ao consumo de alimentos, todos os grupos tratados (machos e fêmeas) apresentaram reduções no consumo da dieta.

Houve alta incidência de alguns sinais clínicos como tremores, hiperatividade e salivação excessiva, os mesmos foram mais frequentes nos animais tratados com 6 ppm em relação ao grupo controle.

Foram observados linfomas malignos nos animais tratados, sendo que estes foram relativamente comuns, particularmente em fêmeas e geralmente envolveram o trato gastrointestinal, timo, fígado, rins e nódulos linfáticos, a incidência desses achados não foi relacionada à quantidade da substância teste administrada. Os animais tratados apresentaram adenomas, contudo esses achados não foram considerados relacionados ao tratamento, uma vez que o grupo controle também exibiu essas alterações. A incidência de adenoma alveolar e bronquiolar foi maior nos machos tratados com 6 ppm (8/50, comparado a 3/50 do controle), contudo esse efeito não foi atribuído ao tratamento, uma vez que, segundo o diretor do estudo, o aumento da incidência não foi estatisticamente significativo e esse tumor é frequentemente observado em camundongos da linhagem CD-1.

Outras alterações que foram observadas nos animais tratados e não tratados (controle) foram: amiloidose; acúmulo multifocal de neutrófilos, linfócitos e macrófagos, frequentemente associado à hepatócitos degenerados ou necróticos; estômago exibindo uma mistura de células inflamatórias infiltradas, edema e hiperplasia com formação de criptas císticas; mielofibrose; infiltrados linfocíticos foram geralmente vistos nos rins e na bexiga urinária em todos os grupos; hiperplasia endometrial cística; lesões nos olhos (a maioria consistiu de catarata). O diretor do estudo concluiu que as alterações patológicas não foram atribuídas à administração prolongada do forato na dieta. Segundo o mesmo, todas as alterações foram consideradas achados incidentais ou parte de complexas doenças espontâneas em camundongos.

Baseado no decréscimo do peso corpóreo e nos sinais clínicos de toxicidade na maior dose. O NOEL estabelecido para esse estudo foi 3 ppm, equivalente a 0,45 mg/kg de peso corpóreo por dia.

Dados na literatura indicam que vários organofosforados são mutagênicos (MOHAMMED, 1999; MATSUHITA; MATSUI; MATSUI, 2006; MATSUHITA et al, 2005). Entre os dados apresentados destaca-se a mutagenicidade dos metabólitos dos organofosforados (CORTEZ-ESLAVA et al, 2001; MATSUHITA; MATSUI; MATSUI, 2005; MATSUHITA et al, 2005;), que muitas vezes são mais mutagênicos do que o ingrediente ativo.

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

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

Os órgãos internacionais como EPA (1999) e IPCS (1994) classificam o forato como não carcinogênico e não mutagênico baseados em resultados de estudos *in vitro* de mutação reversa e recombinação mitótica e *in vivo* de aberrações cromossômicas e mutação dominante letal. Alguns desses estudos podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4: Estudos de genotoxicidade do forato

Estudo	Microorganismo / Animal / Células	Dose / Concentração	Pureza (%)	Resultado	Referência
Mutação reversa	<i>S.typhimurium</i> (TA100, 1535, 1537, 1538); <i>E. Coli</i> WP2	Acima de 1.000 mg/placa	-	Negativo ^a	Simmon et. al. (1977) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Mutação reversa	<i>E. coli</i> (p3478 e w3110); <i>B. subtilis</i>	1 mg/placa	-	Negativo ^b	Simmon et. al. (1977) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Mutação reversa	Células do ovário de hamster (locus hpvt)	30, 40, 50, 80 e 100 nl/ml 5, 10, 12, 14, 16, 18 e 20 nl/ml	92,1	Negativo ^b Negativo ^c	Thilager & kumarop (1985) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Recombinação mitótica	<i>S. cerevisiae</i> D3	5% peso/volume incubado por 4h antes do “plaquamento”	-	Negativo ^a	Simmon et. al. (1977) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Síntese de DNA	Fibroblastos humanos (WI – 38)	Acima de 1×10^{-3}	-	Negativo ^a	Simmon et. al. (1977) <i>Apud</i> IPCS (1994)
Aberrações cromossômicas	Ratos (♂ e ♀) – Sprague-Dawley ^d	♂ - 0,25; 1,25 e 2,5 mg/kg/dia ♀ - 0,13; 0,63 e 1,25 mg/kg/dia	92,1	Negativo	Ivett & Myhr, 1986 <i>Apud</i> IPCS (1994)
Dominante letal	Camundongo (♂)	5, 10 e 20 mg/kg/dia ^e	-	Negativo	Simmon et. al.

					(1977) <i>Apud</i> IPCS (1994)
--	--	--	--	--	-----------------------------------

a – na presença e ausência de ativação metabólica

b – na ausência de ativação metabólica

c – na presença de ativação metabólica

d – os animais foram sacrificados após 6, 18 e 30h.

e – doses administradas na dieta por 7 semanas

Porém, segundo Malhi, Grover (1987) o forato provoca aberrações cromossômicas *in vivo* em células da medula óssea de ratos, como troca entre cromátides, quebra e deleção. Ainda segundo esse autor o trabalho de Sobti et al (1982) mostrou que o forato provoca aumento de recombinação (SCE) em células de linfócitos humanas. Grover, Malhi (1985) também relatam positividade para teste de micronúcleo nessas mesmas células.

Estudo 1

Ano:1981

Espécie: Rato - CrI:COBS CD (SD) BR

Nº de animais: 50/grupo/sexo

Doses: 1, 3 e 6 ppm – equivalente a 0,05; 0,16 e 0,32 mg/kg/dia para machos e 0,07; 0,19 e 0,43 mg/kg/dia para fêmeas

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 2 anos (24 meses)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 84,5%

Referência: Manus, A. G. et al. (1981). 24-Month Chronic Toxicity and Potential Carcinogenicity Study in Rats. Litton Bionetics. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

O objetivo do estudo foi avaliar o potencial carcinogênico do forato. Ratos receberam a substância teste incorporada à dieta nas doses de 1, 3 ou 6 ppm durante 24 meses. Foi observado um aumento no número de animais em condições moribundas ou que foram encontrados mortos, em todos os grupos, inclusive no controle, contudo esse aumento foi maior no grupo de fêmeas tratadas com a maior dose, sendo que apenas 36% dos animais desse grupo sobreviveram até o final do estudo. Durante a 9ª semana de tratamento os animais apresentaram tremores, esse sinal clínico, segundo o diretor do estudo, foi atribuído a uma superdosagem (327% a mais da dose que deveria ser administrada). As fêmeas que receberam na dieta a dose de 6 ppm de forato apresentaram redução no ganho de peso, em comparação ao grupo controle, durante as

primeiras 26 semanas e entre a 74^a e 102^a semanas. Com relação aos parâmetros hematológicos avaliados, as fêmeas tratadas com a maior dose apresentaram, aos 12 meses de estudo, diminuição na quantidade de eritrócitos, hemoglobina e hematócritos. Já machos tratados com 6 ppm de forato exibiram reduções na quantidade de hemoglobina e de leucócitos. Quanto aos parâmetros bioquímicos avaliados, os machos tratados com 1 ppm da substância teste apresentaram, aos 6 meses de tratamento, redução nos níveis da enzima aspartato aminotransferase (AST).

Foi observada inibição da atividade da colinesterase plasmática, maior que 20% e dose-relacionada, nos machos tratados com 6 ppm na avaliação realizada aos 12 meses, em todos os machos tratados ao final do estudo e nas fêmeas que receberam 3 e 6 ppm em todos os períodos amostrados (3, 6, 12 e 24 meses).

Machos que receberam a maior dose e fêmeas tratadas com 3 ou 6 ppm apresentaram inibição, maior que 20%, na atividade da colinesterase cerebral. A colinesterase eritrocitária não foi significativamente inibida, apresentando menos de 20% de inibição nos períodos observados.

Dados de necropsia revelaram aumento na razão entre o peso corpóreo e as adrenais, cérebro, coração, fígado e baço nas fêmeas tratadas com 6 ppm da substância teste. Nos exames patológicos e histopatológicos foi observado aumento na incidência de inflamação e hiperplasia epitelial da porção dianteira do estômago dos animais de ambos os sexos, mas especialmente dos machos, tratados com a maior dose. Esse efeito foi aparentemente relacionado ao tratamento com o forato.

O NOEL estabelecido para o estudo foi 1 ppm, equivalente a 0,05 mg/kg de peso corpóreo por dia.

Estudo 2

Ano:1981

Espécie: Camundongos - CD-1

Nº de animais: 50/grupo/sexo

Doses: 1, 3 e 6 ppm - equivalente a 0,15; 0,45 e 0,90 mg/kg/dia

Via: Oral (dieta)

Tempo de exposição: 18 meses

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 91,7%

Referência: Manus, A. G. et al. (1981). 18-Month chronic toxicity and potential carcinogenicity study in mice. Litton Bionetics. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

O objetivo do estudo foi avaliar o potencial carcinogênico do ingrediente ativo forato quando administrado na dieta de camundongos nas doses de 1, 3 ou 6 ppm pelo período de 18 meses. Os animais tinham 41 dias de idade quando iniciaram o tratamento.

Durante o curso do estudo 91 camundongos morreram ou foram sacrificados em condições moribundas. Foi observado mortalidade em todos os grupos tratados, inclusive no controle [Machos: controle – 5/50 (10%); 1 ppm – 7/50 (14%); 3 ppm – 11/50 (22%) e 6 ppm – 9/5 (18%). Fêmeas: controle – 13/50 (26%); 1 ppm – 13/50 (26%); 3 ppm – 16/50 (32,7%) e 6 ppm – 17/50 (34,7%)].

Os animais que receberam a substância teste (em todas as doses), bem como os do grupo controle apresentaram perda de pêlo em regiões restritas do corpo ou em múltiplas áreas. Os machos tratados com a maior dose apresentaram redução do peso corpóreo nas primeiras semanas do estudo (1^a, 3^a e 5^a semana), já as fêmeas que receberam 6 ppm da substância teste exibiram diminuição de peso em praticamente todas as 25 primeiras semanas do estudo. Com relação ao consumo de alimentos, todos os grupos tratados (machos e fêmeas) apresentaram reduções no consumo da dieta.

Houve alta incidência de alguns sinais clínicos como tremores, hiperatividade e salivação excessiva, os mesmos foram mais frequentes nos animais tratados com 6 ppm em relação ao grupo controle.

Foram observados linfomas malignos nos animais tratados, sendo que estes foram relativamente comuns, particularmente em fêmeas e geralmente envolveram o trato gastrointestinal, timo, fígado, rins e nódulos linfáticos, a incidência desses achados não foi relacionada à quantidade da substância teste administrada. Os animais tratados apresentaram adenomas, contudo esses achados não foram considerados relacionados ao tratamento, uma vez que o grupo controle também exibiu essas alterações. A incidência de adenoma alveolar e bronquiolar foi maior nos machos tratados com 6 ppm (8/50, comparado a 3/50 do controle), contudo esse efeito não foi atribuído ao tratamento, uma vez que, segundo o diretor do estudo, o aumento da incidência não foi estatisticamente significativo e esse tumor é frequentemente observado em camundongos da linhagem CD-1.

Outras alterações que foram observadas nos animais tratados e não tratados (controle) foram: amiloidose; acúmulo multifocal de neutrófilos, linfócitos e macrófagos, frequentemente associado à hepatócitos degenerados ou necróticos; estômago exibindo uma mistura de células inflamatórias infiltradas, edema e hiperplasia com formação de criptas císticas; mielofibrose; infiltrados linfocíticos foram geralmente vistos nos rins e na bexiga urinária em todos os grupos; hiperplasia endometrial cística; lesões nos olhos (a maioria consistiu de catarata). O diretor do estudo concluiu que as alterações patológicas não foram atribuídas à administração prolongada do forato na dieta. Segundo o mesmo, todas as alterações foram consideradas achados incidentais ou parte de complexas doenças espontâneas em camundongos.

Baseado no decréscimo do peso corpóreo e nos sinais clínicos de toxicidade na maior dose. O NOEL estabelecido para esse estudo foi 3 ppm, equivalente a 0,45 mg/kg de peso corpóreo por dia.

4.5. Toxicidade sobre o sistema endócrino, reprodutivo e desenvolvimento

4.5.1. Toxicidade sobre o sistema endócrino

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

A insulina é um hormônio sintetizado nas células beta do pâncreas que possui diversas funções relacionadas principalmente ao metabolismo energético do organismo, dentre outras: (i) captação, armazenamento e utilização da glicose pelas células; (ii) síntese de ácidos graxos; (iii) armazenamento do excesso de gordura no tecido adiposo; (iv) armazenamento de proteínas nos tecidos. (HARRISON, 2009; MASHARANI; KARAM, 2001).

Um estudo epidemiológico de caso controle realizado no período 1993-97 investigou a ocorrência de diabetes mellitus gestacional entre 11.273 mulheres residentes em Iowa e na Carolina do Norte e sua associação com exposição a agrotóxicos no primeiro trimestre da gravidez. As exposições foram classificadas como

indireta (plantio, poda, colheita), residencial (uso doméstico ou no jardim) e na agricultura (preparação, aplicação ou manutenção dos equipamentos de aplicação de agrotóxicos). Para estudar a exposição a agrotóxicos específicos foram levantados aqueles mais frequentemente utilizados na agricultura como os organofosforados (diazinona, malationa, terbufós e forato), carbamatos (carbaril e carbofurano) e herbicidas (2,4-D, 2,4,5-T, 2,4,5-TP, alacloro, atrazina, cianazina, dicamba, glifosato, pendimetalina, trifuralina). Na análise multivariada identificou-se associação estatisticamente significativa de 2,4,5-T, 2,4,5-TP, atrazina, diazinona, carbofurano e forato com o aumento no risco de ocorrência de diabetes mellitus gestacional (SALDANA ET AL, 2007).

A diminuição de insulina ocorre na diabetes mellitus tipo 1 e também já foi observada após a exposição a substâncias químicas que desencadeiam eventos “diabetes-semelhantes” (LUKIĆ; STOSIĆ-GRUJICÍĆ; SHAHIN, 1998; SZKUDELSKI, 2001; LENZEN, 2008). Agrotóxicos organofosforados também podem desencadear efeitos adversos associados à diabetes (MEGGS; BREWER, 2007; ABDOLLAHI *et al*, 2004) mesmo após a exposição durante a gestação e lactação (LASSITER *et al*, 2008; LASSITER; BRIMIJOIN, 2008; MEYER; SEIDLER, F.J.; SLOTKIN, 2004; SLOTKIN; BROWN; SEIDLER, 2005). Nessas condições de hipoinsulinemia, diversos efeitos graves são desencadeados que, não só prejudicam a qualidade de vida do indivíduo, mas podem levar à morte (FORD, 2005; LEE *et al*, 2008).

Durante a hipoinsulinemia ocorre a mobilização de gordura para o sangue circulante que deveria ter sido armazenada no tecido adiposo. O acúmulo de triglicerídeos e colesterol no sangue pode desencadear a aterosclerose, ataques cardíacos, acidentes vasculares cerebrais (GUYTON; HALL, 1996). Além disso, o acúmulo de ácidos graxos no fígado leva à formação de corpos cetônicos (ácido acetoacético, acetona e ácido β -hidroxibutírico), que podem levar ao coma e à morte (NELSON; COX, 2004). A depleção protéica, que também ocorre quando a insulina encontra-se diminuída, provoca fraqueza e comprometimento de diversas funções orgânicas (GUYTON; HALL, 1996; NELSON; COX, 2004).

4.5.2. Toxicidade reprodutiva

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

Estudo 1 *

Ano: 1965

Espécie: Camundongos

Nº de animais: 8♂ e 16♀

Doses: 0,6; 1,5 e 3 ppm - equivalente a 0,09; 0,23 e 0,45 mg/kg p.c./dia

Via: Oral (dieta)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): Não informada

Referência: American Cyanamid Co. (1965) Report on Thimet systemic insecticide: successive generation studies with mice. Unpublished report from Central Medical Department Cyanamid. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Wayne, NJ, USA. *Apud* IPCS (1994)

* Estudo multigeração (3 gerações, com 2 ninhadas/geração)

Não foram observados efeitos sobre os índices de fertilidade, gestação ou viabilidade, mas o índice de lactação foi levemente reduzido no grupo que recebeu 3 ppm de forato na dieta. As avaliações microscópicas e patológicas dos tecidos não revelaram anomalias relacionadas ao tratamento. O NOAEL foi fixado em 1,5 ppm, equivalente a **0,23 mg/kg p.c./dia**, baseado na diminuição do índice de lactação (American Cyanamid Co., 1965).

Estudo 2

Ano: 1991

Espécie: Ratos - COBS CD(SD)

Nº de animais: 25♂ e 25♀

Doses: 1, 2, 4 e 6 ppm - equivalente a 0,09, 0,17, 0,35 e 0,52 mg/kg p.c./dia em machos e 0,10, 0,20, 0,40 e 0,62 mg/kg p.c./dia em fêmeas

Via: Oral (dieta)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 92,1%

Referência: Schroeder, R.E. & Daly, I.W. (1991) A two-generation (two litters) reproduction study with AC 35,024 to rats. Final report, Project ID No. 88-3350. Unpublished report dated 23 September 1991 from Bio/dynamics Inc., East Millstone, NJ, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA. *Apud* IPCS (1994)

Os animais foram expostos por no mínimo 60 dias antes do acasalamento, e produziram 2 ninhadas consecutivas (F_{1a} e F_{1b}). Para formar a segunda geração parental de animais, grupos de 25 machos e 25 fêmeas foram selecionados da ninhada F_{1b} . Devido à alta incidência de mortalidade durante o período pós-desmame entre os filhotes F_{1b} que receberam 6 ppm, 30 machos e 30 fêmeas foram selecionados para formar a geração parental F_1 . Os animais da segunda geração parental foram tratados durante 100 dias antes do acasalamento e produziram 2 ninhadas consecutivas (F_{2a} e F_{2b}). Os animais foram expostos continuamente ao forato antes do acasalamento e até o desmame dos filhotes em ambas as gerações. O nível de colinesterase foi determinado no plasma, eritrócitos e cérebro de 10 animais (pais da geração F_1) por sexo em cada grupo ao final do estudo (sacrifício).

Foi observado tremores e diminuição do peso corpóreo nos animais da geração parental tratados com concentrações de forato acima de 4 ppm; nos animais expostos a 6 ppm houve aumento no índice de mortalidade e os principais sinais clínicos observados foram movimentos convulsivos e comportamento agressivo. A avaliação clínica feita rotineiramente nos animais revelou aumento na incidência de efeitos oculares, como exoftalmia, protusão dos tecidos da córnea e opacidade nos grupos que receberam 6 ppm da substância teste. A avaliação oftalmológica subsequente mostrou aumento marcante na incidência e severidade de infecções afetando a córnea, trato uveal anterior e segmento posterior dos olhos nos ratos tratados com a maior dose. Os níveis de colinesterase plasmática foram significativamente diminuídos em fêmeas expostas a 4 e 6 ppm e nos machos tratados com 6 ppm de forato. A atividade eritrocitária foi inibida levemente (10-11%) em machos e fêmeas expostos a 6 ppm. Houve significativa

inibição da atividade colinesterásica cerebral nos machos expostos a 6 ppm (40%) e nas fêmeas expostas a 4 ppm (59%) e 6 ppm (83%).

Foi observada significativa redução na sobrevivência dos filhotes em todas as ninhadas provenientes de ambas as gerações parentais expostas a 6ppm e da ninhada F_{2a} tratada com 4 ppm. O peso médio dos filhotes foi reduzido, nas ninhadas F_{1a} e F_{1b}, dos animais que receberam as duas maiores doses. O peso médio dos filhotes da ninhada F_{2a} expostos a 4 ppm foi diminuído, e também, dos filhotes das ninhadas F_{2a} e F_{2b} que foram expostos a 6 ppm. Foi registrada uma mancha anogenital nos filhotes F_{1b} e F_{2b} testados com a maior dose, mas não foi observado no grupo controle. O NOAEL foi fixado em 2 ppm, equivalente a **0,17 mg/kg p.c./dia** (Schroeder & Daly, 1991).

4.5.3. Toxicidade sobre o desenvolvimento embriofetal

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: 1978

Espécie: Ratas Crl:COBS CD (SD)BR

Nº de animais: 25 fêmeas prenhas/grupo

Doses: 0,125; 0,25 ou 0,5 mg/kg p.c./dia

Via: Oral (entubação gástrica)

Tempo de exposição: 6º ao 15º dia de gestação

Dia do sacrifício: 20º dia de gestação

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 91,7%

Referência: Litton Bionetics (1978). Teratology study in rats; Thimet^(R) phorate. Final unpublished report from Litton Bionetics, Inc. Unpublished report from Central Medical Department, American Cyanamid Co. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Wayne, NJ, USA. *Apud* IPCS

Durante o período gestacional foram observadas mortes no grupo de fêmeas expostas a menor dose (1/24) e a maior dose (7/23). Os fetos expostos a 0,5 mg/kg

p.c./dia apresentaram aumento na frequência cardíaca. O NOAEL para teratogenicidade foi fixado em 0,25 mg/kg pc/dia (Litton Bionetics, 1978).

Estudo 2

Ano: 1990

Espécie: Ratas CDBRVAF/Plus (SD)

Nº de animais: 8 fêmeas prenhas/grupo

Doses: 0,25; 0,5; 0,7 e 0,9 mg/kg p.c./dia

Via: Oral (gavage)

Tempo de exposição: 6º ao 15º dia de gestação

Dia do sacrifício: não informado

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 92,1%

Referência: Lochry, E.A. (1990a). An oral developmental toxicity (embryo-fetal toxicity/teratogenicity) pilot study with AC 35,024 in rats. Final report, Project ID No. 101P-012. Unpublished report dated 19 June 1990 from Argus Research Laboratories Inc., Horsham, PA, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA. Apud IPCS

Doses superiores a 0,5 mg/kg p.c./dia foram letais para as mães e nenhuma fêmea sobreviveu após o 12º dia de gestação. Os sinais clínicos de toxicidade, antes da morte, incluíram tremores, espasmos, salivação excessiva, exoftalmia, ataxia, convulsão clônica, diminuição do peso corporal e da ingestão de alimentos. A avaliação dos animais que morreram revelou glândulas adrenais obstruídas e aumentadas. O NOAEL foi fixado em 0,25 mg/kg pc/dia para toxicidade maternal e do desenvolvimento (Lochry, 1990a).

Estudo 3

Ano: 1990

Espécie: Ratas CDBRVAF/Plus (Sprague-Dawley)

Nº de animais: 25 (grupo controle e grupo tratado com 0,4 mg/kg/dia) e 24 nos demais grupos tratados.

Doses: 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 mg/kg/dia

Via: Oral (gavage)

Tempo de exposição: 6° ao 15° dia de gestação presumida

Dia do sacrifício: 20° dia de gestação

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 92,1%

Referência: Lochry, E. A. et al (1990). An oral developmental toxicity (embrio-fetal toxicity/teratogenicity) definitive study with AC 35.024 in rats. Dossiê de registro submetido à ANVISA

Seis ratas que receberam 0,4 mg/kg/dia de forato morreram após o tratamento com 5 a 10 doses (entre o 11° e 16° dias de gestação presumida). Uma rata tratada com a maior dose foi encontrada morta no 15° dia de gestação presumida e não estava grávida. Todas as outras ratas foram encontradas mortas no 11° (duas ratas), 15° (uma rata) ou 16° dia (duas ratas) de gestação (e estavam grávidas realmente grávidas). Essas mortes foram consideradas um efeito da substância teste em virtude dos seguintes fatos: 1) As ratas apresentaram alterações associadas à substância teste (em virtude das seguintes observações clínicas: decréscimo do ganho de peso e/ou perda de peso corpóreo, redução no consumo de alimento e lesões observadas na necropsia) e 2) Todos (8/8) animais tratados com as doses de 0,5; 0,7 e 0,9 mg/kg/dia morreram durante a realização de um estudo piloto.

O grupo tratado com a maior dose apresentou significativo aumento no número de animais que exibiram tremores, cromodaciorrêia, pele abdominal com mancha de urina, decréscimo da atividade motora, cromorrinorrêia, salivação excessiva, reflexos prejudicados, substância vermelha em torno do nariz e dificuldade respiratória. No grupo exposto a 0,4 mg/kg/dia foi observado, em relação ao grupo controle, aumento no número de ratas que exibiram substância vermelha na vagina, substância avermelhada ou “manchada” na região oral e postura arqueada.

Os dados de necropsia revelaram aumento significativo ($p \leq 0,01$) no número de animais tratados com a maior dose que apresentaram pele abdominal com mancha de urina, cromodaciorrêia, decréscimo da atividade motora, presença de substância vermelha, amarela ou “manchada” em torno dos olhos, nariz e/ou boca, em comparação ao grupo controle. Nos grupo exposto a 0,4 mg/kg/dia, foi observado aumento no número de fêmeas que apresentaram postura arqueada e substância vermelha ou amarela em torno da região anal e vaginal, em relação ao grupo não tratado. As fêmeas que receberam a maior dose apresentaram, ainda, aumento das glândulas adrenais.

A administração de 0,4 mg/kg/dia da substância teste provocou significativa perda de peso ($p \leq 0,01$), decréscimo significativo ($p \leq 0,01$) na média do ganho de peso

materno durante todo o período do estudo e significativa redução no peso materno entre o 12º e 20º dias de gestação. O peso do corpo materno durante o período gestacional foi reduzido ($p \leq 0,01$) no grupo tratado com a maior dose.

Foi observado decréscimo significativo ($p \leq 0,01$) no consumo de alimento no grupo tratado com a maior dose, essa alteração ocorreu durante todo o estudo e persistiu durante o período pós-dosagem quando comparado ao grupo controle.

No grupo tratado com 0,4 mg/kg/dia foi observado aumento significativo na incidência ($p \leq 0,05$ a $p \leq 0,01$) de fetos e/ou ninhadas com variações na ossificação do esqueleto (retardo na ossificação das esternébras, púbis não calcificado ou com calcificação incompleta e ísquio pobremente calcificado) e significativa ($p \leq 0,05$) redução no peso corpóreo do feto. As variações quanto ao atraso na ossificação do esterno e pélvis foram reversíveis, esperadas e inter-relacionadas com o decréscimo significativo ($p \leq 0,05$) no peso do corpo fetal nesse grupo de dose.

Baseado na mortalidade, nos sinais clínicos de toxicidade, no significativo decréscimo no consumo de alimentos e no peso corpóreo materno, assim como na redução do peso corpóreo e retardo na ossificação do esqueleto fetal na maior dose, o NOAEL estabelecido foi **0,3 mg/kg/dia**.

Estudo 4

Ano: 1986

Espécie: Coelhas (New Zealand)

Nº de animais: 5 fêmeas prenhas/grupo

Doses: 0,3; 0,6; 0,9; 1,2 e 1,5 mg/kg/dia

Via: Oral (gavage)

Tempo de exposição: 6º ao 18º dia de gestação

Dia do sacrifício: Não informado

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 92,1%

Referência: Schroeder, R.E. & Daly, I.W. (1986) A range-finding teratology study with phorate in rabbits. Final report, project No. 86-3038. Unpublished report dated 5 August 1986 from Bio/dynamics Inc., East Millstone, NJ, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA. *Apud* IPCS

A incidência de mortalidade nos seis grupos foi de 0/5, 1/5, 1/5, 1/5, 2/5 e 4/5, nos grupos tratados com 0,3; 0,6; 0,9; 1,2 e 1,5 mg/kg/dia de forato, respectivamente.

Foi observada perda de peso corporal nas fêmeas expostas a 1,2 mg/kg p.c./dia. No grupo exposto a maior dose, somente uma fêmea sobreviveu até o dia do sacrifício. Houve redução na ingestão de alimento nos grupos expostos a 0,3; 0,6; 0,9 e 1,2 mg/kg/dia, embora sem clara relação dose-resposta. Foi observado aumento no número de reabsorções e perdas pós-implantação nos animais expostos a doses superiores a 0,6 mg/kg/dia e redução do peso corporal fetal nos animais expostos a 1,2 mg/kg/dia. Baseado na redução no consumo de alimentos e na mortalidade materna, o LOAEL estabelecido foi 0,3 mg/kg/dia.

Estudo 5

Ano: 1987

Espécie: Coelhas (New Zealand)

Nº de animais: 20 fêmeas prenhas/grupo

Doses: 0,15; 0,5; 0,9 e 1,2 mg/kg/dia

Via: Oral (gavage)

Tempo de exposição: 6º ao 18º dia de gestação

Dia do sacrifício: Não informado

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 92,1%

Referência: Schroeder, R.E. & Daly, I.W. (1987) A teratology study with phorate in rabbits. Final report, project No. 86-3039. Unpublished report dated 6 April 1987 from Bio/dynamics Inc., East Millstone, NJ, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA. *Apud* IPCS

Oito fêmeas expostas à maior dose morreram entre 14º e 19º dia de gestação, uma fêmea abortou e outra pariu prematuramente no 28º dia de gestação, portanto, somente 10 fêmeas sobreviveram até o dia do sacrifício. A morte de duas fêmeas tratadas com 0,9 e uma com 0,5 mg/kg também foi atribuída à administração da substância teste. Foi observada redução no peso corporal e no ganho de peso nos animais que receberam doses maiores ou iguais a 0,5 mg/kg. As fêmeas expostas a 1,2 mg/kg apresentaram diminuição no consumo de alimentos. Não foram observados efeitos em relação à perdas pós-implantação, ao número de reabsorções, ao número de fetos vivos, ao peso corporal fetal e à razão de sexo dos fetos. No grupo tratado com a maior dose, todos os três fetos de uma única ninhada (cinco dos oito sítios de implantação estavam com reabsorção precoce) apresentaram pálpebras abertas, escápula

curvada, ausência do processo supraorbital, margem irregular do osso frontal e moleira anterior deslocada. Como algumas alterações também foram observadas no controle histórico, as evidências não foram suficientes para indicar efeito teratogênico nos coelhos expostos ao forato. O NOAEL para toxicidade materna foi fixado em 0,15 mg/kg/dia, baseado na alta incidência de mortalidade e redução do peso corporal nas doses maiores ou iguais a 0,5 mg/kg/dia. O NOAEL para toxicidade do desenvolvimento foi em 0,9 mg/kg p.c./dia.

4.6. Imunotoxicidade

A imunotoxicidade é definida como a interação de substâncias químicas com o sistema imunológico, desencadeando efeitos adversos (Descotes, 1994; Berlin et al, 1987).

O sistema imunológico desempenha sua função de imunovigilância, contra patógenos e células potencialmente neoplásicas, utilizando seus componentes celulares - como os linfócitos e fagócitos- e componentes humorais (anticorpos) (Abbas et al, 2000).

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

Os agrotóxicos organofosforados podem desregular o sistema imune e afetar mecanismos imunológicos específicos (humorais) e não específicos (celulares). A exposição crônica a baixas doses durante períodos prolongados pode reduzir as respostas imunes humorais. Barnett, 1994 apud Repetto; Baliga, 1996 demonstraram que a exposição ao forato reduz a contagem de linfócitos.

Camundongos suíços albinos adultos foram expostos por via inalatória ao forato. Os animais foram expostos na mesma dose recomendada pelos fabricantes para aplicação no campo (20 kg/hectare) por agricultores. A exposição ocorreu por 3 horas e meia, seis dias por semana, durante 3 meses (MOROWATI, 1998). Na semana 2 de exposição, foi observado aumento de leucócitos totais, particularmente neutrófilos e monócitos. O aumento de monócitos também foi registrado nas semanas 8, 10 e 12. Na semana 4, foi observada apenas a diminuição de linfócitos, mas posteriormente (semanas 6, 8, 10 e 12) as contagens de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos

também diminuíram. Os resultados indicam que o forato causou efeitos imunotóxicos, levando à imunossupressão nos animais expostos por via inalatória em doses correspondentes a exposição humana ocupacional (MOROWATI, 1998).

4.7. Neurotoxicidade

Neurotoxicidade é uma alteração adversa na estrutura ou função do sistema nervoso central e/ou periférico após a exposição a um agente físico, químico ou biológico (TILSON, 1990). Efeitos neurotóxicos funcionais incluem alterações adversas nas funções somáticas/autônômicas, sensoriais, motoras e/ou cognitivas. Efeitos neurotóxicos estruturais são definidos como alterações neuro-anatômicas que ocorrem em qualquer nível da organização do sistema nervoso; alterações funcionais são definidas como efeitos neuroquímicos, neurofisiológicos ou comportamental.

Os químicos podem ser categorizados dentro de quatro classes: aqueles que atuam sobre o sistema nervoso central, fibras nervosas periféricas, ou músculos ou outros tecidos (ALBERT, 1973). Alterações na função podem resultar da toxicidade de outros sistemas órgãos específicos, e essa alteração indireta pode ser considerada adversa. Por exemplo, exposição à alta dose de um químico pode causar dano no fígado, resultando em mal-estar geral e diminuição de um desfecho funcional tal como atividade motora. Nesse caso a alteração motora pode ser considerada como adversa, mas não necessariamente neurotóxica.

Efeitos neurotóxicos podem ser observados em vários níveis de organização do sistema nervoso, incluindo neuro-químico, anatômico, fisiológico ou comportamental. No nível neuro-químico, por exemplo, o agente neurotóxico pode inibir a síntese de neurotransmissores 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 nas sensações da visão, audição, ou tato; alterações de reflexos simples e complexos e funções motoras; alterações nas funções cognitivas tal como aprendizado, memória ou atenção; e alterações no humor, tal como medo ou raiva, desorientação como pessoa, tempo ou espaço, ou distorções de pensamentos e sentimentos, tal como delírio e alucinações.

4.7.1. Mecanismo de ação

O principal efeito prejudicial associado à exposição a OP envolve efeitos no sistema nervoso e suas conseqüências. O neurotransmissor acetilcolina está presente no sistema nervoso autonômico periférico, no sistema nervoso motor somáticos e em algumas porções do sistema nervoso central (SNC). Após a sua liberação no nervo sináptico ou na junção neuromuscular, o transmissor é rapidamente hidrolisado pela acetilcolinesterase.

Os músculos, glândulas e fibras nervosas são estimulados ou inibidos pela constante descarga de sinais através das sinapses. Essa é uma reação que acontece rapidamente com a acetilcolina causando estimulação e a acetilcolinesterase é responsável pela finalização do sinal. O funcionamento do sistema nervoso necessita da enzima chamada colinesterase (ChE), que facilita a transmissão do impulso nervoso. Quando um agrotóxico inibidor da colinesterase entra no sistema, essa função é negativamente afetada.

O mecanismo de toxicidade dos organofosforados (OP) envolve o processo de fosforilação do grupo hiroxil-serina e a ligação irreversível desativando, desse modo, a esterase o que resulta no acúmulo da acetilcolina na placa terminal (CECCHINE et al, 2000; DYRO, 2003). Como resultado da acumulação da acetilcolina na junção neuromuscular, ocorre a persistente despolarização do músculo esquelético e isso resulta em fraqueza e fasciculações, e desregulação da transmissão neural no SNC (SLAPPER, 1999).

Dessa maneira, 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).

Tanto o forato quanto vários de seus metabólitos agem inibindo a AChE. O forato é um inseticida extremamente tóxico (KASHYAP et al, 1984; WORLD HEALTH ORGANIZATION/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 1988) que apresenta elevada neurotoxicidade em mamíferos (BOSHOF; PRETORIUS, 1979; GRANDJEAN; LANDRIGAN, 2006). Seus efeitos neurotóxicos em humanos são conhecidos e foram descritos em vários estudos (YOUNG; JUNG; AYER, 1979; KASHYAP et al, 1984; WORLD HEALTH ORGANIZATION/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 1988; KUSIC et al, 1991; DOBOZY, 1998; ANDERSEN; NIELSEN; GRANDJEAN, 2000; THANAL, 2001; JAYAKUMAR, 2002; MISSION, 2006; PETER; PRABHAKAR; PICHAMUTHU, 2008a; 2008b).

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). A exposição pré-natal a organofosforados foi demonstrada através da detecção 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).

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, 2008). 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 sequelas neurológicas de longo prazo (WESSELING et al, 2002; KAMEL; HOPPIN, 2004).

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

4.7.2. Manifestações clínicas

Os inibidores de colinesterase causam três quadros clínicos de intoxicação 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, 1993).

4.7.3. Neurotoxicidade aguda

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 intoxicação aguda por organofosforados dependem da via de exposição e geralmente ocorrem nas primeiras 12 horas. Quando inalados, 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).

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

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

Peter, Prabhakar e Pichamuthu (2008b) relataram um caso onde uma mulher de 28 anos de idade ingeriu 50 ml de forato após uma tentativa de suicídio. Os sintomas iniciais observados foram vômito, tontura, dor abdominal e perda de consciência. Seguiram-se a esses sintomas hipotensão e dificuldade de respirar, havendo necessidade de ventilação mecânica. Quatro dias após a tentativa de suicídio a paciente apresentou espasmos e tremores, além do aumento do tônus muscular dos membros e redução dos níveis séricos da AChE. A paciente entrou em coma profundo e os achados durante esse período foram consistentes com morte cerebral, incluindo ausência de reflexos corneanos, oculoencefálicos, pupilares e musculares, ausência de reações a estímulos de dor ou calor e ausência de respiração espontânea. O eletroencefalograma mostrou supressão global da atividade cortical. Entretanto, quinze dias após o coma a paciente recobrou completamente a consciência.

Em 1991, Kusic et al descreveram 03 casos de envenenamento em decorrência da exposição ao forato. Dois dos casos foram representados por ingestão intencional (tentativa de suicídio) e em um caso a exposição foi acidental e a via de exposição foi a inalatória. Em todos os casos houve severa intoxicação com a manifestação de sintomas colinérgicos e ainda redução dos níveis de colinesterase eritrocitária.

Em 21 de julho de 2006, 20 moradores do vilarejo de Salkiana, distrito de Jalandhar, Índia, necessitaram de cuidados médicos ao apresentar sintomas neurotóxicos agudos após exposição ao forato. O produto foi aplicado em uma plantação de cana-de-açúcar, e a dispersão do forato pelo ar intoxicou moradores do distrito de Salkiana. Foram atendidos em um hospital público 18 casos de envenenamento, sendo 10 crianças (05 do sexo masculino e 05 do sexo feminino) e 08 adultos (07 mulheres e 01 homem). Outras duas pacientes (14 e 18 anos) foram atendidas em hospitais particulares da região. Os casos mais graves foram registrados em uma escola elementar, onde alunos e professores relataram sentir um cheiro estranho, asfixia e dificuldade respiratória. Em poucos minutos 16 alunos perderam a consciência. Além dos casos registrados na escola, moradores do vilarejo também relataram dificuldade respiratória e perda de consciência. Além da dificuldade respiratória, os sintomas mais frequentes foram mal estar, cefaléia, irritação ocular, tontura, náusea, vômito, lacrimejamento, salivação excessiva, dor muscular e câibras. Algumas crianças com dificuldade respiratória severa

necessitaram da administração de oxigênio. Seis dias após a exposição ao forato, vários pacientes ainda apresentavam sintomas como irritação ocular, reações dérmicas, mal estar, distúrbios gastrointestinais e problemas urinários. Todos relataram perda de apetite, mesmo após o sexto dia (MISSION, 2006).

Vinte e dois casos de intoxicação após a exposição ao forato foram registrados durante os anos de 1982 e 1993 pelo Programa californiano de vigilância a agravos provocados por agrotóxicos. Em um dos casos registrados em 1982, uma criança de 22 meses morreu após se expor ao forato enquanto brincava no quintal do avô. O produto estava armazenado em uma lata de café, e após a exposição, a criança apresentou náuseas e desmaiou. Apesar de ter sido levada rapidamente ao hospital, a criança entrou em coma, desenvolveu um quadro de pneumonia e edema cerebral. Quatro dias após a exposição, a criança veio a óbito. Em outro caso registrado no período, um estudante entrou sem camisa em um campo que havia sido tratado com um produto formulado com o ingrediente ativo forato. Ele apresentou cefaléia, dores musculares, náusea, diarreia, irritação dérmica e tontura. Em um caso de exposição ocupacional observado no período, um trabalhador inalou o forato e apresentou sintomas como cefaléia, náuseas e manifestações gastrointestinais (DOBOZY, 1998).

Young, Jung e Ayer (1979) relataram dois casos de envenenamento por exposição ocupacional ao forato. No primeiro caso um trabalhador de 34 anos deu entrada em um hospital após apresentar sintomas como confusão, tontura, náusea, vômito, miose e perda de consciência. No segundo caso um homem de 18 anos de idade necessitou de cuidados médicos após apresentar náuseas, transpiração excessiva, vômito, tontura e perda de coordenação muscular. A esses sintomas seguiu-se um quadro severo de dificuldade respiratória e arritmia cardíaca (taquicardia), salivação excessiva, fasciculação muscular e miose. A concentração de forato no ar da indústria onde trabalhavam os dois homens variou entre 0,07 a 14,6 µg/l.

Um jovem de 16 anos adoeceu após trabalhar com sementes de algodão tratadas com forato. Os sintomas incluíram coma, pressão arterial indetectável, miose, saliva espumosa e sanguinolenta e convulsões. Houve redução da atividade das colinesterases eritrocitária e plasmática (WORLD HEALTH ORGANIZATION/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 1988).

Em outro caso, um homem que trabalhava manipulando forato apresentou sintomas neurológicos após exposição ocupacional ao produto. Houve redução de 50% da AChE plasmática e da eritrocitária (comparação com valores determinados

previamente à exposição). Um metabólito do forato, o dietil fosfato, foi detectado na urina (WORLD HEALTH ORGANIZATION/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 1988).

Durante duas semanas, quarenta homens entre 19 e 45 anos que trabalharam na formulação de grânulos de forato (10%) foram acompanhados e tiveram a atividade anticolinesterásica e as manifestações clínicas monitoradas. Os achados durante o período do estudo foram comparados com exames clínicos e laboratoriais realizados antes da exposição. Nenhum dos trabalhadores foi exposto ao forato por pelo menos um mês antes do início do estudo. Durante as duas semanas do estudo cada homem trabalhou 8 horas por dia e a produção foi mantida 07 dias por semana. 60% dos trabalhadores desenvolveram quadro de intoxicação aguda com manifestações neurológicas como cefaléia (45%), fadiga (27,5%) e tontura (37,5%), manifestações gastrointestinais como náuseas (42,5%), vômitos (35%) e dores abdominais (52%), além de bradicardia (48%), irritação ocular (40%) e lacrimejamento (15%). Foi observada redução significativa dos níveis de AChE no fim da primeira semana (55%) e da segunda semana (71%) quando comparados a valores estabelecidos antes da exposição. As manifestações clínicas e alterações laboratoriais aconteceram mesmo diante da adoção de boas praticas de higiene e da utilização de EPI, ratificando a toxicidade do composto e a incapacidade dos EPI em proteger trabalhadores repetidamente expostos ao forato (KASHYAP et al, 1984).

Em 26 de junho de 2001, no estado de Kerala, Índia, um adolescente de 16 anos que trabalhava aplicando forato em plantações de cardamomo apresentou sintomas de intoxicação após inalar o referido agrotóxico. O adolescente apresentou sintomas como mal-estar, vômito e salivação excessiva, indo a óbito poucas horas após a exposição. Também em 26 de junho de 2001, em Kerala, uma mulher apresentou sintomas como tonturas, visão embaçada e vômitos meia hora após trabalhar coletando folhas utilizadas para o preparo de chá que estavam contaminadas com forato. No total 41 trabalhadores de Kerala expostos ocupacionalmente ao forato apresentaram sintomas semelhantes e foram hospitalizados na ocasião (THANAL, 2001).

Em uma comunidade agrícola do distrito de Wyanad, estado de Kerala, Índia, 32 crianças menores de 12 anos (16 do sexo feminino e 15 do sexo masculino) apresentaram sintomas severos de intoxicação por organofosforado. As crianças estavam na Escola Primária de Kottathara durante o incidente no qual os afetados apresentaram sintomas como tontura, náusea, vômitos, cefaléia, visão embaçada, dores

no peito, dificuldade respiratória, dores abdominais, câibras e, em alguns casos, perda de consciência. A escola localizava-se próximo uma plantação de bananas tratadas no dia 10 de julho de 2002 com 300 g de forato (forato 10%), valor 12 vezes acima da dose recomendada (25 g). O produto então se dispersou através do ar, atingindo a escola e afetando as crianças. Sete dias após o episódio, as crianças retornaram ao hospital apresentando os mesmos sintomas (JAYAKUMAR, 2002).

Em um estudo observacional prospectivo, 35 pacientes adultos admitidos na UTI de um hospital universitário em decorrência de envenenamento por organofosforados foram observados durante o período de 01 ano (maio de 2006 a abril de 2007) com o objetivo de observar as características clínicas e os desfechos decorrentes do envenenamento por esses compostos. Todos os pacientes apresentaram intoxicação com manifestações colinérgicas e nicotínicas e redução dos níveis de pseudocolinesterase (<1000 UI/l). Os pacientes apresentaram miose, salivação excessiva, lacrimejamento, transpiração excessiva e bradicardia. Destes, 04 foram intoxicados por forato, 06 por monocrotofós, 06 por quinalfós, 03 por clorpirifós, 01 por parationa metílica, 04 por outros organofosforados e 11 não tiveram o produto identificado. Trinta pacientes (85,7%) necessitaram de ventilação mecânica durante a internação, 03 entraram em coma e outros 03 apresentaram redução na escala de coma de Glasgow, mas sem progressão para o coma. Esses 06 pacientes desenvolveram síndrome intermediária, havendo necessidade de ventilação mecânica. A síndrome intermediária foi provocada pelo forato (01 caso), pela parationa metílica, (01 caso), pelo quinalfós (01 caso) e nos outros 03 casos o organofosforado responsável não foi discriminado (PETER; PRABHAKAR; PICHAMUTHU, 2008a).

Das e Jena (2000) descreveram um caso de envenenamento severo por forato, com complexas manifestações de encefalopatia, síndrome intermediária e polineuropatia retardada. Uma mulher de 20 anos de idade, em uma tentativa de suicídio, ingeriu 25 g de um produto formulado à base de forato. Ao dar entrada no hospital a paciente estava consciente, apresentava miose, diaforese e salivação excessiva e aumento das secreções broncopulmonares. Dois dias após ingestão do produto e início dos sintomas a paciente perdeu a consciência e desenvolveu hiperreflexia. Seguiram-se a esse quadro síndrome intermediária e polineuropatia retardada.

Diversos estudos descreveram 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 conjugues ou não parentes, a fim de determinar uma possível relação entre a exposição a agrotóxicos organofosforados e a doença de Parkinson. O estudo relacionou positivamente o uso de organofosforados à doença de Parkinson, uma vez que este agravo estava fortemente relacionado à exposição aos agrotóxicos organofosforados.

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

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

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

Em um estudo de caso, Davis, Yesavage e Berger (1978) relataram uma exposição ocupacional de um agricultor que aplicava agrotóxicos organofosforados em diferentes culturas com auxílio de avião. O paciente já havia apresentado inúmeros episódios de intoxicação aguda a organofosforados, estando cronicamente exposto a esses compostos. Tais achados levantaram a hipótese de relação entre o parkinsonismo e organofosforados, onde a exposição ocupacional pode estar relacionada a um maior risco de desenvolvimento da doença.

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

4.7.4. 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).

Peter, Prabhakar e Pichamuthu (2008a) descreveram 06 casos de síndrome intermediária após intoxicação aguda por organofosforados. A síndrome intermediária foi provocada pelo forato (01 caso), pela parationa metílica, (01 caso), pelo quinalfós (01 caso) e nos outros 03 casos o organofosforado responsável não foi discriminado. A paciente intoxicada pelo forato tinha 28 anos de idade e ingeriu aproximadamente 50 ml do produto, tendo ficado internada por 39 dias. 03 dos pacientes entraram em coma e outros 03 apresentaram redução na escala de coma de Glasgow, mas sem progressão para o coma. Todos necessitaram de ventilação mecânica. Os pacientes que entraram em coma manifestaram tremores associados à rigidez muscular, transpiração excessiva, redução da capacidade respiratória, redução da resposta a estímulos dolorosos e perda progressiva da consciência. Durante o coma, os 03 pacientes apresentaram ausência de reflexos oculoencefálicos, pupilares e da córnea e ausência de reflexos tendinosos profundos.

Peter, Prabhakar e Pichamuthu (2008b) relataram um caso onde uma mulher de 28 anos de idade ingeriu 50 ml de forato após uma tentativa de suicídio. Os sintomas iniciais observados foram vômito, tontura, dor abdominal e perda de consciência. Seguiram-se a esses sintomas hipotensão e dificuldade de respirar, havendo necessidade de ventilação mecânica. Quatro dias após a tentativa de suicídio a paciente apresentou espasmos e tremores, além de aumento do tônus muscular dos membros e redução dos níveis séricos da AChE. A paciente entrou em coma profundo e os achados durante esse período foram consistentes com morte cerebral, incluindo ausência de reflexos corneanos, oculoencefálicos, pupilares e musculares, ausência de reações a estímulos de

dor ou calor e ausência de respiração espontânea. O eletroencefalograma revelou mostrou supressão global da atividade cortical. Entretanto, quinze dias após o coma a paciente recobrou completamente a consciência. Apesar do estudo não classificar o caso como síndrome intermediária, o início dos sintomas entre 24-96 horas após episódio de intoxicação aguda, as manifestações clínicas e o quadro auto-limitante revertido com o tratamento adequado foram compatíveis com a síndrome.

Em um caso de envenenamento por forato, Das e Jena (2000) descreveram síndrome intermediária em uma paciente após quadro de intoxicação aguda. Dois dias após ingestão do produto e início dos sintomas a paciente perdeu a consciência e desenvolveu hiperreflexia. No quarto dia a paciente recobrou a consciência, porém apresentava profunda paralisia muscular, com fraqueza dos músculos flexores do pescoço, dos membros superiores e inferiores e dos músculos da laringe e faringe (síndrome intermediária). Apesar de melhora da fraqueza muscular no 8º dia, surgiu uma parálise flácida no final da segunda semana envolvendo os membros inferiores, levando à atrofia e perda de capacidade motora devido à polineuropatia tardia. Atrofia nos músculos das mãos também foi observada.

4.7.5. 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/FAO/WHO

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).

Das e Jena (2000) relataram um caso de polineuropatia tardia após manifestações clínicas agudas e síndrome intermediária em uma mulher de 20 anos que ingeriu 25 g de um produto formulado à base de forato. Aproximadamente duas semanas após a ingestão do composto, a paciente apresentou uma parálise flácida envolvendo os membros inferiores, levando à atrofia e perda de capacidade motora devido à polineuropatia tardia. Atrofia nos músculos das mãos também foi observada. Exames revelaram axonopatia, isto é, redução na velocidade de condução do impulso nervoso. O eletromiograma sugeriu lesão neurogênica.

4.7.6. Estudos experimentais de neurotoxicidade

Seis galinhas adultas por grupo foram alimentadas com 0 ou 40 ppm forato, equivalente a 5 mg/kg, na dieta durante 4 semanas. Foi formado um terceiro grupo,

controle positivo, que recebeu 4000 ppm fosfato de tri- *orto*-tolil. As galinhas foram anestesiadas e imediatamente perfundidas com formol tamponado, e partes do cérebro, cordão torácico e nervo ciático foram preparados para o exame microscópico. O grupo exposto ao fosfato de tri- *orto*-tolil apresentou perda mielina, mas as galinhas expostas ao forato não apresentaram efeitos adversos sobre as fibras nervosas e a bainha de mielina (LEVINSKAS et al, 1965).

Galinhas Leghorn (22-23 meses de vida) receberam forato (89,5% de pureza) dissolvido em óleo de milho por via oral, gavagem. A DL₅₀ após dose única foi de 14,2 mg/kg. Cinquenta galinhas receberam 10 mg/kg de sulfato de atropina, via intramuscular, e 1 h depois receberam dose única de 14,2 mg/kg de forato. Um grupo adicional de 15 galinhas recebeu óleo de milho somente e 15 galinhas que não receberam atropina foram expostas a 500mg/kg de fosfatotri-orto-tolil, como controle positivo. Todas as galinhas sobreviventes do grupo teste e do grupo controle veículo receberam as mesmas doses durante 21 dias, exceto a de sulfato de atropina que recebeu 30 mg/kg. Os animais foram observados diariamente para mortalidade, sinais clínicos e evidência de reações neurotóxicas. A cada 3 dias foram registrados o peso corporal e o consumo de alimentos. Todas as galinhas que morreram durante o estudo e todas as galinhas que foram sacrificadas no fim do estudo (42 dias) foram submetidas à necropsia. Aquelas sacrificadas no final do estudo foram perfundidas com formol tamponado 10% e o cérebro, coluna vertebral e todo o nervo ciático direito e esquerdo foram retirados e fixados. Cortes histológicos dos tecidos nervosos foram preparados e corados. Os tecidos de 10 galinhas por grupo foram avaliados histologicamente.

Nenhuma das 15 galinhas alimentadas com óleo de milho morreu e todas as 15 que receberam fosfato de tri-orto-tolil foram sacrificadas ao extremo no dia 16 do estudo com sinais clínicos de neuropatia. Esses sinais incluíram fraqueza generalizada, ataxia e paralisia das pernas e asas. Das 50 galinhas tratadas com forato, 27 morreram dentro de 24h após a 1^o dose e 13 dentro de 24h após a 2^o dose. Dez galinhas sobreviveram até o fim do estudo. Não foram observados sinais clínicos de neuropatia retardada em qualquer animal controle veículo e teste. Em comparação com o controle veículo, a média do ganho de peso corporal das galinhas testes foi maior entre os dias 0-21 e menor entre os dias 21-42. Não foram observados efeitos relacionados ao forato com relação à necropsia. Avaliação histológica do tecido neural das galinhas controle positivo revelou lesões (degeneração axonal, demielinização, hiperplasia das células de Schwann) relacionadas ao tratamento envolvendo cérebro, medula espinhal e/ou nervo

ciático das 10 galinhas. Essas lesões foram compatíveis com a resposta neurotóxica retardada induzida pelo fosfato de tri-orto-tolil. Degeneração axonal focal do nervo ciático foi observada em 3 de 10 galinhas tratadas com o forato; não foi observada essa degeneração no grupo controle. A degeneração axonal observada nas aves tratadas foi associada com infiltração intersticial das células linfóides, que também foi observada nas galinhas controle veiculo e em outros testes. O tratamento não induziu sinais histopatológicos e clínicos indicativos de neuropatia retardada (FLETCHER, 1984).

Os estudos experimentais aportados nos dossiês toxicológicos de registro submetidos à ANVISA, com relação à neurotoxicidade, estão descritos a seguir:

Estudo 1

Ano: 1998

Espécie: Rato (Sprague-Dawley)

Nº de animais: 20/sexo/dose

Doses: 0,25; 0,5; ou 1,0 mg/kg p.c.(dose única)*

Via: Oral (gavage)

Tempo de exposição: 14 dias

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 91,8%

Referência: Mandella, R. et. al. (1998). An acute neurotoxicity study with AC 35024 in the rat via oral gavage administration. Dossiê de registro submetido à ANVISA.

*O volume administrado foi 5mL/kg de p.c.

Animais tratados com 0,5 (dois machos e duas fêmeas) e com 1 mg/kg/p.c (2 machos e 5 fêmeas) apresentaram miose. Uma fêmea tratada com 0,5 mg/kg/p.c. exibiu tremores e uma fêmea tratada com a maior dose apresentou fasciculações, ligeiro prejuízo na capacidade locomotora, tremores, assim como alterações na locomoção das patas traseiras. A recuperação foi evidente na segunda semana após a exposição, as avaliações da bateria de observações funcionais realizadas no 8º e 15º dia foram normais em todos os grupos tratados.

A inibição da colinesterase foi um achado típico nos animais expostos às duas maiores doses de forato e foi observado no 1º dia durante a avaliação da bateria de observações funcionais. Houve significativa inibição na atividade da colinesterase eritrócitária, plasmática e cerebral nos machos e fêmeas tratados com a maior dose. A atividade da colinesterase plasmática foi inibida em 27,5% e 67,7%, a eritrócitária em

21,4% e 65,1% e a cerebral em 14% e 65,2%, em machos e fêmeas, respectivamente, em comparação ao grupo controle.

A atividade da acetilcolinesterase cerebral foi estatisticamente reduzida nos machos tratados com 0,5 mg/kg/p.c. imediatamente após a administração da substância teste, quando comparado ao controle. Entretanto, segundo o diretor do estudo, baseado na pequena magnitude desse decréscimo (6%) e na ausência de diminuição estatisticamente ou biologicamente significativa da atividade da acetilcolinesterase cerebral nas fêmeas (sexo mais sensível à inibição da colinesterase pelo forato) tratadas com a mesma dose, bem como ausência de inibição da acetilcolinesterase eritrocitária e plasmática nas fêmeas tratadas com 0,5 mg/kg/p.c., essa ligeira redução na atividade da acetilcolinesterase cerebral nos machos tratados com a maior dose não foi considerada biologicamente significativa.

No grupo tratado com a maior dose a completa recuperação da atividade da acetilcolinesterase plasmática ocorreu no 8º dia após a administração da substância teste. A atividade da colinesterase eritrocitária e cerebral foi parcialmente recuperada após o 14º dia.

Baseado nas alterações da bateria de observações funcionais (miose), o NOAEL foi fixado em 0,25 mg/kg/p.c.

Estudo 2

Ano: 2004

Espécie: Rato (Wistar)

Nº de animais: 45 fêmeas *

Doses: 0,03; 0,1 e 0,3^{**} mg/kg p. c. (fêmeas) / 0,03 e 0,1 mg/kg p.c. (filhotes)

Via: Oral (gavage)

Tempo de exposição: do 6º dia após o coito ao 10º dia após parto (fêmeas) e do 11º ao 21º dia depois do parto (filhotes)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 91,8%

Referência: Kaufmann, W. et al. (2004). Developmental neurotoxicity study in Wistar rats oral administration to the dams and pups (gavage). Dossiê de registro submetido à ANVISA.

* Com prenhez presumida.

** Antes do início da lactação houve diminuição da dose, de 0,3 para 0,2 mg/kg/p.c. em virtude do alto índice de mortalidade das ratas grávidas e dos filhotes.

OBSERVAÇÃO: Em virtude da severa toxicidade materna e excessiva mortalidade dos filhotes, a maior dose foi reduzida de 0,3 mg/kg/p.c. para 0,2 mg/kg/p.c., porém o estudo foi completamente cancelado após a primeira semana de lactação em função da extrema toxicidade materna, da elevada quantidade de

natimortos, bem como da excessiva mortalidade dos filhotes no início da lactação por causa do insuficiente cuidado materno com as crias, em razão da severa toxicidade exibida pelas mães.

No grupo tratado com a maior dose (0,3/0,2 mg/kg/p.c.) foi observado pronunciada mortalidade e expressiva toxicidade materna culminando no elevado número de filhotes natimortos e excessiva mortalidade dos filhotes durante o início da lactação. Esses achados justificaram o término prematuro do tratamento com essas doses após aproximadamente a primeira semana de lactação. Em relação às fêmeas expostas à maior dose, quatro fêmeas foram encontradas mortas nos dias 21 e 22 depois do coito e duas no 1º dia após o parto. Os sinais clínicos de toxicidade materna foram: tremores (em três fêmeas no 21º dia após o coito e em cinco logo após o parto), salivação e cromodaciorréia após a administração da substância teste (em duas fêmeas nos dias 17 e 18 depois do coito e em duas até o primeiro dia após o parto), severa alteração no modo de andar, no estado geral e dificuldade respiratória foram observadas em seis fêmeas do 1º ao 4º dias pós parto. Houve ainda a formação de crosta vermelha no nariz de uma fêmea exposta à maior dose da substância teste do 2º ao 4º dias depois do parto. Nutrição incorreta dos filhotes foi uma alteração secundária à toxicidade materna e observada em nove fêmeas do grupo que recebeu 0,3/0,2 mg/kg/p.c. de forato durante os 4 primeiros dias após o parto, período em que onze fêmeas tratadas com essa dose perderam os filhotes em virtude da alimentação deficiente (verificada pela ausência ou pela quantidade insuficiente de leite no estômago dos filhotes). O grupo tratado com a maior dose exibiu decréscimo estatisticamente significativo, 16% menos em relação ao controle, no consumo de alimentos durante o 1º ao 7º dias após o parto. Também foi observado redução estatisticamente significativa, 5% menos em comparação ao grupo controle, na média do peso corpóreo logo após o parto, 2 dias após o parto essa diminuição foi de 6% em relação ao grupo não tratado. O ganho de peso foi prejudicado nas fêmeas expostas a maior dose nos dias 7 e 8 após o coito (39% menos em comparação ao controle), nos dias 9 e 10 depois do coito (28% menor em relação ao controle), nos dias 19 e 20 pós coito (-25%), durante toda a gestação (-10%), bem como nos primeiros dois dias após o parto (perda de 3,8 gramas no grupo que recebeu a maior dose *versus* ganho de 1,0 grama no controle)

Em relação aos filhotes das mães expostas a maior dose, foi observado aumento estatisticamente significativo na quantidade de fêmeas com crias natimortas (13 no grupo de fêmeas tratadas com a maior dose *versus* 4 no grupo não tratado) e no número de

filhotes natimortos (39 *versus* 4 no grupo controle). Consequentemente houve redução estatisticamente significativa na quantidade de filhotes nascidos vivos (-21% em comparação ao controle). Foi verificado aumento (25%) no número de filhotes mortos durante os quatro primeiros dias da lactação (66 no grupo tratado com a maior dose *versus* 1 no grupo não tratado), adicionalmente 18 filhotes foram sacrificados em virtude de morte materna. A avaliação realizada no 1º dia após o parto revelou que os machos e as fêmeas exibiram diminuição estatisticamente significativa do peso corpóreo. Nos primeiros quatro dias depois do parto foi observado que os animais tratados com a maior dose apresentaram redução no ganho de peso corporal (-14% em comparação ao controle).

A avaliação realizada nos filhotes 21 dias após o parto mostrou que os machos tratados com 0,1 mg/kg/p.c. exibiram significativa redução na atividade da colinesterase plasmática (-15%, $p \leq 0,05$), eritrocitária (-16%, $p \leq 0,01$) e cerebral (-22%, $p \leq 0,01$), já as fêmeas que receberam essa dose apresentaram significativa diminuição da colinesterase plasmática (-19%, $p \leq 0,01$).

O NOAEL estabelecido para o estudo foi 0,03 mg/kg/p.c.

Estudo 3*

Ano: 2004

Espécie: Rato (Wistar)

Nº de animais: 45 fêmeas**

Dose: 0,2 mg/kg p.c.

Via: Oral (gavage)

Tempo de exposição: do 6º dia após o coito ao 10º dia após parto (fêmeas) e do 11º ao 21º dia depois do parto (filhotes)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 91,8%

Referência: Kaufmann, W. et al. (2004). Developmental neurotoxicity study in Wistar rats oral administration to the dams and pups (gavage). Dossiê de registro submetido à ANVISA.

* Em função do estudo anterior (*Estudo 2*) ter sido cancelamento o presente estudo foi conduzido com apenas uma única dose (0,2 mg/kg/p.c.)

** Com prenhez presumida.

A avaliação realizada no 21º dia após o parto revelou que as fêmeas e os filhotes tratados com 0,2 mg/kg/p.c. exibiram redução na atividade da colinesterase plasmática,

eritrocitária e cerebral, essa diminuição foi de cerca de 13 a 21% no caso das fêmeas e entre 40 a 55% no caso dos filhotes.

Não foi possível estabelecer o NOAEL para o estudo, nem mesmo qualquer relação dose-resposta, uma vez que apenas a dose de 0,2 mg/kg/p.c. foi administrada nos animais experimentais.

Estudo 4

Ano: 2004

Espécie: Rato (Wistar)

Nº de animais: 10 animais jovens^{**}/sexo e 20 adultos^{***} jovens /sexo

Doses^{*}: 0,03; 0,1; ou 0,2 mg/kg p.c./dia

Via: Oral (gavage)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 91,8%

Referência: Schneider, S. et al. (2004). Study of the effects on cholinesterase levels in juvenile and young adult Wistar rats (age sensitivity) oral administration (gavage).

Dossiê de registro submetido à ANVISA.

* Foi administrado o volume padrão de 5mL/kg de p.c.

** A substância teste foi administrada no 11º e 21º dia após o parto

*** A substância teste foi administrada do 60º ao 70º dia após o parto

Filhotes (machos) tratados com a menor dose no 11º dia após o parto exibiram diminuição da atividade da colinesterase plasmática (-3%), eritrocitária (-15%) e cerebral (-3%). Na avaliação realizada no 21º dia de tratamento nos filhotes expostos a 0,03 mg/kg/p.c./dia foi observado que as fêmeas apresentaram redução de 7% e 8%, respectivamente, na atividade da colinesterase plasmática e cerebral, já os filhotes machos exibiram decréscimo de 7% na atividade da colinesterase cerebral. Quanto ao 60º dia na qual os adultos “jovens” foram tratados com 0,03 mg/kg/p.c./dia substância teste, o machos exibiram redução de 16% e 5%, respectivamente, na atividade da colinesterase cerebral e plasmática; em relação às fêmeas, a análise mostrou redução de 27% e 7%, respectivamente, na atividade da colinesterase cerebral e plasmática. Após 11 dias de tratamento (70º dia após o parto) com a menor dose, os machos apresentaram aumento de 26% na atividade da colinesterase cerebral e as fêmeas exibiram aumento de 23% na atividade da colinesterase eritrocitária e diminuição de 17% na atividade da colinesterase cerebral.

No 11º dia após o parto, os filhotes machos tratados com dose única de 0,1 mg/kg/p.c./dia da substância teste, apresentaram decréscimo de 6 e 10%, respectivamente, na atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária; quanto às fêmeas, houve aumento de 17% na atividade da colinesterase cerebral. No 21º dia após o parto a administração de apenas uma dose de 0,1 mg/kg/p.c./dia da substância teste em filhotes fêmeas provocou redução de 9 e 13%, respectivamente, na atividade da colinesterase plasmática e cerebral. Durante o 60º dia após o parto, as fêmeas expostas a 0,1 mg/kg/p.c./dia de forato apresentaram diminuição de 11 e 26%, respectivamente, na atividade da colinesterase plasmática e cerebral. Após 11 dias de tratamento (70º dia após o parto) com 0,1 mg/kg/p.c./dia da substância teste, os machos exibiram aumento de 16% na atividade da colinesterase cerebral e as fêmeas apresentaram redução de 12% tanto na atividade da colinesterase cerebral como na plasmática.

Inibição estatisticamente significativa na atividade da colinesterase plasmática, eritrocitária e cerebral foi observada nos filhotes (machos) expostos a dose única de 0,2 mg/kg/p.c./dia da substância teste no dia 11º após o parto, a diminuição foi de 22, 20 e 18%, respectivamente, na atividade da colinesterase plasmática, eritrocitária e cerebral. Quanto às fêmeas, houve redução de 17, 10 e 1%, respectivamente, das enzimas em questão. No 21º dia após o parto, administração de apenas uma dose de 0,2 mg/kg/p.c./dia da substância teste, em filhotes fêmeas, provocou redução de 14 e 9% respectivamente, na atividade da colinesterase plasmática e cerebral; quanto aos filhotes machos tratados nessas mesmas condições, houve redução de 6, 16 e 6%, respectivamente, na atividade das colinesterases plasmática, cerebral e eritrocitária. Durante o 60º dia após o parto, os machos expostos a maior dose exibiram diminuição de 17% na atividade da colinesterase cerebral, ao passo que as fêmeas mostraram decréscimo de 15 e 34%, respectivamente, na atividade da colinesterase plasmática e cerebral. Após 11 dias de tratamento (70º dia após o parto) com 0,2 mg/kg/p.c./dia da substância teste, os machos apresentaram aumento de 9% na atividade da colinesterase cerebral e as fêmeas exibiram redução de 41 e 15%, respectivamente, na atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária..

Baseado nas alterações descritas, não foi possível estabelecer um NOAEL para o estudo.

Estudo 5

Ano: 2004

Espécie: Rato (Wistar)

Nº de animais: 25 animais juvenis^{**}/sexo e 25 adultos/sexo

Doses: 0,2 mg/kg p.c./dia

Via: Oral (gavage)

Concentração do ingrediente ativo (pureza): 91,8%

Referência: Schneider, S. et al. (2004). Study of the effects on cholinesterase activities in juvenile and adult Wistar rats after single administration (“time-to-peak” study) oral administration (gavage). Dossiê de registro submetido à ANVISA.

* Foi administrado o volume padrão de 5mL/kg de p.c.

** Aos 22 dias após o nascimento

O objetivo do estudo foi avaliar a atividade da colinesterase plasmática, eritrocitária e cerebral após 30 minutos, 1, 2, 4 e 8 horas da administração de 0,2 mg/kg/p.c./dia de forato a ratos juvenis e adultos. As tabelas a seguir mostram o comportamento dessa enzima nos animais expostos à substância teste.

Tabela 5 – Avaliação da atividade da enzima colinesterase (plasmática, eritrocitária e cerebral) após a administração de apenas uma dose (0,2 mg/kg p.c./dia) do ingrediente ativo forato a machos adultos de ratos Wistar.

Tempo após a administração da substância teste		0,5 h	1 h	2 h	4 h	8 h
Colinesterase Plasmática	Controle	13,38	12,68	14,79	11,07	10,45
	Tratado	13,60 (+2%)	14,80 (+17%)	13,57 (-8%)	11,96 (+8%)	13,89 (+33%)
Colinesterase Eritrocitária	Controle	34,82	31,85	27,70	27,94	29,32
	Tratado	28,98 (-17%)	32,03 (+1%)	32,08 (+16%)	28,33 (+1%)	26,05 (-11%)
Colinesterase Cerebral	Controle	1,80	2,61	3,15	1,97	2,61
	Tratado	2,43 (+35%)	2,87 (+10%)	2,07 (-34%)	2,12 (+8%)	2,32 (-11%)

Tabela 6 – Avaliação da atividade da enzima colinesterase (plasmática, eritrocitária e cerebral) após a administração de apenas uma dose (0,2 mg/kg p.c./dia) do ingrediente ativo forato a fêmeas adultas de ratos Wistar.

Tempo após a administração da substância teste		0,5 h	1 h	2 h	4 h	8 h
Colinesterase Plasmática	Controle	69,39	57,72	54,49	52,52	51,47
	Tratado	54,25	55,27	59,43	51,91	48,26

		(-22%)	(-4%)	(+9%)	(-1%)	(-6%)
Colinesterase Eritrocitária	Controle	34,71	31,50	29,12	26,49	31,00
	Tratado	36,64 (+6%)	32,59 (+3%)	32,26 (+11%)	30,60 (+16%)	27,80 (-10%)
Colinesterase Cerebral	Controle	2,69	3,16	1,77	2,69	2,71
	Tratado	2,46 (-8%)	3,31 (+5%)	2,14 (+20%)	1,99 (-26%)	2,72 (0%)

Tabela 7 – Avaliação da atividade da enzima colinesterase (plasmática, eritrocitária e cerebral) após a administração de apenas uma dose (0,2 mg/kg p.c./dia) do ingrediente ativo forato a filhotes machos de ratos Wistar.

Tempo após a administração da substância teste		0,5 h	1 h	2 h	4 h	8 h
Colinesterase Plasmática	Controle	14,24	14,72	13,91	14,20	13,05
	Tratado	13,68 (-4%)	14,02 (-5%)	12,42 (-11%)	12,85 (-10%)	13,53 (+4%)
Colinesterase Eritrocitária	Controle	42,07	47,46	42,24	38,56	43,53
	Tratado	41,79 (-1%)	42,34 (-11%)	40,98 (-3%)	41,14 (+7%)	41,07 (-6%)
Colinesterase Cerebral	Controle	1,90	1,88	1,65	2,48	2,64
	Tratado	1,66 (-13%)	2,10 (+12%)	1,80 (+9%)	2,45 (-1%)	2,11 (-20%)

Tabela 8 – Avaliação da atividade da enzima colinesterase (plasmática, eritrocitária e cerebral) após a administração de apenas uma dose (0,2 mg/kg p.c./dia) do ingrediente ativo forato a filhotes fêmeas de ratos Wistar.

Tempo após a administração da substância teste		0,5 h	1 h	2 h	4 h	8 h
Colinesterase Plasmática	Controle	14,07	13,65	13,33	13,46	13,80
	Tratado	13,37 (-5%)	13,11 (-4%)	14,37 (+8%)	13,26 (-1%)	13,23 (-4%)
Colinesterase Eritrocitária	Controle	50,18	44,70	44,01	42,04	41,32
	Tratado	40,73 (-19%)	41,86 (-6%)	42,18 (-4%)	41,04 (-2%)	42,12 (+2%)
Colinesterase	Controle	1,82	1,83	1,76	2,22	2,98

Cerebral	Tratado	1,77 (-2%)	1,82 (-1%)	1,79 (+2%)	2,12 (-4%)	2,40 (-20%)
-----------------	----------------	---------------	---------------	---------------	---------------	----------------

Os resultados mostraram uma forte tendência à redução da atividade da colinesterase cerebral, em ambos os sexos, no intervalo de 8 horas após a exposição. A inibição da atividade da colinesterase eritrocitária foi mais pronunciada nos machos adultos e nos filhotes fêmeas 30 minutos após o tratamento com a substância teste. Quanto à colinesterase plasmática, a maior oscilação em comparação aos animais não tratados, ocorreu no grupo de fêmeas adultas, o grupo em questão exibiu decréscimo de 20% na atividade da referida enzima 30 minutos após receber o ingrediente ativo forato.

Não foi possível estabelecer o NOAEL para o estudo, nem mesmo qualquer relação dose-resposta, uma vez que apenas a dose de 0,2 mg/kg/p.c. foi administrada nos animais experimentais.

4.8. Nefrotoxicidade

A integridade do sistema renal é fundamental para a manutenção da homeostase. Nos mamíferos, os rins são os principais responsáveis pela excreção, regulação do volume extracelular, composição eletrolítica e equilíbrio ácido-base. Além disso, alguns hormônios são sintetizados e liberados pelos rins, como a renina e a eritropoietina (GUYTON; HALL, 1996; SCHNELLMANN, 2001).

Efeitos tóxicos no sistema renal podem desregular uma ou mais dessas funções prejudicando o metabolismo do organismo. Apesar dos rins possuírem mecanismos compensatórios e capacidade regenerativa, em alguns casos os efeitos tóxicos não são revertidos, causando danos permanentes. O tratamento dos efeitos tóxicos no sistema renal pode envolver diálise ou transplante de rins (SCHNELLMANN, 2001).

Embora existam poucos estudos de toxicidade que avaliem o potencial nefrotóxico de uma substância, o forato provocou alguns efeitos em animais de laboratório.

Camundongos suíços albinos adultos foram expostos ao forato na mesma dose recomendada pelos fabricantes para aplicação no campo (20 kg/hectare). A exposição ocorreu por 3 horas e meia, seis dias por semana, durante 3 meses (MOROWATI, 2001) em uma câmara de inalação de 21 litros de capacidade. A cada duas semanas amostras de sangue foram coletadas e amostras de tecido para análises bioquímicas e

histopatológicas. A partir da quarta semana de exposição foi observado um aumento de creatinina sérica. Esses níveis permaneceram elevados até o fim do tratamento (12^a semana). Trinta dias após o fim do tratamento, os níveis voltaram ao normal (MOROWATI, 2001). A partir da segunda semana foram encontradas degenerações disseminadas nos túbulos corticais, assim como eritrócitos e macrófagos nos espaços intersticiais do córtex e da medula. Os túbulos apresentaram alterações no formato normal. Os autores sugeriram que as doses recomendadas para utilização nas lavouras podem causar danos renais nos trabalhadores expostos. Apesar dos efeitos terem sido revertidos trinta dias após o fim do tratamento, períodos mais longos de exposição e doses mais elevadas podem desencadear danos permanentes (MOROWATI, 2001).

4.9. Toxicidade sobre o sistema respiratório

A exposição a substâncias químicas por via inalatória pode ter dois tipos de efeito: nos tecidos pulmonares ou em órgãos mais distantes. Dessa maneira, toxicidade do sistema respiratório refere-se a alterações no trato respiratório produzidas por substâncias químicas (WITSCHI; JEROLD, 2001).

Diversas doenças pulmonares já foram associadas à exposição a substâncias químicas como silicose, asbestose e câncer de pulmão (HAMILTON; THAKUR; HOLIAN, 2008; MADL et al, 2007; SMITH, 1997; KAMP, 2009). Agrotóxicos organofosforados também já foram associados a alterações respiratórias em seres humanos (FIETERN et al, 2009; HERNANDEZ et al, 2004; BOERS et al, 2008; HERNANDEZ et al, 2008; HERNANDEZ et al, 2006; HOPPIN et al, 2002, HOPPINE et al, 2007; HOPPIN et al, 2008). Alterações nas funções cardíacas, provenientes ou não de disfunções respiratórias também já foram observadas após a exposição a organofosforados (ANAND et al 2009; KARKI, et al, 2004; SAADEH; FARSAKH; AL-ALI, 1997).

Camundongos suíços albinos adultos foram expostos ao forato na mesma dose recomendada pelos fabricantes para aplicação no campo (20 kg/hectare). A exposição ocorreu por 3 horas e meia, seis dias por semana, durante 3 meses (MOROWATI, 1998) em uma câmara de inalação de 21 litros de capacidade. A cada duas semanas amostras de sangue e pulmões foram coletados para análise. A partir da segunda semana de exposição os alvéolos apresentaram congestão por exsudatos de fibrina, monócitos, polimorfos e linfócitos, os bronquíolos apresentaram alterações celulares. O quadro mostrava-se de broncopneumonia devido a lesões causadas por irritação. Na quarta

semana os pulmões apresentaram agressões focais de células inflamatórias, causando a congestão de sacos alveolares e alvéolos. Na sexta semana foi observado enfisema proeminente e descamação bronquial. O quadro geral era de broncopneumonia e enfisema. Os sintomas permaneceram os mesmos até a décima segunda semana onde o quadro geral era de broncopneumonia, enfisema e colapso. Trinta dias após o fim do tratamento, as alterações enfisematosas pulmonares ainda estavam presentes (MOROWATI, 1998). Os efeitos pulmonares provocados pelo forato no sistema respiratório podem causar aumento da resistência vascular e hipertensão pulmonar. Esses eventos provocam sobrecarga no coração direito e, frequentemente, ataque cardíaco (MOROWATI, 1998). Os autores concluíram que indivíduos expostos ao forato apresentam elevado risco de danos respiratórios, mesmo depois de cessada a exposição.

Esses achados em animais de laboratório são corroborados por estudos epidemiológicos que descreveram que dificuldade respiratória em aplicadores de agrotóxicos está associada positivamente ao forato (HOPPIN et al, 2006). Em outro estudo, foram estudados pacientes com necessidade de ventilação respiratória assistida após exposição ao forato (SINGH ET AL, 2001). No estudo de Kashyap e colaboradores, foram avaliados indivíduos expostos por duas semanas ao forato. Em 60% dos trabalhadores foram observados diversos sintomas de toxicidade, como gastrointestinais, diminuição da frequência cardíaca e sintomas neurológicos, sendo os dois primeiros, os efeitos mais proeminentes (KASHYAP ET AL, 1984).

6. Aspectos regulatórios – a situação internacional do registro do forato

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

País	Status Regulatório
Austrália	Prioridade 2 para ser reavaliado, devido a preocupações quanto aos danos à saúde humana
Canadá	No processo de <i>phase out</i> para batata: 2011-2012
Estados Unidos	Medidas mitigatórias tais como uso em sistemas fechados, proibição de aplicação aérea, restrição de culturas autorizadas e regiões, definição de uma única aplicação por safra, entre outras medidas restritivas
Outros	Fora do Anexo I da Diretiva 91/414/EEC da União Européia.

7. Conclusões e recomendações

Os efeitos decorrentes das mudanças globais na produção agrícola e pecuária têm imposto um modelo produtivo cada vez mais dependente dos agrotóxicos que traz para a saúde pública enormes desafios que não podem ser enfrentados apenas por ações restritas ao campo da assistência médico-hospitalar às pessoas intoxicadas por exposições agudas e ou crônicas. Cabe uma ação integrada de proteção da saúde para uma efetiva promoção, proteção da saúde e de prevenção das situações de riscos nos processos produtivos e de consumo de alimentos.

Pela Lei brasileira 7.802/89 um agrotóxico pode ter seu registro banido quando da ausência de métodos para desativação do produto, na ausência de antídoto ou tratamento eficaz, quando provoca distúrbios hormonais ou danos ao aparelho reprodutor, quando são teratogênicos, carcinogênicos ou mutagênicos. Além disso, também quando se apresenta mais perigoso para o homem do que em animais.

Os metabólitos foratoxon, foratoxon sulfóxido e foratoxon sulfona são 100 a 1000 vezes mais potentes como inibidores da acetilcolinesterase.

O forato foi demonstrado ser extremamente tóxico, provocando letalidade em doses baixas, por diferentes vias de exposição.

O forato possui vários efeitos adversos para a saúde humana como associação com diabetes mellitus na gravidez, nefrotoxicidade, toxicidade reprodutiva, toxicidade para o sistema respiratório e neurotoxicidade.

Diversos estudos demonstram que trabalhadores agrícolas expostos ao forato são vítimas de intoxicações e óbitos relacionados às características de toxicidade desse princípio ativo. A exposição torna-se ainda mais perigosa devido às dificuldades relacionadas com a indisponibilidade e/ou ineficiência dos EPI. Além disso, disto, diversas questões de ordem social (baixa escolaridade, baixa renda) e biológica (idade e gênero) são fatores que aumentam a vulnerabilidade e a gravidade das intoxicações por esse organofosforado.

Os estudos experimentais e epidemiológicos envolvendo o trato respiratório demonstram que o forato possui elevada toxicidade para esse sistema. Os estudos experimentais, realizados com doses semelhantes à exposição humana ocupacional, corroboram para a plausibilidade biológica dos achados. Enfisema, broncopneumonia, alterações inflamatórias e dificuldade respiratória foram os principais efeitos encontrados, sendo que alguns se mostraram irreversíveis pelo período de tempo de observação mesmo depois de cessada a exposição. É sabido que esses efeitos podem

causar aumento da resistência vascular pulmonar, sobrecarregar o coração direito e até causar insuficiência cardíaca. Tais efeitos podem não só diminuir a eficiência no trabalho, mas também prejudicar irremediavelmente a qualidade de vida de indivíduos expostos e levar a morte.

A neurotoxicidade do forato também já foi demonstrada em estudos epidemiológicos. Manifestações neurotóxicas tais como vômito, tontura, dor abdominal, taquicardia, salivação excessiva, miose e hipotensão foram observadas em casos de intoxicação intencional, ocupacional, e acidental por exposição ao forato. Sintomas mais graves como convulsões, espasmos, tremores, perda de coordenação muscular, aumento do tônus muscular dos membros, dificuldade respiratória, edema cerebral, perda de consciência e coma profundo também foram descritos. Achados em alguns pacientes foram consistentes com morte cerebral, incluindo ausência de reflexos corneanos, oculoencefálicos, pupilares e musculares, ausência de reações a estímulos de dor ou calor e ausência de respiração espontânea, com supressão global da atividade cortical. Alguns casos de intoxicação evoluíram para o óbito.

O forato pode provocar complexas manifestações clínicas neurológicas como encefalopatia, síndrome intermediária e polineuropatia retardada em humanos. No entanto, não foram descritos, em animais de laboratório, casos de síndrome intermediária ou polineuropatia tardia, caracterizando-o como mais tóxico para seres humanos do que os testes em animais tenham podido demonstrar.

Embora alguns órgãos internacionais como EPA e IPCS ainda classifiquem o forato como não carcinogênico e não mutagênico, há evidências relatadas em estudos publicados na literatura científica que apontam efeitos clastogênicos e mais recentemente demonstrando que o forato é potencialmente promotor de câncer para indivíduos expostos com histórico familiar positivo para o câncer de próstata.

Por último, cumpre ressaltar a recomendação da OMS para proibição de produtos extremamente tóxicos, com vista a redução de perigos à população exposta a este produtos. (OPAS/OMS, 1996).

Considerando todos os efeitos toxicológicos associados ao ingrediente ativo Forato e a sua inclusão dentre as características proibitivas de registro, especialmente a de “possuir características mais tóxicas para o ser humano do que testes com animais tenham podido demonstrar”, o mesmo deve ter seu uso proibido no Brasil, de maneira a proteger a saúde dos trabalhadores expostos, dos consumidores e da população em geral.

8. Referências bibliográficas

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

ABDOLLAHI, M; DONYAVI, M.; POURNOURMOHAMMADI, S.; SAADAT, M. Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rats following subchronic exposure to malathion. **Comp Biochem Physiol Toxicol Pharmacol** , v. 137, p. 343–347, 2004.

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.

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

AGNIHOTRI, V.P.; SINHA, A.P.; SING, K. Influence of insecticides on soil microorganisms and their biochemical activity. **Pesticides**, 15, 16-24, 1981.

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.

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

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

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

AMERICAN CYANAMID CO. (1965) Report on Thimet systemic insecticide: successive generation studies with mice. Unpublished report from Central Medical Department Cyanamid. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Wayne, NJ, USA.

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.

ANAND, S.; SINGH, S.; NAHAR; SAIKIA, U; BHALLA, A; PAUL; SHARMA, Y; SINGH, D. Cardiac abnormalities in acute organophosphate poisoning. **Clin Toxicol (Phila)**, v. 47, n. 3, p. 230-235, 2009.

ANDERSEN H. R.; NIELSEN, J. B.; GRANDJEAN, P. Toxicologic evidence of developmental neurotoxicity of environmental chemicals. **Toxicology**, v. 144, p. 121-127, 2000.

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

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

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

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

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

BANO, N.; MUSARRAT, J. Isolation and characterization of phorate degrading soil bacteria of environmental and agronomic significance. *Lett Appl Microbiol*, Vol. 36: 349-352, 2003.

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

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

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

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

BHARGAVA, P.; KULDEEP, C. M.; SARASWAT, J. Allergic reaction to phorate : an organophosphorus compound. **Indian J Dermatol Venereol Leprol**, v, 64, p. 43, 1998. Disponível em: <<http://www.ijdvl.com/text.asp?1998/64/1/43/4643>>. Acesso em: 18 jun. 2009.

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.

BOSHOFF, P. R.; PRETORIUS, V. Determination of phorate and its metabolites by mixed-phase gas chromatography. **J. Agric. Food Chem.**, v. 27, n. 3, p. 626-630, 1979.

BRASIL. ANVISA. Sistema de Informações Sobre Agrotóxicos. Disponível em: http://www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_ingrediente.asp?iVarAux=1&Co_dIng=316. Acessado em: 01/08/2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Edição Número 94 de 19/05/2003. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. RESOLUÇÃO N o 334, DE 3 DE ABRIL DE 2003. Dispõe sobre os procedimentos de licenciamento ambiental de estabelecimentos destinados ao recebimento de embalagens vazias de agrotóxicos. Disponível em: http://www.esa.ensino.eb.br/meioambiente/arquivos/embalagem_vazia_agrotoxico_n334.pdf. Acesso em 4 de agosto de 2009.

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

BRASIL. FIOCRUZ. SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TÓXICO FARMACOLÓGICAS. SINITOX. Disponível em http://www.fiocruz.br/sinitox_novo/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=349. Acesso em 23/11/2009

BROKOPP, C. D.; WYATT, J. L.; GABICA, J. Dialkyl phosphates in urine samples from pesticide formulators exposed to disulfoton and phorate. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 26, p. 524, 1981.

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.

CANADÁ. Health Canada. **Environmental & Workplace Health - Phorate**. 1986 (modificado em 1990). Disponível em: <<http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/phorate/index-eng.php>>. Acesso em 19 jun 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.

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

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

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.

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

DAS, B.; JENA, R. K. Encephalopathy, intermediate syndrome and delayed polyneuropathy in acute black danadar (Phorate 10 CG) poisoning. **JAPI**, v. 48, n.5, p. 540-541, 2000.

DAS, A.C.; MUKHERJEE, D. Insecticidal effects on soil microorganisms and their biochemical processes related to soil fertility.

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.

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

DOBOZY, V. Phorate - Review of pesticide poisoning incident data. 29 jul. 1998. Memorandum. 07 p. Disponível em: <<http://www.epa.gov/pesticides/foia/reviews/057201/057201-031.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2009.

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. (ed.). **Casarett and Doll's toxicology: the basic science of poisons**. New York: 2001. p. 769-84.

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

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

EPA (U.S. Environmental Protection Agency). **Office of Pesticides and toxic substances**. 1981. Disponível em <<http://www.epa.gov/pesticides/foia/reviews/057201/057201-009.pdf>> acesso em 20 jul. 2009.

EPA (U.S. Environmental Protection Agency). **Human health risk assessment Phorate**. 1999. Disponível em

<<http://www.epa.gov/pesticides/foia/reviews/057201/057201-034.pdf>> acesso em 20 jul. 2009.

EPA (U.S. Environmental Protection Agency). **Human exposure and atmospheric sciences division publications: 2002**. 2002. Disponível em

<http://cfpub.epa.gov/ordpubs/nerlpubs/nerlpubs_head_2002.cfm?ActType=Publications&detype=document&excCol=General> acesso em 20 jul. 2009.

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.

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

EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK (EXTOXNET). Pesticide Management Program, Cornell University, EUA, Phorate. **Pesticide Information Profiles**, revisado em jun. 1996. Disponível em: <<http://extoxnet.orst.edu/pips/phorate.htm>>. Acesso em: 18 jun 2009.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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.

FIETEN, K.B.; KROMHOUT, H.; HEEDERIK, D.; VAN WENDEL, D.E.; JOODE, B. Pesticide exposure and respiratory health of indigenous women in Costa Rica. **Am J Epidemiol**, v. 169, n. 12, p. 1500-1506, 2009.

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

FORD, E.S. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome. A summary of the evidence. **Diabetes Care**, v. 28, p. 1769-1778, 2005.

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

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

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.

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

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

GRANDJEAN, P.; LANDRIGAN, P. J. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. **Lancet**, v. 368, p. 2167-2178, 2006. **Disponível em:** <>. Acesso em: 12 jun 2009.

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.

GROVER, I. S., MALHI, P. K. Genotoxic effects of some organophosphorous pesticides. I. Induction of micronuclei in bone marrow cells in rat. **Mutat Res**, v. 155, n. 3, p. 131-4. mar. 1985.

HAIJAR, N. P.; HODGSON, E. Flavin adenine dinucleotide--dependent monooxygenase: its role in the sulfoxidation of pesticides in mammals. **Science**, Washington, v. 209, n. 4461, p.1134-6, 05 Sep. 1980.

HAIJAR, N. P.; HODGSON, E. Sulfoxidation of thioether-containing pesticides by the flavin-adenine dinucleotide- dependent monooxygenase of pig liver microsomes. **Biochemical pharmacology**, Oxford, v. 315, p. 745-52, 01 Mar. 1982.

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.

HARRISON. *Principios de Medicina Interna*. - 17ª Ed. Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, and Joseph Loscalzo, Eds. - Parte 15. Endocrinología y metabolismo. Sección 1. Endocrinología. 2009.

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

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

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

HEALTH COUNCIL OF THE NETHERLANDS: Committee on Updating of Occupational Exposure Limits. **Phorate; Health-based Reassessment of Administrative Occupational Exposure Limits**. The Hague: Health Council of the Netherlands, 2003; 2000/15OSH/075.

HENDERSON, M.C.; KRUEGER, S.K.; SIDDENS, L.K.; STEVENS, J.F.; WILLIAMS, D.E. S-Oxygenation of thioether organoprophosphate insecticides prolate and disulfoton by human lung flavin-containing monooxygenase 2. *Biochem Pharmacol*. V. 68, 959-967, 2004.

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

HERNANDEZ, A.; GOMEZ, M.A.; PENA, G.; GIL, F.; RODRIGO, L.; VILLANUEVA, E.; PLA, A. Effect of long-term exposure to pesticides on plasma esterases from plastic greenhouse workers, **J. Toxicol. Environ. Health A**, v. 67 pp. 1095-1108., 2004.

HERNANDEZ, A.F.; CASADO, I.; PENA, G.; GIL, F.; VILLANUEVA, E.; PLA, A. Low level of exposure to pesticides leads to lung dysfunction in occupationally exposed subjects, **Inhal. Toxicol**.v. 20, pp. 839-849, 2008.

HODGSON, E. Production of pesticide metabolites by oxidative reactions. **Journal of toxicology - Clinical toxicology**, New York, v. 19, n. 6-7, p. 609-21, 1982.

HODGSON, E.; LEVI, P. E. The role of the flavin-containing monooxygenase (EC 1.14.13.8) in the metabolism and mode of action of agricultural chemicals. **Xenobiotica**, London, v. 22, n. 9-10, p. 1175-83, 1992.

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

HONG, F.; PEHKONEN, S. O.; BROOKS, E. Pathways for the hydrolysis of phorate: product studies by (31)P NMR and GC-MS. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 7, p. 3013-7, 2000.

HOPPIN, J.A.; UMBACH, D.M.; LONDON, S.J.; LYNCH, C.F.; ALAVANJA, M.C.; SANDLER, D.P. Pesticides and adult respiratory outcomes in the agricultural health study. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1076, p. 343-354, 2006.

HOPPIN, J.A.; UMBACH, D.M.; LONDON, S.J.; ALAVANJA, M.C.; SANDLER, D.P. Chemical predictors of wheeze among farmer pesticide applicators in the Agricultural Health Study, **Am. J. Respir. Crit. Care Med**, v. 165, pp. 683–689, 2002.

HOPPIN, J.A.; UMBACH, D.M.; LONDON, S.J.; HENNEBERGER, P.K.; KULLMAN, G.J.; ALAVANJA, M.C.; SANDLER, D.P. Pesticides and atopic and nonatopic asthma among farm women in the Agricultural Health Study, **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 177, pp. 11–18, 2008.

HOPPIN, J.A.; VALCIN, M.; HENNEBERGER, P.K.; KULLMAN, G.J.; UMBACH, D.M.; LONDON, S.J.; ALAVANJA, M.C.; SANDLER, D.P. Pesticide use and chronic bronchitis among farmers in the Agricultural Health Study, **Am. J. Ind. Med.**, v. 50, pp. 969–979, 2007.

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

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

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

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

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Phorate. In: (Pesticide residues in food: 1994 evaluations Part II Toxicology)**. 1994. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v94pr08.htm>>. Acesso em: 18 jun. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Phorate. In: (Pesticide residues in food: 1996 evaluations Part II Toxicological)**. 1996. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v96pr10.htm>>. Acesso em: 18 jun. 2009.

IVETT, J.L. & MYHR, B.C. (1986) Chromosomal aberrations in vivo in mammalian bone marrow cells on AC 35,024. Second amended report, Project ID No. 8049, 10947-001. Unpublished report dated 9 January 1986 from Litton Bionetics, Kensington, MD, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA. *Apud* IPCS (1994)

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.

JAYAKUMAR, U. Children in Kerala poisoned by banana pesticide. **Pesticides News**, n. 57, 2002, p. 19. Disponível em: <<http://www.pan-uk.org/pestnews/Issue/pn57/pn57p19b.htm>>. Acesso em 18 jun. 2009.

JAYAWARDANE, P.; DAWSON, A. H.; WEERASINGHE, V.; KARALLIEDDE1, 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/FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES (JMPR). Phorate. In: WORLD HEALTH ORGANIZATION/INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (WHO/IPCS). **Pesticide residues in food – 2004: Evaluations: Part II – Toxicological**. Rome, 2006. 461 p. ISBN 924166520-3.

JYOTHI, B; NARAYAN, G. Study of Serum Cholinesterase levels in fish *Clarias batrachus* (Linn.) exposed to pesticides carbaryl and phorate. **J Environ Sci Eng**, v. 46, n. 4, p. 274-276, 2004.

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

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

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

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

KAMP, D.W. Asbestos-induced lung diseases: an update. **Transl Res**, v. 153, n. 4, p. 143-152, 2009.

KARKI, P; ANSARI, J.A.; BHANDARY, S; KOIRALA, S. Cardiac and electrocardiographical manifestations of acute organophosphate poisoning. **Singapore Med J**, v. 45, n. 8, p. 385-389, 2004.

KASHYAP, S. K.; JANI, J. P.; SAIYED, H. N.; GUPTA, S. K. Clinical effects and cholinesterase activity changes in workers exposed to phorate (Thimet). **J Environ Sci Health B**, v. 19, p. 479-489, 1984.

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.

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

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.

KUSIĆ, R.; JOVANOVIĆ, D.; RANDJELOVIĆ, S.; JOKSOVIĆ, D.; TODOROVIC, V.; BOSKOVIĆ, B.; JOKANOVIĆ, M.; VOJVODIĆ, V. HI-6 in man: efficacy of the oxime in poisoning by organophosphorus insecticides. **Hum Exp Toxicol**, v. 10, n. 2, p. 113-118, 1991.

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.

LASSITER, T.L.; BRIMIJOIN, S. Rats gain excess weight after developmental exposure to the organophosphorothionate pesticide, chlorpyrifos. **Neurotoxicol Teratol**, v. 30, p. 125–130, 2008.

LASSITER, T.L.; RYDE, I.T.; MACKILLOP, E.A.; BROWN, K.K.; LEVIN, E.D.; SEIDLER, F.J.; SLOTKIN, T.A. Exposure of neonatal rats to parathion elicits sex-selective reprogramming of metabolism and alters the response to a high-fat diet in adulthood. **Environ Health Perspect**, v. 116, n. 11, p. 1456-62, 2008.

LATOX. Laboratório de análises toxicológicas. Adriana N. Wolfferbüttel (Química Toxicologista). **Laudo de análise toxicológica N° 070103 V/08**, de 18 de agosto de 2008.

LEE, J.; HENG, D.; MA, S.; CHEW, S.K.; HUGHES, K.; TAI, E.S. The metabolic syndrome and mortality: the Singapore Cardiovascular Cohort Study. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 69, p. 225-230, 2008.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, v. 51, n. 2, p. 216-226, 2008.

LEVI, P. E.; HODGSON, E. Stereospecificity in the oxidation of phorate and phorate sulphoxide by purified FAD-containing mono-oxygenase and cytochrome P-450 isozymes. **Xenobiotica**, London, v. 18, n.1, p. 29-39, Jan.1988.

LITTON BIONETICS (1978) Teratology study in rats; Thimet^(R) phorate. Final unpublished report from Litton Bionetics, Inc. Unpublished report from Central Medical Department, American Cyanamid Co. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Wayne, NJ, USA.

LOCHRY, E.A. An oral developmental toxicity (embryo-fetal toxicity/teratogenicity) pilot study with AC 35,024 in rats. Final report, Project ID No. 101P-012. Unpublished report dated 19 June 1990 from Argus Research Laboratories Inc., Horsham, PA, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA, 1990a.

LOCHRY, E.A. An oral developmental toxicity (embryo-fetal toxicity/teratogenicity) definitive study with AC 35,024 in rats. Final report, Project ID No. 101-012. Unpublished report dated 23 October 1990 from Argus Research Laboratories Inc., Horsham, PA, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA, 1990b.

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.
- 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
- LUKIĆ ML; STOSIĆ-GRUJICIĆ S; SHAHIN A. Effector mechanisms in low-dose streptozotocin-induced diabetes. **Dev Immunol**, v. 6, n. (1-2), p. 119-128, 1998.
- MAHAJAN R, et al. Phorate exposure and incidence of cancer in the agricultural health study. **Environ Health Perspect**. v. 114, n. 8, p. 1205-9. ago. 2006
- MALHI, P. K., GROVER, I. S. Genotoxic effects of some organophosphorus pesticides. II. In vivo chromosomal aberration bioassay in bone marrow cells in rat. **Mutat Res**, v. 188, n. 1, p. 45-51. mai. 1987
- MARCHETTI, M. LUCHINI, L.C. Sorção/dessorção e mineralização do inseticida acefato em solo. **Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. Curitiba. v. 14.p. 61-72. 2004.
- MASHARANI, U; KARAM, J.H. Pancreatic hormones & Diabettes Mellitus. In: Basic & Clinical Endocrinology. McGraw Hill Companies. 2001.
- MATSUSHITA, T., MATSUI, Y., Mutagenicity of anaerobic fenitrothion metabolites after aerobic biodegradation. **Chemosphere**, Oxford, v. 61, p.1134-1141. 2005
- MATSUSHITA, T., MATSUI, Y. Estimating mutagenic coumpounds generated during photolysis of fenitrothion – by HPLC fraccionation followed by mutagenicity testing and high-resolution GC-MS analysis. **Chemosphere**, Oxford, v. 64, p.144-155. 2006
- 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.
- MEGGS WJ, BREWER KL. Weight gain associated with chronic exposure to chlorpyrifos in rats. **J Med Toxicol**, v. 3, n. 3, p. 89-93, 2007.
- MEYER, A.; SEIDLER, F.J.; SLOTKIN, T.A. Developmental effects of chlorpyrifos extend beyond neurotoxicity: critical periods for immediate and delayed-onset effects on cardiac and hepatic cell signaling. **Environ Health Perspect**, v. 112, p. 170–178, 2004.
- MISSION, K. V. Pesticide Spray Proves Disastrous In Salkiana Village, Jalandhar. 2006. Disponível em:
<http://www.worldproutassembly.org/archives/2006/08/pesticide_spray.html>. Acesso em 18 jun. 2009.
- 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.* 2002. 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.

MORETTO, Angelo. Experimental and clinical toxicology of anticholinesterase agents. **Toxicology Letters**. v.102-103, p. 509-513, 1998.

MOROWATI, M. Inhalation toxicity studies of Thimet (Phorate) in the male swiss albino mouse, *Mus musculus*: II. Lung histopathology, pseudocolinesterase and haematological studies. **Environmental pollution**, Barking, n. 103, p. 309-315, 1998.

MOROWATI, M. Biochemical and histopathological changes in serum creatinine and kidney induced by inhalation of Thimet (Phorate) in male swiss albino mouse, *Mus musculus*. **Environmental research, section A**, n. 87, p. 31-36, 2001.

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.

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.

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

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

NEWELL, G.W.; DILLEY, J.V. Teratology and acute toxicology of selected chemical pesticides administered by inhalation. US Environmental Protection Agency Report No. 600/1-78-003, January 1978. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Wayne, NJ, USA, 1978.

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

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

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE/ ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. OPAS/OMS. Representação do Brasil. Manual de vigilância da saúde de populações Expostas a agrotóxicos. Brasília, DF, 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.

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

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

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

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

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.

PETER, J. V.; PRABHAKAR, A. T.; PICHAMUTHU, K. Delayed-onset encefalopathy and coma in acute organophosphate poisoning in humans. **NeuroToxicology**, v. 29, p. 335-342, 2008a. Disponível em: <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/utils/fref.fcgi?PrId=3048&itool=AbstractPlus-def&uid=18304642&db=pubmed&url=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161-813X\(08\)00007-7](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/utils/fref.fcgi?PrId=3048&itool=AbstractPlus-def&uid=18304642&db=pubmed&url=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161-813X(08)00007-7)>. Acesso em: 18 jun. 2009.

PETER, J. V.; PRABHAKAR, A. T.; PICHAMUTHU, K. In-laws, insecticide - and a mimic of brain death. **The Lancet**, v.371, p. 622, 2008b. Disponível em: <<http://download.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140673608602731.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2009.

PHORATE. GUIDELINE. Published in 1990, http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/water-eau/phorate/phorate-eng.pdf

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

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

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

RANI, R.; LAL, R.; KANADE, G.S.; JUWARKAR, A. Isolation and characterization of phorate degrading bacterium. *Letters in Applied Microbiology*. Vol 49:112-116, 2009.

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.

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

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

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

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.

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

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

RODGERS, K. E.; IMAMURA, T.; DEVENS, B. H. Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate. In: *Characterization of immune cell population affected*.

Immunopharmacology, v. 10, p. 171-180, 1985c.

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

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.

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

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

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

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

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.

SAADEH, A.M.; FARSAKH, N.A.; AL-ALI, M.K. Cardiac manifestations of acute carbamate and organophosphate poisoning. *Heart*, v. 77, n. 5, p. 461-464, 1997.

SALDANA, T.M.; BASSO, O.; HOPPIN, J.A.; BAIRD, D.D.; KNOTT, C.; BLAIR, A.; ALAVANJA, M.C.R.; SANDLER, D.P. Pesticide Exposure and self-reported gestacional diabetes mellitus in the agricultural health study. **Diabetes Care** V.30, n. 3: 529-534, 2007.

SANTOS, S.S., SILVA. I.F., KOIFMAN, R.J., HATAGIMA, A., KOIFMAN, S. Exposição a substâncias químicas e câncer: aspectos epidemiológicos, genéticos e moleculares. **Cad. Saúde Colet.**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 4, p.: 613 - 658, 2000.

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

SCHROEDER, R.E.; DALY, I.W. A range-finding teratology study with phorate in rabbits. Final report, project No. 86-3038. Unpublished report dated 5 August 1986 from Bio/dynamics Inc., East Millstone, NJ, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA, 1986.

SCHROEDER, R.E.; DALY, I.W. A teratology study with phorate in rabbits. Final report, project No. 86-3039. Unpublished report, 1987.

SCHROEDER, R.E.; DALY, I.W. A two-generation (two litters) reproduction study with AC 35,024 to rats. Final report, Project ID No. 88-3350. Unpublished report dated 23 September 1991 from Bio/dynamics Inc., East Millstone, NJ, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA, 1991.

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

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

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

SHAFIK, T.; BRADWAY, D. E.; ENOS, H. F.; YOUS, A. R. Human exposure to organophosphorus pesticides. a modified procedure for the gas-liquid chromatographic analysis of alkyl phosphate metabolites in urine. **J. Agr. Food Chern.**, v. 21, n. 4, 1973.

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.

SIMON-SYLVESTRE G.; FOURNIER, JC. Effect of pesticides on soil microflora. *Adv. Agron.* 31:1-92.

SIMMON, V.F., MITCHELL, A.D. & JORGENSON, T.A. EVALUATION OF SELECTED (1977). Pesticides as chemical mutagens in in vitro and in vivo studies. Unpublished report from Stanford Research Institute, SRI report No. LSU-3493, for U.S. Environmental Protection Agency, EPA report No. EPA-600/1-77-028. Submitted to WHO by American Cyanamid Company). *Apud* IPCS 1994.

SINGH, S.; CHAUDHRY, D.; BEHERA, D.; GUPTA, D.; JINDAL, S.K. Aggressive atropinisation and continuous pralidoxime (2-PAM) infusion in patients with severe

organophosphate poisoning: experience of a northwest Indian hospital. **Hum Exp Toxicol**, v. 20, n. 1, p. 15-18, 2001.

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, 2003. Disponível em:** [http://www.fiocruz.br/sinitox/\[1997,1998,1999,2000,2001,2002,2003,2004,2005,2006,2007,\]/tab11_brasil.pdf](http://www.fiocruz.br/sinitox/[1997,1998,1999,2000,2001,2002,2003,2004,2005,2006,2007,]/tab11_brasil.pdf). Acesso em 8/6/2009.

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

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

SLOTKIN, T.A.; BROWN, K.K.; SEIDLER, F.J. Developmental exposure of rats to chlorpyrifos elicits sex-selective hyperlipidemia and hyperinsulinemia in adulthood. **Environ Health Perspect**, v. 113, p. 1291-1294, 2005.

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.

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.

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

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.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. **Physiol Res**, v. 50, n. 6, p. 537-546, 2001.

THANAL. Phorate poisoning in India. **Pesticides News**, n. 53, 2001, p. 5. Disponível em: <<http://www.pan-uk.org/pestnews/Issue/pn53/pn53p5.htm>>. Acesso em 18 jun. 2009.

THILAGAR, A. & KUMAROP, V. (1985) Test for chemical induction of gene mutation at the *hgrpt* locus in cultured Chinese hamster ovary (CHO) cells with and without metabolic activation. Final report, Study N° 980-85-133. Unpublished report dated 8 August 1985 from Sitek Research Laboratories, Rockville, MD, USA. Submitted to WHO by American Cyanamid Co., Princeton, NJ, USA. *Apud* IPCS (1994).

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

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (UNEP/FAO). **Listing of chemicals in Annex III of the Rotterdam Convention: Review of notifications of final regulatory actions to ban or severely restrict a chemical: Phorate**. Rotterdam Convention on the Prior Informed Consent Procedure for Certain Hazardous Chemicals and Pesticides in International Trade Chemical Review Committee. Rome, 23-27 mar. 2009. Disponível em: <[www.pic.int/INCS/CRC5/i9\)/English/K0842862%20CRC-5-9.pdf](http://www.pic.int/INCS/CRC5/i9)/English/K0842862%20CRC-5-9.pdf)>. Acesso em: 18 jun. 2009.

USHA, S.; HARIKRISHNAN, V. R. Documentation of Pesticide Poisoning in Kerala and its Implications on Health and Agriculture Planning and Policy. Kerala Research Programme on Local Level Development Centre for Development Studies Thiruvananthapuram. 2004.96p.

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

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.

VISALAKSHI, A; NAIR, M.R.G.K.; AIYER, R.S. Plant and Soil, 51:571-576, 1979.

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

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

WESSELING, C.; KEIFER, M.; AHLBOM, A.; MCCONNELL, R.; MOON, J.; ROSENSTOCK, L.; HOGSTEDT, C. Long-term neurobehavioral effects of mild poisonings with organophosphate and n-methyl carbamate pesticides among banana workers. **Int J Occup Environ Health**, v.8, p. 27-34, 2002.

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.

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.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (WHO/FAO) (EUA). **Phorate**. Data sheets on pesticides n. 75. 1988. Disponível em: <http://www.intox.org/databank/documents/chemical/phorate/pest75_e.htm>. Acesso em: 18 jun. 2009.

YOUNG, R. J.; JUNG, F. P.; AYER, H. E. Phorate intoxication at an insecticide formulating plant. **Am Ind Hyg Assoc J**, v. 40, n. 11, p. 1013-1016, 1979.

YOUNG, K.; HUNG, S.L.; WEN, W.; CHIH, M.M. Decomposition of phorate in aqueous solution by ozonation. *Journal of Environmental and Health Part*. Vol. 42: 143-149, 2007.

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.