



Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Gerência Geral de Toxicologia

NOTA TÉCNICA

REAVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO INGREDIENTE ATIVO TRICLORFOM

1.	APRESENTAÇÃO E MOTIVAÇÕES PARA REAVALIAÇÃO	2
2.	INTRODUÇÃO	3
2.1	IDENTIDADE QUÍMICA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	5
2.2	PRODUÇÃO E USO	6
2.3.	RELEVÂNCIA PARA A SAÚDE PÚBLICA	7
3.	TOXICOCINÉTICA.....	11
3.1	VIAS DE ABSORÇÃO.....	11
3.2	DISTRIBUIÇÃO	12
3.3	BIOTRANSFORMAÇÃO.....	13
3.4	EXCREÇÃO	14
4.	AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA.....	15
4.1	ASPECTOS GERAIS DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS EM SERES HUMANOS	15
4.2	TOXICIDADE SUBCRÔNICA.....	18
4.3	TOXICIDADE CRÔNICA	21
4.3.1	<i>Estudos de carcinogenicidade e genotoxicidade</i>	21
4.4	TOXICIDADE SOBRE O SISTEMA ENDÓCRINO, REPRODUTIVO E DESENVOLVIMENTO	24
4.4.1	<i>Toxicidade sobre o sistema endócrino</i>	24
4.4.2	<i>Efeitos adversos sobre o sistema reprodutivo</i>	26
4.5	NEUROTOXICIDADE.....	32
4.5.1	<i>Mecanismos de ação</i>	33
4.5.2	<i>Manifestações Clínicas</i>	35
4.5.3	<i>Neurotoxicidade aguda – Síndrome Colinérgica</i>	36
4.5.4	<i>Síndrome Intermediária</i>	42
4.5.5	<i>Polineuropatia retardada</i>	42
4.5.6	<i>Estudos experimentais de neurotoxicidade</i>	50
4.6	IMUNOTOXICIDADE.....	60
4.6.1	<i>Efeitos Imunotóxicos desencadeados pela exposição ao Triclorfom</i>	61
5.	ASPECTOS REGULATÓRIOS – A SITUAÇÃO INTERNACIONAL DO REGISTRO DO TRICLORFOM.....	62
6.	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	62
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

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

O controle da produção, da comercialização e do emprego de técnicas, métodos e substâncias que comportem risco para a vida, para a qualidade de vida e para meio ambiente, são incumbências de Estado, 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 alimentos oriundos de culturas tratadas e para a população em geral. Estes produtos necessitam de uma completa avaliação para obtenção de registro, a qual é procedida pelos Ministérios da Agricultura, da Saúde e do Meio Ambiente, cada um em suas respectivas atribuições.

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 e restrições de uso. Dessa forma os agrotóxicos, para a obtenção do registro, são avaliados quanto aos impactos à saúde humana, ao meio ambiente e à agropecuária e pesca.

A ANVISA é o órgão responsável no âmbito do Ministério da Saúde pela avaliação da toxicidade dos agrotóxicos e seus impactos à saúde humana, emitindo um parecer toxicológico no âmbito da saúde, considerando a potencial exposição individual e ou coletiva para a concessão ou manutenção do registro. Os estudos exigidos para efetuar a avaliação toxicológica dos agrotóxicos seguem parâmetros e metodologias adotadas internacionalmente especialmente pela ONU/OMS – Organização Mundial de Saúde, ONU/FAO – Food and Agriculture Organization, OECD – Organization for

Economic Co-operation and Development, USA/EPA – Environmental Protection Agency e a União Européia. Mas também as medidas adotadas por outros países mediante seus órgãos regulatórios.

No Brasil, uma vez concedido o registro para determinado agrotóxico, não há uma previsão de qualquer prazo para renovação ou revalidação do mesmo, tendo o mesmo validade *ad eternum*. Como o conhecimento técnico científico sobre os ingredientes ativos avança, especialmente sobre o surgimento de perigos, riscos e danos na saúde e no ambiente associados ao uso, a Lei nº 7.802/89 e o Decreto nº 4.074/02 prevêm a reavaliação toxicológica.

A reavaliação de agrotóxicos ocorre quando há evidências a serem consideradas de perigo ou risco à saúde humana e ao meio ambiente que não o foram durante a concessão de registro. Essas evidências podem ser constatadas mediante o avanço dos conhecimentos científicos, alertas em função de observações clínicas, anatomopatológicas, laboratoriais ou epidemiológicas em humanos ou por estudos que apontem novas situações não observadas ou não detectadas inicialmente nos estudos experimentais conduzidos em animais de laboratório, entre outras possibilidades.

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

2. Introdução

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

O triclorfom, assim como diversos outros compostos inseticidas, pertence ao grupo químico dos OP, que são inibidores da acetilcolinesterase (AChE) e provocam efeitos tóxicos sobre os diferentes sistemas dos seres vivos expostos (EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005).

Os primeiros compostos OP foram preparados por alquimistas na Idade Média, mas seu estudo sistemático teve início no século XIX, por Lassaigne em 1820, com a esterificação do ácido fosfórico. Vinte e cinco anos mais tarde, uma série de derivados de fosfinas foi preparada por Thénard e colaboradores e a partir destes trabalhos o

progresso da investigação dos compostos de fósforo foi acelerado (SANTOS et al, 2007).

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

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

A qualidade inseticida dos OP 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 OP foram introduzidos como biocidas na década de 1970, inicialmente apresentados como substitutivos dos organoclorados por serem menos persistentes, porém com alta toxicidade (WOODWELL et al., 1967; PEAKALL et al., 1975; MURPHY, 1986). Foi também a partir dessa época que aumentou de forma drástica o número de casos de intoxicação por OP, mesmo em baixas doses (ARAÚJO et al, 2007).

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

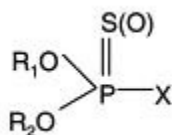


Figura 1: Estrutura química geral dos organofosforados (OP).

O átomo de fósforo da molécula do OP é polarizável e os radicais R1 e R2 são grupos aril ou alquil que se ligam diretamente ao átomo de fósforo, formando fosfinatos, ou através de um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfatos e

fosforotioatos (HOLLINGWORTH, 1976; CHAMBERS, CARR, 1995; COCKER et al, 2002).

O R1 pode estar diretamente ligado ao átomo de fósforo e o R2 pode estar ligado por um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfonatos ou tiofosfonatos. Ainda, os fosforamidatos apresentam no mínimo um grupo -NH₂ na molécula. Os grupos amino dos fosforamidatos podem ser: não-substituídos, mono ou di-substituídos. Os átomos que podem formar ligação dupla com o fósforo podem ser: oxigênio, enxofre, selênio, cloro, flúor e os cianofosforados, como, sarin, soman e tabun (HOLLINGWORTH, 1976; CHAMBERS, CARR, 1995; ECOBICHON, 1996).

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

Foi comprovado que a toxicidade elevada de diversos OP para a espécie humana 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 OP com o centro esterásico da enzima acetilcolinesterase (COCKER et al, 2002).

2.1 Identidade química e propriedades físico-químicas

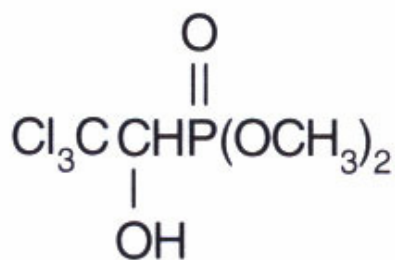
O triclorfom é um OP, classe II (altamente tóxico) com propriedades inseticida, acaricida e anti-helmíntico, empregado na agricultura, na veterinária, no domissanitário e em populações humanas (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2009; INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000).

Nome técnico ou comum: Triclorfom (trichlorfon)

Número CAS: 52-68-6

Nome químico: dimethyl 2,2,2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphonate

Fórmula estrutural:



Sinonímia: DEP; DETF; TCF

Densidade: 1,73

Pressão de vapor (20 °C): $7,8 \times 10^{-6}$ mmHg

Coefficiente de partição, log Pow: 5,75

Peso molecular: $257,4 \text{ g mol}^{-1}$

Ponto de fusão: 75-79 C; 83-84°C

Ponto de ebulição: 100 °C (0,1 mmHg)

Volatilidade: 0.11 mg/m^3 a 20°C

Solubilidade na água: 120,000 mg/L a 20 °C; 15,4 g/100 ml a 25°C

Grupo químico: Organofosforado

Classe: Inseticida

Classificação toxicológica: Classe II

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

Fonte: (ANVISA, 2007; INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1971)

2.2 Produção e uso

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

O Brasil está entre os países com maior consumo de agrotóxicos no mundo, sendo estimado em 2,5 a 3 milhões de toneladas por ano (MOREIRA et al, 2002). É o

maior consumidor da América Latina, com consumo estimado em 50% da quantidade comercializada nesta região (MMA, 2003). O triclorfom também é utilizado em medicina veterinária no controle de endo e ectoparasitas e na aquicultura no controle de lêndeas de salmão (FONNUM; LOCK, 2004).

O triclorfom vem sendo utilizado em aplicação foliar das seguintes culturas: abacate, abacaxi, abóbora, alface, alfafa, algodão, ameixa, amendoim, arroz, banana, berinjela, brócolis, cacau, café, caju, cana-de-açúcar, caqui, cenoura, chicória, citros, coco, couve, couve-flor, cravo, ervilha, feijão, figo, fruta-de-conde, girassol, goiaba, maçã, manga, marmelo, melancia, melão, milho, pastagens, pepino, pêra, pêssego, pimentão, repolho, rosa, seringueira, soja, tomate, trigo e uva (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2009).

2.3. Relevância para a saúde pública

A partir do uso disseminado dos OP, vários efeitos adversos foram descritos em populações humanas e em outras espécies animais (GALLOWAY; HANDY, 2003). Dentre os efeitos tóxicos associados aos OP estão 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 contribui 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, no Brasil. 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 OMS, 70% das intoxicações por agrotóxicos ocorridas no mundo são devido 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 MS e da ANVISA, (disponibilizado pela FIOCRUZ desde 1996 e uma das fontes de informação sobre notificação de casos de intoxicações por agentes químicos) os três principais agentes químicos responsáveis por intoxicações são agrotóxicos de uso agrícola, raticidas e medicamentos. O percentual de letalidade por agrotóxicos, no período de 1997 a 2001 foi em torno de 3% (SINITOX, 2003).

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

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

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

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

Os trabalhadores são um dos grupos populacionais mais afetados pelos agrotóxicos, e muito disso se deve ao contexto produtivo. 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.

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

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

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

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

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

No Rio Grande do Sul, um estudo de base populacional, descreveu o perfil sócio-demográfico e a prevalência de algumas morbidades. Entre os resultados obtidos destaca-se que 75% dos trabalhadores utilizavam agrotóxicos, a maioria OP (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 OP e carbamatos, corroborando outros estudos (SENANAYAKE; PEIRES, 1995; SAADEH et al, 1996; SOTH; HOSOKAWA, 2000; SOARES; ALMEIDA; MORO, 2003).

A literatura científica internacional tem registrado evidências de intoxicações por agrotóxicos em populações, que envolvem dois mecanismos principais: a exposição ocupacional direta e a exposição por proximidade da atividade ocupacional. Em revisão de literatura desenvolvida por Serman-Smith (2008) demonstrou que os estudos analisados registraram elevados níveis de concentração de OP em amostras que analisaram desde poeira e solo domiciliar, o que pode representar contaminação, pelas roupas ou sapatos, um importante vetor domiciliar.

Com semelhante preocupação, Simcox et al (1995) em estudo transversal para avaliar a exposição de crianças oriundas de famílias de agricultores, encontraram significância estatística para os altos níveis de concentração de OP na poeira domiciliar e solo de residências onde pelo menos um dos moradores era trabalhador rural, quando comparado com outros domicílios de controle, localizadas em área distante e cujos pais não eram envolvidos na atividade agrícola. Esse estudo, desenvolvido em área agrícola do Estado de Washington, contou com amostras coletadas do solo de área onde as crianças brincavam em 59 residências, sendo 26 de fazendeiros, 22 de trabalhadores rurais e 11 de famílias não rurais. Todos os compostos OP foram identificados em 62% das amostras e dois terços dos domicílios apresentaram um OP em nível superior a 1000ng/g. A concentração de compostos OP foi significativamente inferior nos

domicílios de referência. Esse estudo demonstra que crianças de famílias de agricultores apresentam alto potencial de exposição a OP, com elevado risco de provável intoxicação por esse composto.

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

Em estudo para avaliar a exposição ocupacional a agrotóxicos, seus riscos para a saúde e os mecanismos de regulação do Estado da Califórnia, Woodruff et al (1994) compararam a dose estimada de 41 compostos como indicadores de toxicidade aguda, pela DL_{50} e os efeitos crônicos, pela dose de referência. Os autores destacam que as doses estimadas de agrotóxicos absorvidos pelos trabalhadores representam significantes percentagens de medidas de toxicidade, especialmente para efeitos crônicos, que se apresentaram mais elevados do que os agudos. Essa questão se torna mais importante ao observar que esse grupo populacional geralmente apresenta dificuldades de acesso a recursos tecnológicos de controle e monitoramento de riscos e danos à saúde. Além disso, constata-se dificuldade em se estabelecer relação direta entre exposição e os efeitos crônicos, o que demanda o desenvolvimento de estudos epidemiológicos para analisar os efeitos crônicos decorrentes da exposição a agrotóxicos.

3. Toxicocinética

3.1 Vias de absorção

Os agrotóxicos inibidores da colinesterase são bem absorvidos por todas as vias de exposição em decorrência da alta lipossolubilidade desses compostos. Por serem de constituição lipoprotéica, as membranas biológicas são facilmente transpostas por

compostos lipossolúveis tais como os OP (RISHER; MINK; STARA, 1987; FERRER, 2003).

Nos mamíferos, o triclorfom é rapidamente absorvido, independente da via de exposição (oral, dérmica e inalatória) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1971; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1991; WORLD HEALTH ORGNIZATION, 1992; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

Diversos fatores podem interferir na absorção dos OP, 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 OP 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), atingindo o feto e produzindo efeitos como teratogênese e alterações no neurodesenvolvimento e na maturação comportamental (AHLBOM; FREDRIKSSON; ERIKSSON, 1995; ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999; COSTA, 2006).

Nos mamíferos, o triclorfom é rapidamente distribuído para os tecidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1971; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1991; WORLD HEALTH ORGNIZATION, 1992; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). As maiores concentrações de triclorfom são detectadas no fígado, rins e pulmões de mamíferos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996). A medula óssea é também um dos principais órgãos-alvo do triclorfom (EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996). O diclorvós, um produto de degradação do triclorfom, foi detectado no cérebro aproximadamente 15

minutos após uma injeção intraperitoneal de 125 mg/kg de triclorfom em camundongo (NORDGREN et al, 1978 apud WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

Em uma mulher de 70 anos de idade que morreu de envenenamento agudo em decorrência da ingestão de triclorfom, os níveis desse composto nos órgãos foram de 310 µg/g no sangue, 487 µg/g no fígado, 465 µg/g no cérebro, 416 µg/g nos rins e 2.249 µg/g na urina. Aproximadamente 7,2 g de triclorfom foram encontrados no conteúdo gástrico (YASHIKI; KOJIMA; UNE, 1982 apud WORLD HEALTH ORGNIZATION, 1992).

Pequenas quantidades de triclorfom podem permanecer no organismo por períodos prolongados, possivelmente armazenadas no tecido adiposo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1971).

O triclorfom também pode ser secretado no leite poucas horas após ser administrado a mamíferos, independente da via de exposição (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1971; JOINT MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 1978; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1993; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

3.3 Biotransformação

Os principais metabólitos do triclorfom são dimetil triclorfom, dimetil diclorvós, dimetil hidrogênio fosfato, metil hidrogênio fosfato e ácido fosfórico (HASSAN; ZAYED; HASHISH, 1965; BULL; RIDGWAY, 1969; MIYATA; SAITO, 1973 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1992).

As principais vias de degradação do triclorfom são demetilação, clivagem da ligação fósforo-carbono e hidrólise de éster (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1992).

Em condições fisiológicas o triclorfom sofre deidrocloração e forma diclorvós (LORENZ; HENGLEIN; SCHRADER, 1955; METCALF; FUKUTO; MARCH, 1959; NORDGREN et al, 1978; HOFER, 1981; NORDGREN, 1981; MIYAMOTO, 1959). A conversão do triclorfom em diclorvós pode ocorrer de maneira não enzimática segundo os estudos de Villén (1990) e Adbi e Villén (1991). A formação de diclorvós a partir de triclorfom foi demonstrada em estudos *in vivo* (METCALF et al, 1959; NORDGREN et al, 1978; DEDEK, 1981; ARTHUR; CASIDA, 1957; BULL; RIDGWAY, 1969; MIYATA & SAITO, 1973; OTTO et al, 1980 apud INTERNATIONAL

PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1992) e também foi comprovada em humanos (ADEN ABDI, 1990 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1992; NORDGREN, 1981).

Durante o seu metabolismo o triclorfom sofre conjugação com o ácido glucurônico como demonstrado em estudos com cães e coelhos (ARTHUR; CASIDA, 1957; MIYAMOTO, 1961 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1992).

Após a formação de diclorvós, este é metabolizado no fígado em desmetil diclorvós, através da ação da glutathione e do complexo enzimático do citocromo P450 (CYP). O desmetil diclorvós é transformado em dicloroacetaldeído por enzimas hepáticas e, posteriormente a ácido dicloroacético ou dicloroetanol pela enzima álcool desidrogenase (HODGSON; CASIDA, 1962). Sugere-se que a toxicidade do triclorfom deva-se ao metabólito dicloroacetaldeído (CASIDA et al, 1962). A biotransformação do diclorvós mediada por CYP, foi confirmada em estudos com ratos tratados com indutores de CYP (YAMANO; MORITA, 1992). Consequentemente, a exposição concomitante ao triclorfom e a outros indutores de CYP, como medicamentos, poluentes, cigarro e álcool, pode aumentar a toxicidade desse agrotóxico.

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

3.4 Excreção

O triclorfom é rapidamente excretado em mamíferos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1971; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1991; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). A principal via de eliminação do triclorfom e seus metabólitos é a urina. O triclorfom e seus produtos de degradação são eliminados em menor proporção através das fezes e do ar expirado (CO₂) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1971; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

Cerca de 80-90% do triclorfom é excretado durante as primeiras 24 horas após a exposição (WORLD HEALTH ORGNIZATION, 1992; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1997; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). Após administração oral em vacas, 66% da dose foi eliminada dentro de 12 horas (ROBBINS et al, 1956 apud WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1971). Um estudo demonstrou que após administração intraperitoneal em ratos, 71% da dose total foi eliminada na urina nas primeiras 16 horas (BULL; RIDGEWAY, 1969 apud WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1971). Arthur e Casida (1958) apud World Health Organization (1971) demonstraram que produtos de hidrólise representam a maioria dos compostos excretados na urina de ratos tratados com triclorfom.

4. Avaliação Toxicológica

4.1 Aspectos gerais das manifestações clínicas em seres humanos

Os distúrbios clínicos da exposição a múltiplos agrotóxicos podem se manifestar por uma grande variedade de sintomas e sinais que dificultam o diagnóstico, o tratamento e as medidas de prevenção. Para tanto são requeridas capacitação e atenção especial para conduzir o cuidado das pessoas em situação de risco de exposição aos agrotóxicos, sejam de forma involuntária (na atividade de trabalho, na vida cotidiana, na ingestão de alimentos ou água contaminada, por acidentes, poluição do ar) ou voluntária (tentativa de suicídio ou de homicídio). (KALOYANOVA-SIMEONOVA, 1977).

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).

4.2. Toxicidade aguda

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

Conforme Kamanyire e Karalliedde (2004), embora a inibição da AChE seja o principal mecanismo na toxicologia dos OP, a suscetibilidade individual, a inibição de outros sistemas enzimáticos e os efeitos diretos dos OP nos tecidos também são importantes. As consequências da inibição de outros sistemas enzimáticos por compostos OP 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 OP 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 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 OP 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, diarreia e defecação involuntária; no aparelho respiratório com rinorréia, hiperemia de vias aéreas superiores, broncoespasmo e aumento da secreção brônquica, edema pulmonar; no sistema circulatório com bradicardia, bloqueio aurículo-ventricular; no sistema ocular com lacrimejamento, dor ocular, congestão da conjuntiva, distúrbio de visão, espasmo ciliar, dor no supercílio e miose; no aparelho urinário com diurese frequente e involuntária; nas glândulas exócrinas com transpiração excessiva e 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, câimbras, contrações involuntárias, fasciculações disseminadas e paralisia muscular, incluindo dos músculos respiratórios, e hipertensão arterial transitória (ECOBICHON, 2001).

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

A maioria dos casos de intoxicação aguda em humanos decorrentes da intoxicação por triclorfom registrado na literatura está relacionada à ingestão desse composto, inclusive em casos em que esse OP foi administrado para o tratamento de esquistossomose. Jamnadas e Thomas (1979) registraram um desses casos em criança de oito anos de idade submetida a esse tipo de tratamento, seguido de intoxicação aguda.

Ferreira et al (2008), ao analisar os aspectos clínicos e epidemiológicos de intoxicações por OP e carbamatos na região noroeste do estado do Paraná, identificaram 171 casos de intoxicações por OP, dos quais se observou associação de OP em nove casos e o triclorfom foi responsável por três casos. Dentre os sujeitos intoxicados, a maioria dos casos foi de intoxicação ocupacional, entretanto dentre os casos acidentais a maioria correspondeu a crianças com idade de 1 a 14 anos, sendo que aquelas com 2 anos de idade corresponderam ao grupo mais acometido.

Embora não haja muitos estudos demonstrando associação do triclorfom com nefrotoxicidade, Wu e Deng (2009) relatam caso de hemólise aguda e comprometimento da função renal causados por exposição incidental ao triclorfom em um adulto de Taiwã (Coréia do Sul).

Yamashita et al (1997) avaliaram a mortalidade decorrente de intoxicações por OP entre 130 pacientes hospitalizados e observaram que o triclorfom foi responsável por 8 casos, sendo 3 mortes. Os autores apontaram que as mortes relacionaram-se, principalmente, a retardo na descoberta e transporte dos pacientes, o suporte respiratório inadequado e patologias associadas.

4.2 Toxicidade subcrônica

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

A síndrome intermediária tem sido descrita como uma complicação tardia de casos de intoxicação aguda. O sintoma principal é uma paralisia que afeta principalmente músculos flexores do pescoço, músculos proximais dos membros superiores ou inferiores e músculos respiratórios. Acontece também diarreia intensa, com perda severa de potássio, complicando ainda mais o quadro de intoxicação. Esta síndrome apresenta risco de morte, devido à depressão respiratória associada (JAYAWARDANE et al, 2008; FALK et al, 1999). Conforme destacam a síndrome intermediária é a principal causa de morte por falência respiratória decorrente de intoxicação aguda por OP.

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

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

frequência e ausência após fasciculação pós-tetânica, sugerindo uma deficiência pós-sináptica.

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

Há um consenso, entretanto, de que a síndrome se instala após a recuperação da síndrome colinérgica e antes de um esperado aparecimento da polineuropatia.

Segundo Ray (1998), a polineuropatia retardada decorre do comprometimento dos axônios distais dos neurônios sensoriais, motores e autonômicos, bem como do SNC. Kamanyire e Karalliedde (2004) referem que o quadro, no período entre 7 a 21 dias após a exposição ao OP, decorre do comprometimento de longos nervos, tratos nervosos ou do sistema nervoso como um todo, causando fraqueza muscular periférica que acomete membros superiores e inferiores, com um variável grau de redução da capacidade sensorial. Essa incapacidade pode se tornar permanente, entretanto, há casos de recomposição. Conforme Ray (1998) o quadro aparece cerca de 10 a 14 dias após a exposição e evolui com fraqueza progressiva e ataxia das pernas, podendo evoluir até paralisia flácida.

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

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

Ray e Richards (2001) referem que vários estudos têm demonstrado efeitos biológicos decorrentes de exposição a baixas doses, mas que não foram ainda completamente elucidados. Entretanto, dois efeitos relacionados a consequências da inibição da AChE foram observados: tolerância colinérgica e degeneração de placa motora. O primeiro, relacionado à tolerância colinérgica que ocorre em resposta a exposição prolongada a OP. Este provavelmente resulta de *down regulation* tanto da liberação de acetilcolina quanto da sensibilidade dos receptores (um efeito controlador negativo em que há redução do número de receptores celulares). Para produzir essa tolerância aguda a dose do OP deve estar acima do limite necessário para produzir sinais colinérgicos, porém com uma dose subcrônica, em que a tolerância possa ser produzida em baixas doses, ainda insuficiente para levar a sinais clínicos. O segundo, decorrente da ação tóxica sobre a placa motora muscular, parece estar relacionada à excitotoxicidade local em resposta à despolarização prolongada, levando ao acúmulo de acetilcolina na placa motora. Para os OP, o limiar de dose está acima daquele necessário para produzir fasciculação muscular.

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

destaca caso de paciente que manifestou termorregulação bifásica logo após a exposição seguida de hipertermia persistente por 48 horas que surgiu após 18 dias.

4.3 Toxicidade Crônica

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

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

4.3.1 Estudos de carcinogenicidade e genotoxicidade

4.3.1.1 Carcinogenicidade

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 o alvo preferencial (CLARKE; OXMAN, 2000). Nessa ligação, os adutos de DNA são formados por ligações covalentes. Essa formação pode mutar protooncogenes 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).

O IPCS descreve dois trabalhos apontando o efeito carcinogênico do triclorfom. No primeiro a administração subcutânea desse agrotóxico em ratos, resultou no aparecimento de sarcoma (PRUESSMAN, 1968 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1971). Já Gilbert et al (1971 apud INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1971) descreve o surgimento de papilomas, sarcomas abdominais e carcinomas em ratos e camundongos tratados com triclorfom. Em 1978 em uma reavaliação da carcinogenicidade desse agrotóxico o IPCS apontou que alguns dados sobre a alquilação do DNA em estudos com triclorfom podem ser indicativos de carcinogenicidade, porém afirma que, estudos de carcinogenicidade de longa duração em ratos e hamster não mostram surgimento de tumores (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1978).

LIU, CHANG e WU, 2009 apontam que o triclorfom induz apoptose celular em linhagem de neuroblastoma humano (SH-SY5Y) tratadas com 200 μ M desse agrotóxico. Também segundo Dieter et al (1992) a administração desse ingrediente ativo em ratos por 6 a 8 semanas pode ter sido a causa de leucemia.

4.3.1.2 Genotoxicidade

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

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

Há muitos estudos na literatura sobre a genotoxicidade do triclorfom. O IPCS (2000) descreve cerca de 70 estudos, que podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2: Número e desfechos de estudos sobre a genotoxicidade do triclorfom

Desfecho	N	Resultados positivos	Resultados negativos
<i>In vitro</i>	34	20	14
Interação com DNA	2	2	0
Mutação gênica	17	6	11
Crossing over mitótico	1	1	0
Mutação progressiva	5	4	1
Danos no DNA	2	0	2
Trocas entre cromátides irmãs	4	4	0
Erros cromossômicos	3	3	0
<i>In vivo</i>	30	08	22
Mutação reversa	2	1	1
Mutação letal recessiva	1	0	1
Trocas de cromátides irmãs	1		1
Erros cromossômicos	26	7	19

Fonte: IPCS (2000)

Como os desfechos são mais positivos nos testes *in vitro*, embora exista um maior número de resultados negativos nos testes *in vivo*, segundo o IPCS, o triclorfom tem risco improvável de genotoxicidade (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000).

Segundo Ranaldi et al (2008) estudos de aneuploidias associadas ao triclorfom diferem em experimentos *in vivo* e *in vitro*, sendo necessária a análise dos dois tipos para a avaliação de risco.

A não disjunção cromossômica causada pelo triclorfom é mostrada por vários autores. Cukurcam et al (1994) e Yin et al (1998) estudaram ovócitos de hamster, tratados com 50 e 100 µg/ml desse agrotóxico, e observaram não disjunção. Tian, Ishikawa, Yamauchi (2000) também apontam esses resultados em camundongos fêmeas, porém na dosagem de 0 a 20 µg/ml. A não disjunção cromossômica também é vista em linfoblastos humanos (20 µg/ml) (DOHERTY, 1996). Sun (2000) descreve aneuploidias em espermatozóitos de ratos nas dosagens de 200, 300 e 405 mg/kg.

De 15 nascimentos em um vilarejo na Hungria (1989 a 1990), 11 crianças foram afetadas por anomalias congênitas. Quatro dessas crianças nasceram com síndrome de Down. Os autores associam que as mulheres grávidas da região tenham sido expostas ao triclorfom através da alimentação com peixes contaminados, testes apontaram altas concentrações desse agrotóxico nos peixes, cerca de 100 mg/Kg (CZEIZEL et al. 1993).

Bao et al (1974 apud IPCS, 2000) relataram caso de intoxicação por triclorfom em cinco pessoas que evoluíram com aumento da incidência de quebra de

cromossomos, cujos efeitos foram observados imediatamente após a exposição e 1 mês mais tarde.

Kiraly et al (1979 apud IPCS, 2000) registraram que 17 trabalhadores expostos ao triclorfom por pelo menos 6 meses mostraram aumento da incidência de quebra de cromátides nos linfócitos, quando comparados a um grupo de não expostos.

Entre os OP, também é destacado que muitas vezes seus metabólitos são mais tóxicos que o ingrediente ativo. O diclorvós, por exemplo, é apontado como genotóxico tanto em estudos *in vitro*, em bactérias e células de mamíferos, quanto em estudos *in vivo* (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1992). Assim como o dicloroacetaldeído e o ácido metil ester 2,2-dicloro-1,1-diidroxietanefosfônico foram positivos para o teste de dominância letal em camundongos na concentração de 1,6 mmol/Kg (FISCHER, SCHNEIDER, SCHEUFLER, 1977, INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 1992).

Estudos descritos na literatura, *in vitro* e *in vivo* com o triclorfom demonstram mutações gênicas, aberrações cromossômicas, indução de micronúcleos, danos ao DNA, entre outras ações genotóxicas.

4.4 Toxicidade sobre o sistema endócrino, reprodutivo e desenvolvimento

4.4.1 Toxicidade sobre o sistema endócrino

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

Os desreguladores endócrinos (DE) são definidos como quaisquer substâncias (ou misturas) exógenas que alteram funções do sistema endócrino e, conseqüentemente causam efeitos adversos em um organismo, sua prole ou (sub) populações (Goldman *et al.*, 2000; IPCS, 2002).

Os mecanismos pelos quais os DE desencadeiam os efeitos tóxicos são bem variados e abrangem a interferência com a produção, liberação, transporte, metabolismo, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais responsáveis pela

manutenção da homeostase e regulação de processos do desenvolvimento (Kavlock *et al.*, 1996). Alguns agrotóxicos têm o potencial de produzir alterações no sistema endócrino através da ligação a receptores específicos de hormônios esteróides, como o estradiol, a testosterona e a progesterona, antagonizando ou estimulando o sistema endócrino (Kavlock *et al.*, 1996). Além disso, os DE podem diminuir ou aumentar a síntese dos hormônios naturais.

O triclorfom é considerado um desregulador endócrino pela agência federal de meio-ambiente da Alemanha (UMWELTBUNDESAMT, 2001; HONG ET AL, 2007a) pelos seus efeitos no sistema reprodutivo como diminuição do número de espermatozóides, do volume de líquido seminal, da motilidade e viabilidade de espermatozóides (ENDS, 1999; HANNA ET AL, 1966; LEBRUN; CERF, 1960) e de perdas embrionárias, anormalidades fetais, diminuição do número de fetos vivos, taxas de gravidez, ausência de folículos primários (HALLENBECK; CUNNINGHAM-BURNS, 1985; DOULL, 1962).

O triclorfom inibe a produção de progesterona na linhagem de células humanas luteína-granulosas (hGLC). Essa inibição ocorreu de maneira dose-dependente, nas concentrações de 5, 25 e 125 $\mu\text{mol/l}$ por 24 horas. O efeito observado não ocorreu devido a citotoxicidade do triclorfom uma vez que a viabilidade celular foi maior que 98% (HONG ET AL; 2007a). Os autores demonstraram que o triclorfom inibiu a síntese de progesterona através da supressão do gene que codifica a proteína regulatória esteroidogênica aguda (StAR) (HONG ET AL; 2007a).

A via de biossíntese de hormônios esteróides é composta de uma cascata de sinais. Resumidamente as gonadotrofinas se ligam a receptores acoplados à proteína G, produzindo AMPcíclico (AMPc) e a ativação de proteínas quinases dependentes de AMPc (PKA – proteínas quinases dependentes de AMPc) (LEUNG; STEELE, 1992; RICHARDS, 1994; CHIN; ABAYASEKARA, 2004). Essas PKA ativadas fosforilam diversas proteínas envolvidas na esteroidogênese incluindo a StAR (STOCCO; CLARK, 1993). A StAR, por sua vez, desempenha papel importante no transporte do colesterol da membrana mitocondrial externa para a interna (STOCCO; CLARK, 1996; LINGAPPA; MELLON, 2004).

Após o transporte para a membrana interna da mitocôndria, ocorre a clivagem do colesterol formando pregnenolona, através da ação da enzima P450_{scc} (LINGAPPA; MELLON, 2004; MILLER, 1988; HANUKOGLU, 1992) que, finalmente, é convertida

a progesterona pela ação da enzima 3- β -hidroxiesteróide desidrogenase (PENNING, 1997; LINGAPPA; MELLON, 2004).

Além da inibição de produção da proteína StAR, como descrito anteriormente no estudos com células hGLC, o triclorfom inibiu a atividade da enzima P450_{scc} em uma linhagem de células tumorais de Leydig de camundongos (MLTC-1) (HONG ET AL, 2007b).

A diminuição da produção de progesterona durante a exposição ao triclorfom pode ser um dos fatores responsáveis pelos efeitos adversos na gravidez, viabilidade fetal e fertilidade feminina (COURTNEY et al., 1986; WHO, 1992; WHO 2000; MEHL, 1994; BERGE, 1996).

Outros efeitos menos explorados por estudos científicos, foram as alterações estruturais na tireóide e adrenais demonstradas após a exposição ao triclorfom (10 ppm/dia durante 90 dias) de ratos (NICOLAU, 1983). Efeitos adversos nesses órgãos podem influenciar o desenvolvimento, a maturação e regulação do metabolismo de hormônios esteróides, de açúcares, de lipídios e de proteínas, a produção de hormônios relacionados ao estresse, fluxo de energia, temperatura corpórea e equilíbrio hídrico e ainda a regulação de processos inflamatórios e imunológicos.

4.4.2 Efeitos adversos sobre o sistema reprodutivo

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

4.4.2.1 Estudos de toxicidade reprodutiva: multigeração

Ratos

Um estudo multigeração foi realizado para avaliar a toxicidade reprodutiva do triclorfom. Grupos de ratos FB compostos de 10 machos e 20 fêmeas receberam as

concentrações de 100, 300, 1000, ou 3000 mg de triclorfom/kg na dieta durante três gerações, com duas ninhadas por geração. As fêmeas da geração F_0 expostas a 1000 e 3000 mg/kg na dieta apresentaram diminuição significativa no ganho de peso. O tamanho da ninhada F_{1a} foi reduzida nos animais expostos a doses ≥ 1000 mg/kg na dieta, enquanto o crescimento dos filhotes e a sobrevivência durante o período de lactação foram prejudicados na concentração de 3000 mg/kg. O acasalamento da geração F_{1b} resultou em **baixa taxa de gestação** nos grupos expostos a 1000 e 3000 mg/kg na dieta. O **tamanho da ninhada, a sobrevivência e crescimento dos filhotes também estavam reduzidos** nos grupos expostos a 3000 mg/kg, e **todos os animais desse grupo morreram** antes do acasalamento para produzir a geração F_2 . Durante o resto do estudo, nenhum efeito foi encontrado sobre a fertilidade ou o tamanho e o peso da ninhada. Os grupos F_{2a} , F_{2b} , F_{3a} , e F_{3b} que receberam 1000 mg/kg na dieta apresentaram redução do ganho de peso corporal durante o período de lactação. Não foram observadas malformações fetais em nenhum grupo e a avaliação dos adultos das gerações F_0 , F_{1b} , e F_{2b} não revelou alterações microscópicas ou macroscópicas. O NOEL foi fixado na concentração de 300 mg/kg, equivalente a 30 mg/kg pc/dia (LOSER, 1969; SPICER & URWIN, 1971 *apud* WHO, 1992; 2000).

Astroff et al (1998) realizaram um estudo de toxicidade multigeração para avaliar os efeitos de cinco compostos organofosforados em ratos Sprague-Dawley adultos e neonatos. Foram usados 120 machos e 120 fêmeas com aproximadamente 7 a 8 semanas de vida. O triclorfom foi administrado nas seguintes concentrações/período: 10, 36 ou 144 mg/kg no período pré-acasalamento; 7, 29 ou 126 mg/kg no período de gestação e 20, 72 ou 233 mg/kg no período de lactação. Os animais foram sacrificados no final do período de lactação. Foi observada uma **diminuição do índice de nascimento e do tamanho médio da ninhada da geração F_1** na menor na maior dose e, também, foi observado redução do peso corporal dos filhotes da geração F_1 e F_2 . Na geração parental pré-acasalamento foi observado **diminuição da atividade colinesterásica plasmática** nas duas maiores doses e eritrocitária na maior dose, na geração F_1 pré-acasalamento as atividades colinesterásicas plasmática e eritrocitária estavam diminuídas nas duas maiores doses e, na geração F_2 , a atividade colinesterásica cerebral estava diminuída na maior dose. Os resultados indicam que apesar dos efeitos sobre os neonatos serem menores que os efeitos tóxicos sobre a mãe, o triclorfom tem o potencial de causar efeitos tóxicos reprodutivos (ASTROFF, 1998; SHEETS, 2000).

4.4.2.2 Efeitos adversos sobre o desenvolvimento

A toxicidade do desenvolvimento refere-se aos efeitos adversos no organismo em formação que ocorrem após a exposição a substâncias químicas antes da concepção, durante o desenvolvimento pré-natal, pós-natal até a maturação sexual. Efeitos adversos no desenvolvimento podem ser detectados em qualquer momento da vida de um indivíduo (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001).

Camundongos

Courtney et al (1986) realizaram um estudo para avaliar a toxicidade sobre desenvolvimento do triclorfom em camundongos CD-1. Os animais (15-24 fêmeas /grupo) receberam 200, 300, ou 400 mg/kg pc/dia triclorfom (98% de pureza) por via oral (gavagem) entre os dias 7 e 16 de gestação e foram sacrificados no dia seguinte à administração da última dose. Os animais expostos as duas maiores doses apresentaram **aumento da taxa de mortalidade** e em todas as outras doses foi observado **diminuição do ganho de peso materno**. Foi observada uma **diminuição no número de fetos vivos e no peso fetal** nos animais expostos a 400 mg/kg pc/dia. No menor nível de dose, no qual não foi observada toxicidade materna, foi encontrado **retardo no desenvolvimento fetal**, como indicado pela calcificação reduzida em várias áreas do esqueleto, variações nas costelas e aumento na incidência de alargamento na pélvis renal. O triclorfom foi **teratogênico, fetotóxico e letal para o organismo materno**, nas duas maiores doses estudadas, nas quais causou, também, mortalidade materna (COURTNEY et al., 1986).

Um estudo verificou a embriofetotoxicidade do triclorfom em 33 camundongos AS/Jena após injeção 360 mg triclorfom/kg intaperitonealmente no dia 1º de gestação. A frequência de **perdas pós-implantação** estava aumentada em doses únicas de 60, 120, ou 240 mg/kg pc no dia 9 (13-15 animais /grupo) e nas doses de 120 ou 240 mg/kg pc nos dias 1-7 (25-30 animais por grupo), o efeito foi mais pronunciado na dose de 240 mg/kg pc nos dias 7-14 (23 animais). Não foram observadas malformações severas (SCHEUFLER, 1975 apud WHO, 1992; 2000).

Tian et al (2009) avaliaram a toxicidade reprodutiva e sobre o desenvolvimento em fêmeas de camundongos ICR tratadas com triclorfom. As fêmeas grávidas receberam baixas doses (12,5, 25, ou 50 mg/kg pc/dia) de triclorfom durante o período de organogênese, isto é, do dia 6 ao dia 15 de gestação e foram sacrificadas no dia 17 de

gestação. Os desfechos reprodutivos e a teratogênese foram avaliados no presente estudo. A exposição a baixas doses do triclorfom não afetou o ganho de peso corporal materno, peso dos órgãos, número de corpos lúteos e sítios de implantação. Na menor dose estudada foi observada uma **diminuição significativa da média do ganho de peso fetal**. Não foram encontradas evidências de anomalias externas ou esqueléticas. O autor descreve que embora a exposição a doses menores que 50mg/kg de triclorfom não tenha causado efeitos embriofetotóxicos, não se pode afirmar a ausência de toxicidade reprodutiva do composto (TIAN, Y. et al, 2009).

Camundongos CD-1 receberam 300, 400, 500, ou 600 mg triclorfom/kg pc/dia, pela via oral (gavagem), entre os dias 6-10 (3-25 fêmeas/grupo) ou entre os dias 10-14 (4-21 fêmeas/grupo) de gestação e foram sacrificados no dia 18. A ingestão de alimento e o ganho de peso das mães estavam reduzidos em todas as doses, mas o efeito não foi dose-relacionada. O **peso corporal fetal estava menor** nos animais expostos a doses \geq 400 mg/kg pc/dia, enquanto a frequência de malformações fetais (**fenda palatina**) estava aumentada nos fetos expostos *in útero* a 500 ou 600 mg/kg pc/dia entre os dias 10-14 de gestação. Nos grupos tratados com a maior dose, 600 mg/kg pc/dia, Foi observado **aumento na frequência de fenda palatina** no último grupo. O NOEL foi fixado em 300 mg/kg pc/dia (STAPLES & GOULDING, 1979 *apud* WHO, 1992 e 2000).

Ratos

Courtney et al (1986) realizaram um estudo para avaliar a toxicidade sobre o desenvolvimento do triclorfom em ratas CD. Os animais receberam 50, 100, ou 200 mg de triclorfom/kg pc/dia (98% de pureza) por gavagem do 7º ao 19º dia de gestação (estudo I; 10-20 fêmeas/grupo) ou do 8º ao 20º dia de gestação (estudo II; 15-18 fêmeas/grupo). Os animais foram sacrificados um dia após receberem a última dose. A maior dose foi **letal para as mães** tanto no estudo I quanto no estudo II e, também, diminuiu o ganho de peso materno. Foi encontrado **atraso no desenvolvimento**, calcificação reduzida em várias áreas do esqueleto, nos fetos expostos a menor e maior dose do triclorfom do estudo I, indicando **fetotoxicidade**. No estudo II, o triclorfom foi considerado **teratogênico**, pois causou um aumento da incidência de **malformações no sistema urinário** (COURTNEY et al., 1986).

Grupos de 11 ratas fêmeas Wistar foram expostos a dose única de 80 mg de triclorfom por kg/pc/dia no 9º ou no 13º dia de gestação ou 10 fêmeas Wistar foram

expostas a 8 mg triclorfom/kg pc/dia, diariamente, durante todo o período de gestação. Os animais foram sacrificados no 19º de gestação. Foi observado um aumento na frequência de **mortes pós-implantação e malformações fetais** tais como **exencefalia** e **pálpebras não fechadas** nos animais expostos à dose única no dia 13 de gestação. Não foram observados efeitos sobre o desenvolvimento nas outras formas de tratamento (MARTSON; VORONINA, 1976 apud WHO, 1992; 2000).

Foi realizado um estudo para avaliar a toxicidade do desenvolvimento do triclorfom em ratas fêmeas CD. Grupos de 9-26 fêmeas CD receberam 76, 140, 380, 430 ou 520 mg triclorfom/kg pc/dia (98,5% de pureza) na dieta entre os dias 6-15 de gestação, os animais foram sacrificados no dia 21. Foi observada **redução da ingestão de alimentos e do peso corporal materno**, e do **peso fetal** nas duas maiores doses, enquanto que o **número de mortes fetais estava aumentado** nos animais expostos a 430 mg/kg pc/dia. Malformações esqueléticas e externas foram encontradas em fetos expostos a 430 e 520 mg/kg pc/dia, e alterações esqueléticas menores foram observadas na dose de 380 mg/kg PC/dia. As malformações mais predominantes foram alterações no crânio e no sistema nervoso central (**exencefalia, meningocele e hidrocefalia**), alterações nas patas (sindactilia, ulna e radio marcadamente curtos e digitais perdidas), **micrognatia, fenda palatina, hematomas faciais, edema generalizado** e defeitos nas grandes veias. As alterações esqueléticas menores foram vértebras centrais duplas, costelas tortas, osso supra-occipital fenestrado e hérnia umbilical. O NOEL foi fixado em 140 mg/kg pc/dia (STAPLES et al., 1976 apud WHO, 1992; 2000).

Grupos de 9-30 fêmeas CD receberam 50, 75, 150, 200, ou 250 triclorfom mg/kg pc/dia por gavagem entre os dias 6-15 de gestação. Nos animais expostos a 150, 200, e 250 mg triclorfom/kg foi observado **mortalidade materna**, com sinais de toxicidade na maior dose. As fêmeas que sobreviveram foram sacrificadas no 21º dia de gestação. Foi observada **redução significativa do peso corporal fetal** nas doses ≥ 75 mg/kg. O NOEL foi fixado em 50 mg/kg pc/dia (STAPLES et al., 1976 apud WHO, 2000).

Grupos de 34 ratos CD foram expostos a 480 mg/kg de Triclorfom por gavagem do 6º ao 15º dia de gestação. As seguintes alterações foram observadas: redução do peso fetal, taxa de mortalidade fetal alta e malformações, tais como **edema generalizado, herniação do cérebro, hidrocefalia, micrognatia, fenda palatina e alterações esqueléticas**. Uma dose única de 480 mg/kg, por gavagem, foi administrada nos dias 8 ou 10 de gestação a 14 fêmeas por grupo, após isso foi observado diminuição do

consumo de alimento materno, mas não foram observados efeitos sobre o desenvolvimento fetal (STAPLES; GOULDING, 1979 apud WHO, 1992 e 2000).

Ratas fêmeas Long-Evans (25/grupo) receberam 10, 30, ou 100 mg triclorfom /kg pc/dia, por gavagem entre os dias 6-16 de gestação e foram sacrificadas no 20º dia de gestação. Não foram observadas mortes, mas alguns animais expostos a maior dose apresentaram diarreia. O NOEL para toxicidade materna foi fixado em 30 mg/kg (MACHEMER, 1979a apud WHO, 1992 e 2000).

Um estudo avaliou a toxicidade sobre o desenvolvimento do triclorfom em grupos de 33 fêmeas de ratas Charles River Crl:CD BR. Os animais receberam dieta contendo as seguintes concentrações de triclorfom 500, 1100, ou 2500 triclorfom mg/kg entre os dias 6-15 de gestação. Na maior dose, foi observada redução do ganho de peso corporal dos animais. A análise da **atividade colinesterásica** de cinco animais por grupo sacrificados no 16º dia de gestação mostrou **inibição das enzimas plasmáticas, eritrocitárias e cerebrais**. Quando as mães restantes foram sacrificadas no 20º dia de gestação, somente a atividade da acetilcolinesterase cerebral estava inibida. Não foram observados efeitos sobre o número de reabsorções, fetos vivos, peso corporal fetal ou frequência de malformações. Foi observado retardo no crescimento fetal através do aumento da incidência ossificação não calcificada e curvada, e, costelas onduladas nos animais expostos a 2500 mg/kg na dieta. Também foi verificada diminuição da atividade acetilcolinesterásica cerebral em todos os grupos expostos ao triclorfom (KOWALSKI et al., 1987 apud WHO, 1992 e 2000).

Hamsters

Foi realizado um estudo com grupos de 5-30 fêmeas de *golden hamster* para avaliar os efeitos do triclorfom sobre desenvolvimento. Os animais receberam 100, 200, 300, ou 400 mg de triclorfom /kg pc/dia por gavagem do 7º ao 11º dia de gestação, e foram sacrificados no 15º dia de gestação. Três dos 30 hamster que receberam a maior dose morreram e sinais de **inibição colinesterásica** foram observados com dose-relacionada nas duas maiores doses (300 e 400 mg). O consumo de ração, o ganho de peso materno e o **peso corporal fetal estavam reduzidos** nos animais expostos a doses de 300 e 400 mg/kg. Foi observado aumento da frequência de malformações, tais como **edema, fenda palatina e costelas fundidas**, em fetos expostos a maior dose. A dose única de 400 mg/kg administrada no 8º dia de gestação a 16 fêmeas reduziu o consumo de ração e aumentou a taxa de mortes fetais. O NOEL foi fixado em 100 mg/kg para

toxicidade materna e 200 mg/kg para efeitos sobre o desenvolvimento (STAPLES; GOULDING, 1979 apud WHO, 1992 e 2000).

Coelhos

Grupos de 15 coelhas fêmeas Himalaia receberam 5, 15, ou 45 mg triclorfom/kg por gavagem do 6º ao 18º dia de gestação e foram sacrificados no 29º dia de gestação. O **ganho de peso corporal estava reduzido** em todos os grupos tratados e foram observados **dois abortos** nos animais expostos a dose de 45 mg/kg. O desenvolvimento fetal não foi avaliado (MACHEMER, 1979b apud WHO, 1992 e 2000).

Foi realizado um estudo de toxicidade do desenvolvimento com grupos de 20 coelhas fêmeas American Dutch. Os animais receberam 10, 35, ou 110 triclorfom mg/kg por gavagem entre os dias 6-18 de gestação e foram sacrificados no dia 28 de gestação. A maior dose estudada resultou em **mortes, sinais de toxicidade e redução do ganho de peso corporal**. Também foram observados sinais de toxicidade, uma morte e um aborto nos animais expostos a dose de 35 mg/kg. A atividade colinesterásica eritrocitária estava inibida no 19º dia de gestação nos animais expostos a 35 e 110 mg/kg, e no 28º dia de gestação a atividade colinesterásica cerebral estava inibida nesses mesmos níveis de doses. Os animais expostos a 110 mg/kg apresentaram **aumento no número de reabsorções, diminuição do peso da placenta e dos fetos e retardo na ossificação**. O NOEL para toxicidade materna foi fixado em 10 mg/kg e em 35 mg/kg para embriofetotoxicidade (CLEMENS et al., 1990 apud WHO, 1992 e 2000).

4.5 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 comportamentais.

Os químicos podem ser distribuídos em quatro classes: aqueles que atuam sobre o sistema nervoso central, nas fibras nervosas periféricas, nos músculos ou outros tecidos (ALBERT, 1973). Alterações na função podem resultar em toxicidade sobre

outros sistemas ou a órgãos específicos, e essa alteração indireta pode ser considerada adversa. Por exemplo, exposição à alta dose de um químico pode causar dano ao fígado, resultando em mal-estar geral e diminuição de um desfecho funcional tal como atividade motora.

Efeitos neurotóxicos podem ser observados em vários níveis de organização do sistema nervoso, incluindo neuroquímico, anatômico, fisiológico ou comportamental. No nível neuroquímico, o agente neurotóxico pode inibir a síntese de 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, no axônio, ou na bainha de mielina. No nível fisiológico, o químico pode alterar o limiar para ativação neural ou reduzir a velocidade de neurotransmissão. Alterações de comportamento podem incluir alterações significativas na visão, audição, ou tato; alterações de reflexos simples e complexos e funções motoras; alterações nas funções cognitivas como aprendizado, memória ou atenção; e alterações no humor como medo ou raiva, desorientação como pessoa, tempo ou espaço, ou distorções de pensamentos e sentimentos, tal como delírio e alucinações.

O principal efeito prejudicial associado à exposição à OP envolve efeitos, em nível neuroquímico, sobre o sistema nervoso e suas consequências.

4.5.1 Mecanismos de ação

Os organofosforados agem inibindo a atividade da acetilcolinesterase (AChE), enzima responsável por mediar a hidrólise da acetilcolina em ácido acético e colina. Através da fosforilação dessa 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; ALON et al, 2008; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008; DAVIES; EDDLESTON; BUCKLEY, 2008; LAETZ et al, 2009).

Os agrotóxicos organofosforados inibem a AChE de modo similar tanto em espécies alvo quanto em espécies não-alvo. Essa propriedade toxicológica, aliada a certas propriedades toxicocinéticas, torna esses compostos perigosos em termos de exposições ocupacionais, acidentais e intencionais. (CARVALHO, 1993; BOUCHARD et al, 2003; REY; RICHARDS, 2001).

A ação inibitória do triclorfom sobre a AChE é lenta, uma vez que nos mamíferos esse OP não é convertido enzimaticamente a diclorvós. Como resultado, a ação inibitória do triclorfom deve-se ao seu metabólito diclorvós, que é um inibidor potente e irreversível da AChE (AVERBOOK; ANDERSON, 1983; SLOTT; ECOBICHON, 1984; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1991; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992; HINZ; GREWIG; SCHMIDT, 1996; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000; WU; DENG, 2009). De acordo com Hofer (1981), a atividade anticolinesterásica do diclorvós é 100 vezes maior que a do triclorfom.

Devido à lenta conversão do triclorfom a diclorvós, os sinais e sintomas de toxicidade podem manifestar-se tardiamente, após um período de latência, e apresentar uma evolução crescente mesmo depois de cessada a exposição (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1991; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992; WU; DENG, 2009).

A exposição contínua ao triclorfom pode levar a alterações cumulativas na função nervosa. O triclorfom afeta significativamente a excitabilidade da membrana nervosa, sendo capaz de induzir alterações na função nervosa que podem se acumular após exposição contínua (AVERBOOK; ANDERSON, 1983).

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 aos 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).

O triclorfom reduz o crescimento de células neuronais (FLASKOS et al, 1999). A exposição ao triclorfom durante o período gestacional pode levar à redução considerável do tamanho do cérebro e do cerebelo dos fetos e provocar danos ao SNC, afetando o neurodesenvolvimento (BERGE; NAFSTAD, 1986; BERGE; NAFSTAD; FONNUM, 1986; BERGE; FONNUM; BRODAL, 1987; BERGE et al, 1987). As atividades de neurotransmissores essenciais também podem ser reduzidas em algumas regiões (BERGE; NAFSTAD; FONNUM, 1986).

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

4.5.2 Manifestações Clínicas

Os inibidores de colinesterases causam três quadros clínicos de envenenamento no homem e em animais: **toxicidade aguda; síndrome intermediária e polineuropatia retardada**. Os efeitos decorrentes da exposição aos organofosforados variam de acordo com fatores que podem modificar a toxicidade a esses agrotóxicos,

incluindo o tipo de organofosforado utilizado, a dose, duração da exposição, via de absorção, órgão atingido, fatores sócio-econômicos e culturais e condições ambientais (RAY, 1998).

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

Estudos epidemiológicos também sugerem que a exposição à organofosforados está associada a desordens psiquiátricas, particularmente depressão e suicídio. A exposição a estes compostos pode levar ao desenvolvimento de depressão, um fator importante nos suicídios (STEENLAND et al, 1994; STEPHENS et al, 1995; AMR et al, 1997; FIEDLER et al, 1997; LONDON et al, 1997; VAN WIJNGAARDEN, 2003; LONDON et al, 2005; JAGA; DHARMANI, 2007; BESELER; STALLONES; HOPPIN, 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).

4.5.3 Neurotoxicidade aguda – Síndrome Colinérgica

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

A intoxicação aguda por anticolinesterases produz uma mistura complexa de sinais muscarínicos e nicotínicos. Sinais e sintomas nicotínicos resultam da acumulação da acetilcolina nas terminações nervosas da musculatura esquelética e gânglios autônomos. Os receptores muscarínicos para a acetilcolina são encontrados

primariamente nos músculos lisos, coração e glândulas exócrinas, e suas manifestações clínicas ocorrem nos sistemas circulatório, ocular, urinário e nos aparelhos digestivo e respiratório (CARVALHO, 1993; STOKES et al, 1995; BEACH et al, 1996; KELLAR, 2006).

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

As manifestações clínicas mais comuns decorrentes da **intoxicação aguda por triclorfom** estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3: Manifestações clínicas da intoxicação aguda por triclorfom

LOCAL	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	REFERÊNCIA
Sistema Nervoso Central	Cefaléia, tontura, confusão mental, comprometimento da memória, ansiedade, agitação, irritabilidade, dificuldade de concentração, distúrbios no sono, sonolência, pesadelos, sonambulismo, insônia, convulsões tônico-clônicas, tremores, disartria, torpor, ataxia, depressão respiratória, coma	World Health Organization, 1971; Jamnadas e Thomas, 1979; Aden-Abdi et al, 1990; De Freitas et al, 1990;
Efeitos Muscarínicos	Gastrointestinais: náusea, vômito, cólicas abdominais, defecação involuntária, diarreia	World Health Organization, 1991; World Health Organization, 1992; Extension Toxicology Network, 1993;
	Respiratórias: sangramento nasal, tosse, sibilância, dor torácica, rinorréia, broncoconstricção, broncorréia, dispnéia, edema pulmonar	Extension Toxicology Network, 1996;
	Cardiovasculares: hipotensão, bradicardia, parada cardíaca	World Health Organization, 2000;
	Oculares: dificuldade de acomodação visual, epífora, hiperemia da conjuntiva, miose, visão embaçada e perda de visão	Arao et al, 2002; Roberts et al, 2005; Wu; Deng, 2009.
	Sistema urinário: diurese frequente e involuntária; incontinência urinária, disúria	
	Glândulas exócrinas: salivação (sialorréia), lacrimejamento e sudorese excessiva (diaforese) que pode provocar desidratação e hipovolemia, resultando em choque	

Efeitos Nicotínicos	Contração muscular involuntária, câimbras, fraqueza, mialgia, fasciculação muscular e paralisia dos músculos respiratórios seguida de morte	
---------------------	---	--

A crise colinérgica aguda causada pela inibição da AChE pode levar à morte em minutos (HSIEH et al, 2001). A causa imediata de morte em síndromes colinérgicas por organofosforados resulta da falência respiratória (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1991; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1993; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000; 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).

No caso do triclorfom, a perda de consciência é desproporcionalmente comum e prolongada e a incidência de perturbações mentais é alta (HAYES, 1982 apud WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992).

A intoxicação aguda por organofosforados tem grande importância epidemiológica para humanos e animais. Casos de **envenenamento por triclorfom** têm sido observados em humanos. Wegner (1970) apud World Health Organization (2000) revisou dados de mais de 6000 pessoas, obtidos em sua maioria na América do Sul e África do Sul, que foram tratadas com triclorfom para vários parasitas (*Ancylostoma*, *Ascaris*, *Strongyloides*, *Trichocephalus* e *Schistosoma*), em doses variando de 5 a 70 mg/kg/dia por até 12 dias. Os sintomas de intoxicação aguda incluíram depressão da atividade da AChE, fraqueza, náusea, diarreia e dor abdominal. Uma dose de 24 mg/kg causou mais sintomas graves como taquicardia, salivação, cólicas, vômitos, náusea, fadiga, tremores e sudorese.

Pacientes com diferentes níveis de insuficiência renal foram tratados com uma dose oral única de um comprimido de 50 mg de triclorfom. As avaliações clínicas foram realizadas em 0 (antes do tratamento), 1, 2, 3, 4, 12 e 24 horas após o tratamento. Os 24 participantes (15 homens e 09 mulheres com idade de 45 a 75 anos e pesando de 45 a 95 kg) foram divididos em quatro grupos de acordo com as taxas de clearance de creatinina. Foram observados sinais de intoxicação aguda tais como diarreia, cefaléia, aumento da atividade das enzimas amilase e lipase e fraqueza. O *clearance* renal do triclorfom e do diclorvós diminuiu na proporção da gravidade da insuficiência renal. A

atividade da colinesterase plasmática foi inibida em 60-80% uma hora após a administração do triclorfom (DINGEMANSE et al, 1999 apud JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 2001).

Em Taiwan, um homem de 54 anos de idade apresentou sintomas de intoxicação aguda após entrar em contato com um inseticida formulado à base de triclorfom. O homem apresentou dor abdominal e quatro horas após o surgimento do primeiro sintoma ele apresentou náusea severa e vômitos. Um dia após o início dos sintomas o paciente apresentou febre, calafrios, tontura e fraqueza generalizada. As pupilas estavam isocóricas (2mm). Durante o período de internação o paciente apresentou, além dos sintomas iniciais, irritação dérmica (WU; DENG, 2009).

Liu e colaboradores (2003) apud Wu e Deng (2009) relataram um caso de anemia hemolítica autoimune por anticorpos frios induzido por triclorfom. A paciente foi uma menina chinesa de seis anos de idade tratada com 5 g de um inseticida formulado à base de triclorfom diluído em água para combater piolhos. No dia seguinte à exposição a paciente apresentou tontura, fadiga e dor abdominal intermitente. Desenvolveu posteriormente icterícia, com urina de cor escura e febre alta.

Jamnadas e Thomas (1979) descrevem um caso de envenenamento por triclorfom em um menino de oito anos de idade. A intoxicação ocorreu após a ingestão da dose terapêutica de um medicamento formulado à base de triclorfom recomendado para o tratamento de esquistossomose. A criança deu entrada em uma clínica local apresentando vômitos, transpiração profusa e salivação excessiva. Também foi observada miose, bradicardia e fasciculação muscular ao redor da boca e nas panturrilhas do paciente. Os níveis de pseudocolinesterase estavam marcadamente reduzidos. A criança apresentou melhora após tratamento com atropina, fato que, juntamente com o quadro clínico geral e a redução dos níveis de pseudocolinesterase, indicaram envenenamento por organofosfato.

Aden-Abdi et al (1990) realizaram estudo para avaliar, dentre outros aspectos, os efeitos colaterais decorrentes da ingestão de um medicamento à base de triclorfom para tratamento da esquistossomose. Dezesesseis voluntários suíços do sexo masculino com idades entre 20-49 anos (média de 31 anos) e pesos variando de 62 a 90 quilos (média 74 kg) participaram do estudo. Todos os indivíduos eram não fumantes e gozavam de boa saúde. Nos sete dias que antecederam o estudo não foi permitido o uso de qualquer tipo de droga. Dos 16 voluntários, 11 apresentaram efeitos colaterais como náuseas, vômitos, dores abdominais, diarreia, dor de cabeça e tontura.

Um homem de 50 anos de idade foi achado morto em um cemitério, apresentando sialorréia. Baseando-se nos achados da necrópsia e nos resultados da análise toxicológica, os autores do estudo assumiram como causa da morte a intoxicação aguda provocada pela ingestão de triclorfom e metidatiom (ARAO et al, 2002).

Uma paciente de 19 anos de idade desenvolveu um quadro colinérgico agudo após a ingestão intencional de triclorfom (80%) e propoxur 1% (carbamato). Dois dias após a tentativa de suicídio a paciente desenvolveu síndrome intermediária, com comprometimento dos músculos proximais dos membros e dos músculos respiratórios, havendo necessidade de ventilação mecânica (KARADEMIR; ERTÜRK; KOÇAK, 1990).

Na Tanzânia, 63 crianças (54 do sexo masculino e 09 do sexo feminino) com idades varando de 07 a 18 anos foram submetidas a um tratamento para esquistossomose com metrifonato (triclorfom). As crianças foram distribuídas aleatoriamente em três grupos e as doses foram administradas oralmente e ajustadas de acordo com o peso corporal (7,5; 10,0 e 12,5 mg/kg). Cinco crianças apresentaram sintomas de intoxicação aguda após o tratamento, e os sintomas reportados foram dor abdominal, vômito, tontura, náusea e tremores. Algumas horas após a medicação a colinesterase plasmática foi quase que completamente inibida, independente da dose administrada, e a colinesterase eritrocitária foi inibida em 40-60% (comparada aos níveis pré-tratamento), e essa variação foi dose-relacionada (PLESTINA; DAVIS; BAILEY, 1972).

Em um hospital localizado na Austrália um paciente apresentou tremores, hipotensão e diarreia severa ao dar entrada na unidade. Os sintomas foram atribuídos à exposição crônica a baixas doses de triclorfom (ROBERTS et al, 2005).

De Freitas e colaboradores (1990) relataram um caso de exposição ocupacional ao triclorfom onde um homem apresentou, 24 horas após o envenenamento, vômitos e diarreia por vários dias. Três meses depois ele desenvolveu neuropatia periférica.

Diversos estudos descrevem parkinsonismo em indivíduos após exposição aguda a agrotóxicos organofosforados (DAVIS; YESAVAGE; BERGER, 1978; BHATT; ELIAS; MANKODI, 1999; MÜLLER-VAHL; KOLBE; DENGLER, 1999; ARIMA et al, 2003; KAMEL; HOPPIN, 2004; HANCOCK et al, 2008). Apesar desse fato, a maioria desses estudos não foi capaz de discriminar especificamente qual agrotóxico

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

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

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.

4.5.4 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).

Uma mulher de 19 anos de idade foi hospitalizada após ter ingerido 20 g de triclorfom em uma concentração de 80% e 20 g de propoxur 1% (carbamato). A paciente apresentou síndrome colinérgica e confusão mental. Aproximadamente 40 horas após a tentativa de suicídio, a paciente apresentou dificuldade respiratória, sendo realizada traqueostomia. A paciente apresentou fraqueza dos músculos respiratórios, havendo necessidade de ventilação mecânica por 07 dias, além de fraqueza dos músculos proximais dos membros e diminuição dos reflexos dos tendões. A paciente permaneceu internada por 19 dias, tendo desenvolvido severa pneumonia (KARADEMIR; ERTÜRK; KOÇAK, 1990).

4.5.5 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). 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).

Vários estudos apontam o triclorfom como um importante agente causador de neuropatia tardia em humanos (RAYNER et al, 1972; SHIRAIISHI et al, 1977 apud WORLD HEALTH ORGNIZATION, 1992; HIERONS; JOHNSON, 1978 apud WORLD HEALTH ORGNIZATION, 1992; VASILESCU; FLORESCU, 1980; JOHNSON, 1981; HAYES, 1982 APUD WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992; SHIRAIISHI et al, 1983; VASILESCU; ALEXIANU; DAN, 1984; AKIMOV;

KOLESNICHENKO, 1985; CSIK; MOTIKA; MAROSI, 1986; BÁTORA et al, 1988 apud WORLD HEALTH ORGNIZATION, 1992; ABOU-DONIA; LAPADULA, 1990; DE FREITAS et al, 1990; SHEETS et al, 1997; YASHIMITA et al, 1997; LOTTI; MORETTO, 2005).

Em aproximadamente 21% dos casos de envenenamento por triclorfom ocorre polineuropatia tardia, sendo a maioria dos casos após a recuperação dos efeitos agudos (HAYES, 1982 APUD WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992).

O estudo de Lotti e Moretto (2005) aponta 157 casos confirmados de OPIDP descritos na literatura científica em decorrência da exposição ao triclorfom (29 tentativas de suicídio, 24 exposições acidentais, 18 exposições ocupacionais e 100 não tiveram o tipo de exposição caracterizada). Estes autores destacam que os casos geralmente eram caracterizados por síndrome colinérgica inicial, com duração de 4 a 7 dias, seguida por quadro de polineuropatia retardada que surge entre 1-3 semanas. O envolvimento dos membros superiores foi frequentemente observado. Na evolução dos casos geralmente observa-se melhora dos sintomas nos membros superiores e agravamento do comprometimento dos membros inferiores. Os sinais predominantes são: a degeneração axonal e redução de fibras nervosas.

Em um caso de envenenamento por triclorfom, uma mulher de 21 anos tentou suicídio ingerindo por volta de 50 ml de uma formulação com triclorfom. Ela perdeu a consciência por 8 horas. Duas semanas após a ingestão a paciente desenvolveu uma sensação de formigamento em todas as extremidades, seguida de fraqueza nos membros inferiores e joelhos, caracterizando uma polineuropatia motora (SHIRAISHI et al, 1977 apud WORLD HEALTH ORGNIZATION, 1992).

Em uma tentativa de suicídio após a ingestão de uma quantidade desconhecida de um produto formulado à base de triclorfom (80%), um homem de 20 anos desenvolveu neuropatia progressiva 2 a 8 semanas após intoxicação aguda. Os sintomas clínicos eram típicos de **polineuropatia retardada** causada por OP (HIERONS; JOHNSON, 1978 apud WORLD HEALTH ORGNIZATION, 1992).

Um homem de 42 anos entrou em coma profundo após a ingestão de 100-200 ml de um produto formulado à base de triclorfom (25%), necessitando de respiração artificial por 37 dias. A AChE plasmática diminuiu significativamente. Três semanas após a ingestão o paciente desenvolveu fraqueza profunda nos membros inferiores. A eletromiografia (realizada aos 40 e 70 dias e após 04, 06, 09 e 14 meses) indicou denervação nas extremidades inferiores e lesões moto neuronais periféricas nas

extremidades dos membros superiores. Vinte e um meses depois do envenenamento houve uma pequena melhora na mobilidade e o paciente foi capaz de andar sozinho por uma pequena distância (BÁTORA et al, 1988 apud WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992).

Akimov e Kolesnichenko (1985) apud World Health Organization (1992) examinaram as mudanças morfológicas no sistema nervoso de 14 pacientes que morreram de envenenamento agudo por um produto formulado à base de triclorfom. Eles encontraram congestão nos vasos sanguíneos com edema perivascular e degeneração das fibras de colágeno e elastina das paredes vasculares. Mudanças celulares difusas tais como alterações de inchaço e isquêmicas foram encontradas no cérebro, medula espinhal e gânglios vegetativos. Houve destruição moderada nas bainhas de mielina nas colunas laterais da medula espinhal e nos pedúnculos cerebrais, e mudanças estruturais nos axônios dos nervos periféricos.

Csik, Motika e Marosi (1986) reportaram 09 casos de neuropatia tardia após intoxicação por triclorfom. Durante os anos de 1971 a 1983 foram observados 70 casos de intoxicação por triclorfom (representados majoritariamente por tentativas de suicídio). Destes, 25 foram reexaminados no ano de 1984. Quatro pacientes apresentaram parestesia e fraqueza nas mãos de dois a três meses após o envenenamento, porém durante a reavaliação não apresentaram sintomas. Outros oito pacientes apresentavam um quadro severo de polineuropatia tardia. De 1,5 a 09 anos após a intoxicação, 07 pacientes apresentavam dificuldades de dorsiflexão, distúrbios de marcha, atrofia dos músculos distais, especialmente nos membros inferiores, e hiporreflexia do tendão de Aquiles. A eletromiografia revelou acentuada denervação distal nos músculos dos membros inferiores. Um paciente apresentava reflexo patelar marcante, clônus patelar e sinal de Babinski dois anos após o envenenamento; seus membros inferiores apresentavam acentuada espasticidade, deixando o paciente praticamente incapaz de andar. Dos pacientes reexaminados, 36% (n=09) apresentavam severos sinais residuais de polineuropatia tardia, principalmente do tipo motor distal. Em um dos casos os sinais de lesão no SNC persistiram.

Um caso de neuropatia provocada por um produto formulado com o ingrediente ativo triclorfom foi descrito por Vasilescu e Florescu (1980). Uma mulher de 33 anos se intoxicou após manusear um composto à base de triclorfom em um ambiente fechado, sem ventilação adequada. As possíveis vias de absorção foram a inalatória e/ou a dérmica. Duas semanas após a exposição a paciente apresentou parestesia e fraqueza

motora distal, principalmente nos membros inferiores. Ainda foram observados dificuldades na dorsiflexão e hipotonia muscular. A paciente não conseguia se locomover sem auxílio. O déficit motor foi acompanhado por ausência de reflexos no tendão de Aquiles. Os dados clínicos e eletrofisiológicos apontam para uma neuropatia motora distal que pode ter como causa principal a degeneração neuronal e axonal, corroborando com os estudos de Vasilescu (1979).

Shiraishi e colaboradores (1983) descreveram três casos de polineuropatia tardia em decorrência da intoxicação por triclorfom. Todos os casos apresentaram um estágio inicial de encefalopatia aguda, seguido por uma recuperação sem sintomas residuais e, finalmente, duas a três semanas após o envenenamento, os pacientes apresentaram neuropatia tardia. A avaliação histológica do nervo sural mostrou alterações axonais em todos os casos.

No primeiro caso descrito por Shiraishi e colaboradores (1983), uma mulher de 21 anos de idade ingeriu intencionalmente 50 ml de um produto formulado à base de triclorfom. Ela foi encontrada inconsciente, tendo recobrado os sentidos oito horas após, sem apresentar sintomas residuais. Duas semanas depois, ela apresentou formigamento nas extremidades e fraqueza nas pernas. Quatro meses após o incidente o exame neurológico revelou paralisia flácida com atrofia muscular moderada na porção distal dos membros inferiores e hiporreflexia do tendão de Aquiles.

No segundo caso de polineuropatia tardia descrito por Shiraishi e colaboradores (1983), uma mulher de 50 anos de idade ingeriu aproximadamente 60 ml de uma solução à base de triclorfom em uma tentativa de suicídio. Ela foi encontrada inconsciente e 10 horas após não apresentava sintomas de intoxicação. Catorze dias após o episódio ela apresentou formigamento e fraqueza muscular nas extremidades do corpo. A fraqueza muscular progrediu lentamente e foi mais severa nos membros inferiores. A sensação de formigamento permaneceu na porção distal das extremidades dos membros. O exame neurológico realizado 45 dias após a intoxicação demonstrou paralisia flácida e atrofia muscular nas extremidades. Foram constatadas diminuição dos reflexos radial e patelar e hiporreflexia do tendão de Aquiles. Uma leve perda de sensibilidade foi notada na porção distal das extremidades inferiores. Uma biópsia realizada nos nervos surais 49 dias após a ingestão mostrou redução moderada na densidade das fibras mielínicas grandes. Não foram evidenciadas alterações na densidade das fibras mielínicas pequenas e em fibras não mielinizadas. Houve aumento na frequência de fibras mielinizadas mostrando degeneração axonal.

Shiraishi et al (1983) descreveram um terceiro caso onde uma mulher de 42 anos de idade ingeriu acidentalmente 12 g de um produto formulado à base de triclorfom. Ela rapidamente perdeu a consciência, permanecendo nesse estado por sete dias. Ao recobrar a consciência, a paciente se recuperou quase que completamente, não apresentando sintomas residuais. Após um intervalo de 10 dias, a paciente desenvolveu uma paralisia flácida em todas as extremidades acompanhada de dor e sensação de queimação. Três meses após a ingestão, o exame neurológico revelou quadriplegia flácida com atrofia muscular que se manifestou mais severamente nas porções distais das extremidades. A paciente também desenvolveu distúrbios sensoriais, bexiga neurogênica autônoma e automatismo espinhal. A eletromiografia revelou padrões neurogênicos no bíceps e músculos tibiais anteriores. A biópsia dos nervos surais mostrou severa degeneração axonal. O histograma das fibras nervosas demonstrou profunda redução das fibras mielinizadas e preservação das fibras não mielinizadas. Um ano depois a paciente ainda apresentava espasticidade nas extremidades dos membros inferiores com reflexo de Babinski positivo.

Yamashita et al (1997) relataram 130 casos de envenenamento em humanos devido à exposição a organofosforados. Destes, 121 foram tentativas de suicídio (31 óbitos) e 09 foram exposições acidentais, ocorrendo uma morte. Os principais compostos envolvidos foram fenitrothion (47 casos; 10 mortes), malathion (20 casos, 05 mortes), diclorvos (16 casos; 05 mortes), triclorfom (08 casos; 03 mortes) e fenitrothion/malathion (07 casos; 02 mortes). A média de idade dos pacientes foi de 55 anos, com idades variando de 14 a 86 anos. A proporção homens/mulheres foi de 8:5, e a mortalidade foi de 25% (32/130). 72 pacientes necessitaram de ventilação mecânica. Outros sintomas de envenenamento por organofosforados não foram descritos.

Vasilescu, Alexianu e Dan (1984) descreveram 04 casos de envenenamento acidental por um inseticida formulado à base de triclorfom. Todos desenvolveram polineuropatia tardia, com neuropatia periférica e manifestações piramidais. A eletromiografia revelou denervação dos músculos distais dos membros inferiores em todos os pacientes. Nos quatro casos os pacientes apresentaram parestesia nos membros inferiores, fraqueza muscular, principalmente nas pernas, dificuldades nas dorsiflexão, na marcha e hipotonia muscular, além de hiporreflexia do tendão de Aquiles. Outras manifestações piramidais como o clônus patelar, perda de reflexos cutâneo-abdominais e sinal de Babinski surgiram em dois ou mais meses após a exposição. A estimulação dos nervos demonstrou falha na transmissão neuromuscular.

No primeiro caso descrito por Vasilescu, Alexianu e Dan (1984), uma mulher de 19 anos de idade ingeriu 20 g de um inseticida contendo o ingrediente ativo triclorfom. Trinta minutos após a ingestão a paciente apresentou dores abdominais, tontura, distúrbios de visão, diarreia, vômitos e hipotensão, permanecendo em estado comatoso por 01 hora. Apesar da administração de tranquilizantes, a paciente não conseguiu dormir por 04 noites e experimentou alucinações visuais. Duas semanas após a intoxicação aguda, paciente apresentou sensação de formigamento e queimação na região plantar e nos dedos dos pés, impossibilitando-a de andar. Após a administração de medicamentos os sintomas desapareceram. Três semanas após o envenenamento, apareceram sintomas como dificuldade de dorsiflexão e distúrbios na marcha, dificultando novamente a habilidade de andar. A paciente apresentava hiporreflexia do tendão de Aquiles. Também foi observada atrofia muscular nos membros inferiores, clônus patelar, perda de reflexos cutâneo-abdominais e sinal de Babinski do lado direito. A eletromiografia revelou denervação severa nos membros inferiores, denervação parcial nos membros superiores e falha na transmissão neuromuscular.

O segundo caso descrito por Vasilescu, Alexianu e Dan (1984) foi o de um homem de 22 anos que ingeriu concomitantemente 20 g de um inseticida contendo o ingrediente ativo triclorfom e 0,5 litros de álcool (brandy). O paciente entrou em um estado comatoso por 05 dias. Duas semanas após a intoxicação o paciente apresentou sensação de formigamento na região plantar e nos dedos dos pés, que desapareceram após tratamento. Uma semana depois a neuropatia impedia o paciente de andar. Houve hiporreflexia do tendão de Aquiles. Seis meses após a ingestão do composto, o paciente apresentava uma neuropatia motora distal (dificuldade de dorsiflexão, distúrbios no ortostatismo, distúrbios de marcha, hiporreflexia do tendão de Aquiles e atrofia dos músculos distais, predominantemente nos músculos dos membros inferiores) e manifestações piramidais nos segmentos proximais (clônus patelar, perda de reflexos cutâneos-abdominais e espasticidade muscular). O paciente foi acometido ainda pelo fenômeno de Raynaud nos membros inferiores (distalmente) com aumento da transpiração nos membros superiores e inferiores. Durante um ano e meio o paciente submeteu-se a fisioterapia e reabilitação intensivas, mas alguns sintomas como fraqueza nos membros inferiores persistiram, apesar de terem apresentado redução.

Em um terceiro caso, Vasilescu, Alexianu e Dan (1984) reportaram o caso de uma mulher de 32 anos de idade que se intoxicou com aproximadamente 25 g do composto. A paciente permaneceu em estado comatoso por quatro dias. Duas semanas

após a exposição ela desenvolveu parestesia dos membros inferiores e sensação de formigamento na planta dos pés. Após outras duas semanas a paciente apresentou sinais de neuropatia periférica (dificuldades na marcha, dificuldade de dorsiflexão, hiporreflexia do tendão de Aquiles, fraqueza nos membros superiores e inferiores, principalmente nas regiões distais do corpo, e fenômeno de Raynaud nos membros inferiores, principalmente nas extremidades). Seis meses após a intoxicação a paciente apresentou manifestações piramidais como redução dos reflexos cutâneo-abdominais.

Um homem de 38 anos se intoxicou após ingerir aproximadamente 20 g de inseticida à base de triclorfom. Uma semana após o envenenamento o paciente foi admitido em um hospital com gastrite aguda induzida pelo composto. Cinco semanas após a intoxicação o paciente desenvolveu neuropatia periférica (membros inferiores), com dores na panturrilha. Ele apresentava dificuldades para se locomover e hiporreflexia do tendão de Aquiles. Duas semanas após a ingestão o paciente apresentou clônus patelar (VASILESCU; ALEXIANU; DAN, 1984).

Um grande número de neuropatias induzidas por triclorfom ocorridas na antiga União Soviética têm sido discutidos. Doses estimadas de triclorfom de 200 a 500 mg/kg estavam relacionados a um quadro colinérgico agudo mais grave, durando de 4 a 7 dias, com início entre 1-3 semanas. Dados eletrofisiológicos e histopatológicos (quando disponíveis) eram consistentes com OPIDP. O envolvimento dos membros superiores foi freqüentemente observado. Em vários casos houve melhora na neuropatia dos membros superiores com desenvolvimento simultâneo de espasticidade nos membros inferiores (JOHNSON, 1981).

Vinte e quatro horas após exposição ocupacional ao triclorfom, um agricultor de 69 anos apresentou sintomas de intoxicação aguda por vários dias. Três meses depois ele desenvolveu polineuropatia sensitivo-motora, com parestesias e fraqueza nos membros inferiores, levando-o a andar amparado. Concomitantemente ele desenvolveu a mesma sintomatologia nas mãos, dificultando-o no segurar dos objetos. O exame neurológico revelou amiotrofia dos interósseos das mãos, com flexão dos dedos. A marcha era do tipo escarvante bilateral. A força estava diminuída nas extremidades dos quatro membros, com predomínio da musculatura extensora. Os reflexos superficiais e profundos estavam abolidos, exceto os tricipitais. Havia diminuição das sensibilidades tátil, térmica e dolorosa dos joelhos e dos cotovelos para baixo. A sensibilidade profunda estava abolida nos membros inferiores. A eletromiografia evidenciou aumento da atividade de pós-inserção, com quadro mais intenso nos músculos distais. As

velocidades de condução nervosa motoras e sensitivas estavam bem reduzidas nos nervos dos membros inferiores (mais de 50% de redução) e menos nos nervos dos membros superiores, com sinais de denervação. A biopsia do nervo sural mostrou degeneração axonal e transformação granular do axoplasma com perda dos neurofilamentos e neurotúbulos e mitocôndrias degeneradas. Foram também observados macrófagos contendo no citoplasma material eletrodense fagocitado, sugerindo desturção completa das fibras, inclusive da mielina. O exame de fibras isoladas mostrou fibras mielínicas de grande calibre fragmentadas e retraídas, caracterizando degeneração Walleriana (DE FREITAS et al, 1990).

Roberts e colaboradores (2005) descreveram um caso de polineuropatia tardia em um paciente, cinco semanas após um quadro colinérgico agudo em decorrência à exposição crônica a baixas doses de triclorfom.

Polineuropatia retardada progressiva foi descrita em um homem em 2-8 semanas após a ingestão de uma grande quantidade de um OP formulado à base de triclorfom. Após envenenamento agudo o paciente apresentou sintomas típicos de neuropatia causada por OP (HIERONS; JOHNSON, 1978).

Rayner et al (1972) evidenciaram alta incidência de hiporreflexia do tendão de Aquiles em trabalhadores expostos cronicamente a OPs, inclusive o triclorfom, sugerindo que a avaliação do reflexo desse tendão possa ser utilizado como um dos parâmetros de avaliação de intoxicação decorrente de exposições prolongadas.

Estudos desenvolvidos por Sheets et al (1997) para avaliar efeitos subcrônicos de seis OP evidenciaram que o triclorfom é responsável pela ocorrência de desmielinização das raízes dos nervos espinhais, todavia sem comprometimento dos axônios. Essa característica da lesão merece estudos mais acurados, uma vez que diferencia-se do mecanismo usualmente presente na fisiopatologia da polineuropatia retardada, onde a lesão dos axônios está presente.

4.5.6 Estudos experimentais de neurotoxicidade

4.5.6.1 Estudos de Neurotoxicidade

Estudos neuroquímicos

Um estudo de neurotoxicidade dosou as colinesterases plasmática e cerebral e a esterase neuropática alvo cerebral (NTE) em três diferentes linhagens de galinhas.

Galinhas Babcock foram tratadas com 800 mg/kg de fosfato de triortocresil (TOCP) ou 80mg/kg de triclorfom. Todas as aves receberam uma dose oral única dos compostos entre 8 e 9h. O grupo tratado com TOCP apresentou 82% de inibição da NTE cerebral quando comparado com o grupo controle, e nenhuma ave exibiu sintomas clínicos de neuropatia tardia induzida por organofosforado (OPIDIN). As galinhas da linhagem Hy-line w36 receberam 1600 mg/kg TOCP e apesar da alta dose, a inibição de NTE cerebral foi similar à apresentada pelas galinhas Babcock. Galinhas Isabrown receberam 1600 mg/kg TOCP ou 80 mg/kg triclorfom. Em 36h todas as galinhas tratadas com triclorfom apresentaram de **80 a 90% de inibição da colinesterase plasmática e cerebral**, quando comparado ao grupo controle. No entanto, a NTE cerebral estava inibida menos de 20% e não foram observados sinais de OPIDIN. Todas as galinhas isabrown testadas apresentaram mais que **80% de inibição da NTE cerebral** enquanto que uma delas exibiu sinais claros de **OPIDIN**, e duas ficaram totalmente paralisadas. O autor informa que esses dados sugerem que a linhagem da galinha foi importante no aparecimento do OPIDIN. Além disso, que 70-80% de inibição da NTE foi necessária, mas não suficiente para produzir OPIDIN em galinhas, uma vez que as galinhas babcock e hy-line w36 exibiram 70-80% de inibição de NTE sem sinais clínicos de OPIDIN (HONORATO DE OLIVEIRA et al, 2002).

Abdelsalam (1999) avaliou o potencial neurotóxico do **triclorfom**, fosmete, diclorvós, fosfamidon e coumafós através de da inibição da atividade NTE cerebral em galinhas adultas. O leptofós foi usado como agente neurotóxico de referência. Todos os compostos foram administrados em dose única alta via oral e as **atividades da NTE e da AChE** foram medidas 24h e 6 semanas depois. Todos os compostos produziram sinais colinérgicos severos associados com inibição da AChE > 80% em 24 h. Por outro lado, a atividade da NTE cerebral foi inibida 86% pelo leptofos e em menor extensão pelo triclorfom (76%), fosfamidon (74%), coumafós (70%) e diclorvós (70%). No entanto, nenhum dos compostos produziu neurotoxicidade tardia clínica como observado com o leptofós. O autor concluiu que o triclorfom, fosfamidon, coumafós e diclorvós são potencialmente neurotóxicos devido às suas capacidades de inibir a atividade da NTE cerebral, mas o alcance de inibição necessária para o desenvolvimento de neurotoxicidade tardia clinica (> 80%) provavelmente não ocorreu com esses compostos devido as suas atividades colinérgicas severas.

Um estudo realizado por Xie et al (1998) comparou a concentração tecidual do diptex (ingrediente ativo: triclorfom) e a inibição da NTE entre grupos de galinhas

(n=8), que foram tratados, por via oral (**vo**), intravenosa (**iv**) ou subcutânea (**sb**), com o inseticida dipterex. A concentração tecidual do dipterex no grupo **sc** foi maior que nos grupos expostos via **iv** e **vo**. Quando expostos subcutaneamente, a concentração tecidual do dipterex foi maior no cérebro, cordão espinhal e músculos pelas 3h subsequentes. Após a exposição intravenosa e oral, o dipterex estava disperso em vários tecidos. Todas as galinhas tratadas com dipterex apresentaram sinais de neurotoxicidade aguda 15 min após a exposição. As galinhas expostas por via **iv** se recuperaram da intoxicação dentro de um período de 3h, e as galinhas expostas oralmente recuperaram-se em 6 h, enquanto as galinhas tratadas subcutaneamente recuperaram-se após 24h do tratamento. Uma galinha do grupo **sc** exibiu sequelas neurológicas agudas. Não foram observadas diferenças na atividade de NTE entre o cérebro e o cerebelo. No cérebro e no mesencéfalo, a **atividade de NTE** no grupo **vo** foi menor que no grupo tratado por via **iv** e **sc**, e nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos **iv** e **sc**. No cerebelo, a inibição da atividade no grupo **sc** foi maior que nos grupos **iv** e **vo**. Esses resultados indicam que o tratamento com dipterex por via **sc** resulta em uma maior neurotoxicidade quando comparado com o tratamento por via **iv** e **vo**.

Varsik et al (2005) realizaram um estudo de neurotoxicidade com codornas (*Coturnix coturnix japonica*). Neuropatia periférica foi induzida nos animais após exposição crônica a OP. Após 04 semanas, os animais apresentaram os primeiros sintomas de envenenamento pós OP (apatia, diarreia). Durante o segundo mês de administração diária da substância tóxica, uma aparente **neuropatia periférica e autônoma com ataxia** foi desenvolvida. Distúrbio tóxico do sistema nervoso foi confirmado pelo exame do potencial somatosensorial cortical e espinhal (SEP) produzido após estimulação do nervo tibial. O prolongamento do tempo de condução periférica confirmou a lesão nervosa periférica. Os autores sugerem que essas alterações eletrofisiológicas e clínicas reveladas por distúrbios do sistema nervoso são causadas pelo fluxo axonal vagaroso e parado, transporte de proteínas e outras substâncias, bem como demielinização do axônio.

Estudo neuro-comportamental

Sheets et al (1997) realizaram um estudo para avaliar os efeitos neurotóxicos de seis organofosforados (sulprofos, disulfoton, azinphos-methyl, metamidofós, **triclorfom** e tebupirimfós) em ratos FISHER 344. Os animais, separados em grupos com 4 níveis de doses, receberam os OP através da dieta durante 13 semanas. Para cada estudo, 12

ratos/sexo/nível de dieta participaram do teste de comportamento, onde foi usado o teste bateria observacional funcional (FOB), medida da atividade automática e observações clínicas detalhadas, e metade dos animais foram perfundidos para avaliação microscópica dos tecidos neurais e nervosos. Grupos separados de animais satélites (6/sexo/nível de dieta) foram usados para medir o efeito do tratamento sobre a atividade da colinesterase cerebral (ChE), eritrocitária (RBC) e plasmática. Os resultados mostraram que a medida da atividade da ChE foi o índice de exposição mais sensível e ajudou na interpretação dos achados. O autor sugere que os achados neuro-comportamentais relacionados ao tratamento foram atribuídos à toxicidade colinérgica, ocorrendo em níveis que produziram mais que 20% de inibição da atividade colinesterásica plasmática, eritrocitária e cerebral.

Estudos in vitro

Um estudo realizado por Ehrich et al (1997) demonstrou linhagens de células neuroblastoma (SH-SY5Y humana e NB41A3 murina) que podem ser usadas para diferenciar os OP neuropáticos (i.e., aqueles que inibem a NTE e causam neuropatia tardia induzida por organofosforados) e os OP neurotóxicos agudos (i.e., aqueles altamente capazes de inibir a AChE). Esses experimentos demonstraram que a capacidade para inibir a AChE foi 100x maior que a capacidade para inibir NTE por tóxicos agudos, OP neuropáticos (paraoxon e malaoxon) em ambas as linhagens celulares. A inibição da AChE foi maior que a inibição do NTE para os OP que são mais prováveis de causar efeitos neurotóxicos agudos *in vivo* (clorpirifós-oxon, diclorvós e **triclorfom**). Em contraste, a concentração de inibição da AChE e NTE coincidiu com os OP que causam neuropatia. Por exemplo, o valor de IC50 aparente para a inibição de NTE foi menor que 9,6-vezes que o valor IC50 aparente para inibição da AChE quando as células foram expostas a OP indutores de neuropatia. Em todos os casos, a inibição da esterase ocorreu em concentrações menores que aquelas necessárias para citotoxicidade. Esses resultados sugerem que as linhagens celulares de neuroblastoma humana e murina podem ser consideradas um modelo *in vitro* útil para distinguir OP neurotóxicos inibidores de esterase.

4.5.6.2 Estudos de Neurotoxicidade do Desenvolvimento

Cobaias

Berge et al (1986) avaliaram os efeitos da exposição pré-natal ao triclorfom sobre o cérebro de cobaias. Grupos de 10 cobaias fêmeas brancas receberam seis doses de 100 mg triclorfom/kg por gavagem entre os dias 36-38 e 51-53 de gestação. Um grupo controle foi formado com sete fêmeas e todos os animais deram a luz naturalmente. O número de abortos e fetos nascidos mortos estava aumentado e o peso corporal fetal estava diminuído nos animais pertencentes a todos os grupos tratados com triclorfom. Os filhotes das mães tratadas desenvolveram **distúrbios locomotores e tremores**. Foi realizada a necrópsia dos animais nos dias 2-3 pós-natal e o peso total do cérebro, cerebelo, medula, córtex cerebral, hipocampo, tálamo e colículo estavam reduzidos. O cerebelo apresentou redução das camadas moleculares e granulares externas, com ausência regional das células de Purkinge. As **atividades das enzimas neurotransmissoras AChE e glutamato carboxilase no cerebelo estavam diminuídas** quando comparado com o grupo controle (BERGE et al, 1986).

Mehl et al (1994) realizaram um estudo para avaliar o efeito do triclorfom e outros organofosforados sobre o desenvolvimento pré-natal do cérebro de cobaias. As cobaias receberam os seguintes OP entre os dias 42 e 46 de gestação: triclorfom, diclorvós (metabólito do triclorfom), dimetoato, somam, triortocresilfosfato (TOCP) e análogo dietoxi-triclorfom (O, O-diethyl 2,2,2-trichloro-1-hydroxyethylphosphonate, ethyl-trichlorfon). Foi realizada análise dos filhotes ao nascimento, na qual se observou severa **redução do peso do cérebro** dos animais expostos ao triclorfom e diclorvós. Essa redução do peso foi mais pronunciada no cerebelo, na medula oblongata, no tálamo/hipotálamo e na lâmina quadrigêmina. O efeito foi menos marcante no córtex cerebral e hipocampo. Uma vez que o somam, um potente anticolinesterásico, e TOCP, um inibidor da NTE, não apresentou qualquer efeito, excluindo que a hipoplasia cerebral possa ter sido causada pela inibição dessas duas enzimas. Além disso, a falta de efeito com o etil-triclorfom pode ajudar na elucidação do envolvimento do triclorfom na formação da hipoplasia. Sugere-se que a alquilação do DNA pode estar envolvida no desenvolvimento da lesão. Portanto, a possível consequência de um efeito teratogênico causado pelo triclorfom e diclorvós para os humanos deve ser discutida.

Hjelde et al (1998) realizaram um estudo de neurotoxicidade do desenvolvimento para avaliar a dose e o período de exposição de maior sensibilidade responsável por produzir hipoplasia cerebral em filhotes de cobaias expostos durante a gestação. Diferentes doses de triclorfom foram administradas as cobaias durante 3 dias consecutivos da gestação, em diferentes períodos, via subcutânea ou por entubação

gástrica. Os filhotes foram sacrificados imediatamente após a cesárea, e diferentes regiões do cérebro foram dissecadas e pesadas. Os resultados mostraram que a dose mínima necessária por três dias consecutivos é de 100mg triclorfom/kg, e que para o cerebelo o período mais sensível foi do dia 42 a 44 de gestação e para o córtex cerebral o período gestacional mais vulnerável foi do dia 48 a 50 de gestação. A substância pode ser administrada por via oral ou subcutânea e quase todas as regiões do cérebro apresentaram redução de peso. O cerebelo foi a região mais vulnerável, mas a medula e o hipotálamo também apresentaram acentuada redução do peso. O mecanismo responsável por esse **efeito teratogênico**, até o momento desse estudo, ainda não era conhecido, mas o autor especulou sobre a alquilação do DNA ou que efeitos sobre o mecanismo de reparo podiam ser os responsáveis.

É sabido que o tratamento de cobaias grávidas com triclorfom do dia 42 de gestação ao dia 47 de gestação, período de rápido crescimento cerebral e de desenvolvimento das células granulares cerebrais, causa **hipoplasia cerebelar nos filhotes**. Um estudo de neurotoxicidade *in vitro* foi realizado para verificar qual o fator é responsável pela hipoplasia cerebral em cobaias após a exposição ao triclorfom. Células granulares de ratos morreram após a exposição *in vitro* ao triclorfom e diclorvós por 24h, enquanto que a exposição ao tricloroetanol não apresentou efeito. No entanto, quando as células foram expostas ao triclorfom e diclorvós por 3 horas, somente o diclorvós apresentou efeito letal indicando que este metabólito é mais potente que o triclorfom. Cultura de células granulares cerebelar também é sensível a outros agentes alquilantes de DNA tal como metilazoximetanol e sulfonato metilmetano e O6-benzilguanina; um inibidor específico e potente da DNA alquiltransferase. Os compostos organofosforados também causam inibição da alquiltransferase e os efeitos letais dos compostos testados sobre a cultura de células granulares se correlacionaram bem como potência da inibição. Em sistema teste bacteriano o diclorvós demonstrou ter forte efeito de alquilação do DNA. Os autores sugerem que os resultados indicam que a alquilação do DNA e a inibição do seu reparo podem contribuir para a hiperplasia cerebral observada após a exposição ao triclorfom e diclorvós durante o período de desenvolvimento (MEHL et al, 2000).

Fonnum e Lock (2000) descreveram que as células de Purkinje e as células granulares são os principais alvos no cerebelo para substâncias tóxicas. As células de Purkinje estão entre as maiores células neuronais no cérebro e são muito sensíveis a isquemia, bilirrubina, etanol e difenilidantoina. As células granulares são pequenas e

aparecem como sendo sensíveis à perda da glutathiona intracelular, sendo sensíveis a tiofeno, metilmercúrio, ácido 2-cloropropionico e ao **triclorfom**. As células de Purkinje aparecem no cérebro dos ratos entre os dias 14 e 16 pré-natais, enquanto que as células granulares aparecem no período pós-natal. Ambas as células são sensíveis a químicos citotóxicos e também a efeitos sobre o DNA e seus mecanismos de reparo.

Mehl et al (2007) realizaram um estudo para verificar os efeitos do triclorfom sobre o desenvolvimento do cerebelo de cobaias. Os animais foram expostos a 125 mg/kg triclorfom do dia 42 ao dia 44 de gestação. O **triclorfom causou hipoplasia no cérebro dos filhotes** sem nenhuma redução significativa do peso corporal. A hipoplasia pode ter sido causada pelo triclorfom ou pelo seu metabólito, o diclorvós. Esse período de desenvolvimento coincide com o período de crescimento cerebral das cobaias. As maiores alterações ocorreram no cerebelo e o exame realizado através da microscopia eletrônica do córtex cerebelar mostrou o **aumento de células mortas por apoptose na camada de células granulares** após o tratamento com o triclorfom. Também foi observada redução da espessura da camada germinativa externa do córtex cerebelar e uma quantidade aumentada de células picnóticas e cariorrexia na camada de células granulares. Observou-se redução significativa das atividades da AChE, glutamato descarboxilase e colina acetiltransferase no cerebelo, indicando uma forte neurotoxicidade do triclorfom e do diclorvós durante o período do desenvolvimento.

Porcos

Tremores congênitos têm sido descritos em rebanhos nos quais as porcas foram tratadas com preparações contendo triclorfom entre os dias 45 e 63 de gestação. Clinicamente, a síndrome caracterizou-se por ataxia, tremores, pronunciada hipoplasia do cerebelo e redução do tamanho da medula espinhal (WHO, 1992). Essa síndrome foi reproduzida experimentalmente em porcas que receberam dietas com uma a quatro doses de 50-100 mg/kg pc/dia do dia 55 de gestação ao dia 98 de gestação. Os filhotes apresentaram alta incidência de **sinais neurológicos e hipoplasia cerebelar**. O exame histopatológico revelou perdas irregulares das células de Purkinje no cerebelo. No período pós-natal, a taxa de aumento do peso do cérebro foi similar a do controle, mas esses animais não alcançaram mais que 35 dias de vida pós-natal (KNOX et al, 1978; POPE et al, 1986; BERGE et al, 1987a,b apud WHO, 1992; 2000).

O triclorfom, assim como outros compostos organofosforados, tem elevado potencial **neurotóxico**. Diversos estudos publicados na literatura científica (HONORATO DE OLIVEIRA et al, 2002; ABDELSALAM, 1999; XIE et al, 1998) descrevem a capacidade do triclorfom de **inibir as atividades da colinesterase plasmática, eritrocitária e cerebral**, bem como de **inibir a atividade da esterase neuropática alvo (NTE)**. Como consequência dessa toxicidade, isto é, desses efeitos adversos a nível neuroquímico, o triclorfom pode causar, também, alterações comportamentais (SHEETS et al, 1997), tais como 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.

Outros estudos publicados pela WHO (2000) e sumarizados na tabela 4 demonstram os efeitos **neurocomportamentais** do triclorfom. Em um estudo, ratos que receberam 200mg/kg de triclorfom durante 13 semanas apresentaram diminuição da atividade locomotora e perda da coordenação (AVERBOOK; ANDERSON, 1983), enquanto ratos que receberam 30mg/kg de triclorfom por 3 semanas mostraram aumento da locomoção (agitação) e diminuição da capacidade de aprendizado e velocidade de condução nervosa. Vários estudos em galinhas demonstraram efeitos neurotóxicos do triclorfom após uma única dose, sendo fraqueza nas pernas, capacidade de andar prejudicada e diminuição da atividade, os principais efeitos vistos logo após o tratamento. Após a exposição de macacos a dose única de 250mg/kg de triclorfom por dia, foi observado dano na condução nervosa quatro semanas após o tratamento e, também foram encontradas evidências histológicas de demielinização dos nervos e degeneração axonal.

Estudos *in vitro* indicam também que o triclorfom em capacidade de causar efeitos neurotóxicos a nível anatômico, como alterações nos axônios (FLASKOS et al, 1999).

Os estudos de **neurotoxicidade do desenvolvimento** são realizados com o objetivo de revelar dados sobre o potencial prejuízo morfológico e funcional ao sistema nervoso central, que podem surgir em filhotes após a exposição materna a substâncias químicas durante o período de gestação e/ou lactação. Diferentes estudos científicos relacionados aos efeitos adversos sobre o **neuro-desenvolvimento** de cobaias e porcos expostos ao triclorfom foram publicados (BERGE et al., 1986; MEHL et al, 1994; HJELDE et al, 1998; MEHL et al, 2000; FONNUM; LOCK, 2000; MEHL et al, 2007).

Esses estudos descreveram **distúrbios locomotores e tremores, diminuição do peso total do cérebro, cerebelo, medula, córtex cerebral, hipocampo e tálamo**, o aumento de células mortas por apoptose na camada de células granulares do córtex cerebral, acentuada hipoplasia cerebelar, entre outros efeitos neurotóxicos, em cobaias expostos ao triclorfom *in utero*.

BERGE et al (1987a,b apud WHO, 2000) observaram tremor congênito com marcante hipoplasia cerebelar em porquinhos cujas mães foram tratadas com triclorfom, e a síndrome foi reproduzida experimentalmente. Os porquinhos expostos *in utero* a 50-100 mg/kg de triclorfom por dia apresentaram sinais neurológicos e hipoplasia e perda das células de Purkinje no cerebelo.

O conjunto de dados descritos acima indica que o triclorfom tem elevada capacidade de **causar efeitos neurotóxicos de caráter neuroquímico e neurocomportamental, danos anatômicos celulares e, principalmente, efeitos neurotóxicos sobre os animais em desenvolvimento.**

Tabela 4: Resumo dos estudos de neurotoxicidade do triclorfom (adaptado do WHO, 2000)

Espécies	Tratamento	Resultados	Referencias
Ratos	30 mg/kg por via oral	Locomoção aumentada, diminuição do desempenho no rotor, da capacidade de aprendizado e da velocidade de condução nervosa.	Lehertzky (1982) apud WHO, 2000
Ratos	0, 85, 438 ou 2275 ppm na dieta durante 13 semanas	2275 ppm: redução da atividade motora e locomotora, reposta levemente descoordenada, 30-80% de inibição da AChE cerebral, eritrocitária e plasmática, e demielinização da raiz do nervo espinhal. 438 ppm: 20-30% da inibição da atividade colinesterasica eritrocitária e plasmática.	Sheets; Hamilton (1995) apud WHO, 2000
Galinhas	90 mg/kg dose única por via sc	Fraqueza nas pernas por dois dias, não teve paralisia tardia.	Witter; Gaines (1993) apud WHO, 2000
Galinhas	25-500 mg/kg dose única por via oral; ou 75-500 mg/kg via ip	As aves que sobreviveram à toxicidade aguda do triclorfom não apresentaram sinais de neurotoxicidade em 6-10 semanas.	Lorke; Kimmerle (1996) apud WHO, 2000
Galinhas	100-5000 ppm na dieta por 30 dias	Perda de peso corporal \geq 500ppm. Diminuição de 40-60% da atividade colinesterasica sanguínea em todas as doses, mas não foi observado sinais de neurotoxicidade e degeneração do tecido nervoso.	Lorke; Kimmerle (1996) Hobik (1967), FAO/WHO (1972) apud WHO, 2000
Galinhas	200 mg/kg dose única por via SC	Uma galinha morreu 1,5h após a exposição, quando 46% NTE foi inibido no cérebro e 17% no cordão espinhal.	Hierons; Johnson (1978) apud WHO, 2000
Galinhas	Dose única de 50 e 100mg/kg via oral; 50, 100 e 200mg/kg via sc; ou 200 +100mg/kg via sc 3 dias a parte	Mortes doses-relacionadas somente após dose oral. Todos os tratamentos apresentaram efeitos agudos; ataxia a partir do dia 11-17 após o tratamento. 40-60% diminuição da NTE cerebral na maior dose por via sc, e 20% \leq 100mg/kg. Alterações degenerativas vistas no cerebelo, brainstem e estriato em altas doses.	Olajos et al (1979) apud WHO, 2000
Galinhas	185mg/kg via oral, sobreviventes receberam 167 mg/kg por mais 21 dias	Sinais de intoxicação aguda sem alterações patológicas do tecido nervoso.	Thyssen et al (1982) apud WHO, 2000
Galinhas	100 ou 300 mg/kg via SC	Marcante inibição da atividade da colinesterase plasmática, cerebral e cordão espinhal (50-60%).	Slott; Ecobichon (1984) apud WHO, 2000
Galinhas	100 mg/kg via sc todas às 72h por seis doses	10-60% inibição da atividade da colinesterase plasmática, cerebral e cordão espinhal, e capacidade andar prejudicada.	Slott; Ecobichon (1984) apud WHO, 2000
Galinhas	3, 9 ou 18mg/kg por gavagem durante 3 meses	18mg/kg: Sinais de ataxia e diminuição da atividade. Atividade colinesterasica diminuída em todos os grupos, mas sem dano ao tecido nervoso.	Hayes; Ramm (1987) apud WHO, 2000
Galinhas	Dose única (gavagem) de 340mg/kg, 220 mg/kg (-) – enantiomero, ou 400 mg/kg (+) –enantiomero	Sinais agudos de intoxicação, mortes e marcante (90%) inibição da atividade da colinesterase cerebral. <50% inibição NTE no cérebro, cordão espinhal e nervo ciático; nenhuma alteração no andar e no tecido nervoso.	Bomann; Kaliner (1996) apud WHO, 2000
Macacos (M. fuscata)	250mg/kg dose única por gavagem	Fraqueza nas extremidades no dia 24 e defeito na condução nervosa no dia 28. No dia 37, demielinização do nervo sural e tibial com aumento da degeneração axonal.	Shiraishi et al (1983) apud WHO, 2000

4.6 Imunotoxicidade

Os agrotóxicos organofosforados, a exemplo do triclorfom, desregulam o sistema imune e afetam mecanismos imunológicos específicos (humorais) e não específicos (celulares). A exposição crônica a baixas doses durante períodos prolongados pode reduzir as respostas imunes humorais. Barnett, 1994 apud Repetto; Baliga, 1996 demonstrou que os agrotóxicos também reduzem a resistência do hospedeiro à infecção viral e bacteriana em animais. Essas alterações estão descritas na Tabela 5.

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

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

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

Hermanowicz e Kossman (1984) examinaram a função de neutrófilos e a prevalência de doenças respiratórias infecciosas em trabalhadores expostos ocupacionalmente a agrotóxicos organofosforados em estudos epidemiológicos do tipo caso-controle. A inibição de colinesterase plasmática e eritrocitária foi correlacionada com diferentes níveis de exposição. Também foi observada uma correlação positiva entre a incidência de infecção e a amplitude da exposição.

Alguns estudos apresentados na Tabela 5 revelam que a exposição aos organofosforados reduz significativamente a resistência às infecções virais, bacterianas e fúngicas e diminui a resistência ao crescimento de tumores em animais.

Tabela 5: Estudos para avaliação da imunotoxicidade de associados ao Triclorfom

Desfecho observado	OP	Espécie (via de exposição)	Direção do efeito
Proliferação linfócitos T	carbofenotiona, crufofomato, diclorvós, malation, parationa metílica, mevinfós triclorfom	homem, camundongo, carpa (in vitro)	↓
Atividade de macrófagos, neutrófilos e células EN	diclorvós, naled, tetracorvinfos, triclorfom	homem (<i>in vitro</i>), carpa (oral e dérmica)	↓
Fagocitose de macrófagos	diazinon, EPN, fenitrotion, fention, triclorfom	camundongo e rato (oral), carpa (dérmica)	↓
Resistência do hospedeiro (células tumorais)	diazinon, EPN, fenitrotion, fention, triclorfom	camundongo (oral)	↓

SC: subcutânea.

Fonte: Modificado de REPETTO; BALIGA, 1996.

4.6.1 Efeitos Imunotóxicos desencadeados pela exposição ao Triclorfom

Por ser utilizado no tratamento de ectoparasitas de peixes, existem alguns estudos dos efeitos do triclorfom nessa espécie. O triclorfom provocou imunossupressão em peixes expostos a concentrações de 0,2 e 0,4 mg/L durante 144 horas. Os peixes da espécie *Macrobrachium rosenbergii* foram inoculados com o patógeno *Lactococcus garvieae*. Alguns parâmetros imunológicos com a atividade fagocítica e a susceptibilidade à infecção ao patógeno estavam diminuídos, indicando efeito imunossupressor do triclorfom (Chang et al, 2006).

Peixes da espécie *Cyprinus carpio* foram expostos ao triclorfom (10.000 e 20.000 ppm). Foram observados efeitos sugestivos de imunossupressão como leucopenia, diminuição da capacidade fagocítica de neutrófilos, do índice fagocítico e dos níveis de lisozimas séricas (SIWICKI et al, 1990).

Outra questão de crucial relevância é a transformação do triclorfom em diclorvós no organismo. Conseqüentemente alguns efeitos imunotóxicos induzidos pelo diclorvós devem ser considerados quando da avaliação do potencial imunotóxico do triclorfom.

Em um estudo *in vitro* com células de peixes expostas ao triclorfom ou ao diclorvós foram observados efeitos supressores dose-dependentes (DUNIER; SIWICKI; DEMAËL, 1991). Em outro estudo *in vitro*, realizado somente com o diclorvós, foi

observada uma inibição significativa da proliferação de células de camundongos dependentes de interleucina-2 (IL-2) (CASALE et al, 1993).

Em coelhos expostos a doses baixas de diclorvós (40, 20 e 10 vezes abaixo da DL50), a resposta à vacinação foi estudada de modo a avaliar a resposta imune humoral e resposta imune mediada por células. Nos animais expostos ao triclorfom foi observada uma diminuição dos anticorpos séricos de maneira dose-dependente (DESI; VARGA; FARKAS, 1980). Em estudo anterior já havia sido observada a diminuição da resposta imune induzida por *Salmonella typhi* em soro de coelhos expostos ao diclorvós (DESI; VARGA; FARKAS, 1972).

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

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

País	Status Regulatório
Alemanha	Banido
Austrália	Prioridade 1 para ser revisado devido ao alto potencial de causar danos à saúde humana e ao meio ambiente
Canadá	Uso restrito
Outros	Fora do Anexo I da Diretiva 91/414/EEC da União Européia.

6. Conclusões e Recomendações

Pela Lei brasileira N° 7.802/89 de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 1989), um agrotóxico pode ter seu registro banido quando: da ausência de métodos para desativação do produto; da ausência de antídoto ou tratamento eficaz; quando são teratogênicos, carcinogênicos ou mutagênicos, de acordo com os resultados atualizados de experiências da comunidade científica; quando provoca distúrbios hormonais ou danos ao aparelho reprodutor, de acordo com procedimentos e experiências atualizadas

na comunidade científica; que se revele mais perigoso para o homem do que em animais; e cujas características causem danos ao ambiente.

As pesquisas científicas têm demonstrado que o triclorfom apresenta efeito tóxico sobre diferentes órgãos e sistemas em humanos.

O triclorfom tem elevada capacidade de causar efeitos neurotóxicos de caráter neuroquímico e neurocomportamental, danos anatômicos celulares e, principalmente, efeitos neurotóxicos sobre os animais em desenvolvimento gestacional.

O principal mecanismo de neurotoxicidade do triclorfom decorre da inibição da acetilcolinesterase, enzima essencial para a transmissão normal do impulso nervoso. A intoxicação aguda por triclorfom induz uma série de efeitos deletérios sobre a saúde de humanos e animais. Há evidências científicas de que a ação do triclorfom sobre a acetilcolinesterase em mamíferos se manifesta de forma lenta, devido principalmente a sua biotransformação em diclorvós. Como consequência, o quadro sintomatológico pode se manifestar mais tardiamente, após um período de latência, e evoluir de maneira crescente, mesmo depois de cessada a exposição.

As manifestações clínicas geralmente se relacionam aos efeitos colinérgicos. Podem ocorrer manifestações como vômito, diarreia, sudorese excessiva, salivação, lacrimejamento, miose, broncoconstrição, cólicas abdominais, taquicardia, dor de cabeça, tontura, cansaço, ansiedade, confusão mental e visão turva. Em casos mais graves pode ocorrer depressão do centro respiratório. Há registros importantes de casos de hemólise aguda e comprometimento da função renal decorrentes da exposição ao triclorfom.

Os efeitos neurotóxicos crônicos provocados pela exposição ao triclorfom manifestam-se através da inibição da esterase neuropática alvo que foi observada em doses abaixo da DL_{50} . Portanto o triclorfom tem o potencial de causar **neuropatia retardada**. Nesta pode haver perda da sensibilidade, fraqueza muscular progressiva, espasmos, hiperreflexia, ataxia e paralisia flácida que pode se estender para os membros superiores e inferiores, com perda da coordenação motora. Mesmo quando a lesão nos nervos periféricos se estabiliza, danos à medula espinhal podem persistir com quadros espásticos, ataxia ou quadriplegia.

A literatura científica mundial tem registrado a ocorrência de inúmeros casos de **polineuropatia retardada** associada à exposição ao triclorfom. Estima-se que a polineuropatia retardada se manifesta em cerca de 21% dos casos de envenenamento por triclorfom, após a recuperação do quadro sintomatológico da intoxicação aguda.

Estudos comparativos entre humanos e animais, que desenvolveram intoxicação aguda seguida à exposição ao triclorfom, têm demonstrado que o **efeito neurotóxico** desse agrotóxico se manifesta de maneira mais agressiva em humanos do que em animais, conformando assim uma situação passível de banimento desse ingrediente ativo no produto no Brasil, conforme destaca a Lei 7.802/89.

Os estudos experimentais encontrados na literatura científica apontam que o triclorfom, assim como o diclorvós, seu principal produto de biotransformação, provocam a **diminuição da resposta imunológica** mediada por células e imunidade humoral. Esses efeitos imunossupressores podem aumentar a suscetibilidade de indivíduos expostos ao triclorfom a infecções por patógenos e **aumentar a incidência de neoplasias**.

O triclorfom pode desencadear um **desequilíbrio do hormônio progesterona**, e como consequência levar a ciclos menstruais irregulares, aumento do fluxo sanguíneo menstrual, indução de endometriose e útero fibróide, irritabilidade, alterações de humor e infertilidade. Esses efeitos são extremamente deletérios, repercutindo na saúde física e mental dos seres humanos, refletindo no seu **desempenho reprodutivo**.

A análise dos estudos de toxicidade reprodutiva e do desenvolvimento apresentados anteriormente permite concluir que o triclorfom apresenta elevada toxicidade materna, **efeitos embriofetotóxicos e teratogênicos** em diferentes espécies animais. Os principais sinais de toxicidade observados em estudos experimentais foram: redução da fertilidade, diminuição das ninhadas, redução do peso corporal dos filhotes, diminuição do peso da placenta, marcante redução na taxa de gestação, aumento da taxa de mortalidade dos filhotes, efeitos teratogênicos como, por exemplo, fenda palatina, alterações morfológicas do crânio, sistema nervoso central e patas, micrognatia, hematomas faciais, edema generalizado e malformações no sistema urinário, costelas fundidas.

Uma das razões que proíbe o uso de agrotóxicos segundo o artigo 3º da lei 7.802/89, descrita na alínea d, refere-se àqueles que “são teratogênicos, que provoquem distúrbios hormonais, danos ao aparelho reprodutor, de acordo com procedimentos e experiências atualizadas na comunidade científica”.

Essa mesma Lei destaca ainda que a comprovação de mutagenicidade gênica e/ou cromossômica de um agrotóxico é também suficiente para proibição de seu registro. A genotoxicidade do triclorfom descrita na literatura foi avaliada em sistemas *in vitro* e *in vivo* com observações de mutações gênicas, aberrações cromossômicas,

indução de micronúcleos, danos o DNA, entre outros. A genotoxicidade desse composto não se restringe apenas ao ingrediente ativo, mas também a alguns de seus metabólitos: o diclorovós, o dicloroacetaldeído e o ácido metil ester 2,2-dicloro-1,1-diidroxietanefosfônico.

É importante destacar que estudos do triclorfom apontam esse composto como indutor da não disjunção cromossômica, que pode levar a distúrbios genéticos como o caso da síndrome de Down em crianças de populações cujas mães foram expostas a altas doses desse agrotóxico ao se alimentarem com peixes contaminados.

O triclorfom apresenta alta toxicidade, particularmente, no que concerne aos seus efeitos adversos sobre a **reprodução** e o **sistema hormonal (desregulação endócrina)**, **efeitos genotóxicos**, **imunotóxicos**, **teratogênicos**, **neurotóxicos**, **provocando hipoplasia cerebelar**, assim como o fato de ser um agrotóxico com potencial de provocar **danos neurológicos maiores para os seres humanos do que para os animais**, como demonstrado pela **neuropatia retardada**. Considerando o disposto na legislação brasileira específica para agrotóxicos, tais características corroboram para o **banimento imediato** desse princípio ativo no Brasil, inclusive seu uso domissanitário.

Ainda, informa-se que a única empresa detentora de registro desse agrotóxico indicou em reunião presencial que ingressará na ANVISA com pedido de cancelamento do Informe de Avaliação Toxicológica dos produtos a base de triclorfom e que a mesma já efetuou pedido nesse sentido junto ao órgão de meio ambiente.

7. Referências Bibliográficas

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

ABDELSALAM, E. B. Neurotoxic potential of six organophosphorus compounds in adult hens. **Veterinary and human toxicology**, Manhattan, v. 41, n. 5, p. 290-292, 1999.

ABOU-DONIA, M.B., LAPADULA, D.M., Mechanisms of organophosphorus ester-induced delayed neurotoxicity: type I and type II. **Annual review of pharmacology and toxicology**, Palo Alto, v. 30, p. 405-440, 1990.

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**, Orlando, v. 53, p. 05-12, 2000.

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

ADEN-ABDI, Y.; VILLÉN, T.; ERICSSON, O.; GUSTAFSSON, L. L.; DAHL-PUUSTINEN, M.-L. Metrifonate in healthy volunteers: interrelationship between pharmacokinetic properties, cholinesterase inhibition and side-effects. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneve, v. 66, n. 6, p. 731-736, 1990.

ADER, R.; COHEN, N. Conditioning of the immune response. **Netherlands journal of medicine**, Amsterdam, v. 39, n. 3-4, p. 263-73, 1991.

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 research**, Amsterdam, v. 677, p. 13-19, 1995.

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

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

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

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

ARAO, T.; FUKU, C.; TAKAESU, H.; MORINAGA, Y.; MIYAZAKI, T. A case of fatal trichlorfon and methidathion poisoning. **Legal Medicine**, Salem, v. 4, p. 182-186, 2002.

ARIMA, H.; SOBUE, K.; SO, M.; MORISHIMA, T.; ANDO, H.; KATSUYA, H. Transient and reversible parkinsonism after acute organophosphate poisoning. **Journal of toxicology - Clinical toxicology**, New York, v. 41, n. 1, p. 67-70, 2003.

ARTHUR, B. W.; CASIDA, J. E. Metabolism and selectivity of 0,0-dimethyl 2,2,2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphate and its acetyl and vinyl derivatives. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, v.5, p.186-192, 1957.

ASTROFF, A. B.; FRESHWATER, K. J.; EIGENBERG, D. A. Comparative organophosphate-induced effects observed in adult and neonatal Sprague-Dawley rats during the conduct of multigeneration toxicity studies. **Reproductive toxicology**, Elmsford, v. 12, n. 6, p. 619-645, Nov./Dec. 1998.

ATHANASOPOULOS, P. E.; KYRIAKIDIS, N. V.; STAVROPOULOS, P. A study on the environmental degradation of pesticides azinphos methyl and parathion methyl. **Journal of environmental science and health - Part B - Pesticides, food contaminants and agricultural wastes**, New York, v. 39, n. 2 p. 297-309, 2004.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Guidelines for reproductive and developmental toxicology**, 2001.

AVERBOOK, B. J.; ANDERSON, R. J. Electrophysiologic changes associated with chronic administration of organophosphates. **Archives of toxicology**, Berlin, v. 52, p 167-172, 1983.

BAGDONAS, M.; DE MELLO, M. H. S. H.; GUINDANI, C. M. A.; FERREIRA, M. S.; GAETA, R. Ensaio biológicos como testes preliminares na detecção de resíduos de inseticidas em frutas e hortaliças. **Revista brasileira de toxicologia**, São Paulo, v.1, n.1, p.3-5, 1988.

BAKER, V. A. Endocrine disrupters--testing strategies to assess human hazard. **Toxicology in Vitro**, New York, v. 15, n. 4-5, p. 413-419, 2001.

BARNETT, J. M.; MCGOWAN, J. J.; GENTRY, G. A. Arabinosylthymine: suppressor of hamster immunoglobulin M formation during primary immune response. **Infection and immunity**, Washington, D.C, v. 28, n. 1, p. 160-162, 1980.

BARRETO, C. A; RIBEIRO, H. Agricultura e meio ambiente em Rio Verde (GO). **Revista de Gestão Integrada em Saúde do trabalho e Meio Ambiente**, São Paulo, v. 3, n. 1, jan./abr. 2008. Disponível em: <http://www.interfacehs.sp.senac.br/images/artigos/110_pdf.pdf>. Acesso em: 07 maio 2009.

BATISTA, G. C. **Curso de Especialização por tutoria à distância: toxicologia e Impacto Ambiental de inseticidas e acaricidas: Módulo 8.** Brasília: Ed. Da 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**, London, v. 53, p. 520-525, 1996.

BERGE, G. N.; FONNUM F.; BRODAL, P. Neurotoxic effects of prenatal trichlorfon administration in pigs. **Acta vetrinaria scandinavica**, Copenhagen, v. 28, p. 321-332, 1987.

BERGE, G. N.; FONNUM F.; SALI, N. E.; SAGNEN, E. Neurotoxicological examination of the piglet brain after prenatal and postnatal exposure to trichlorfon. **Acta vetrinaria scandinavica**, Copenhagen, v. 28, p. 313-320, 1987.

BERGE, G. N.; NAFSTAD, I. Distribution and placental transfer of trichlorfon in guinea pigs. **Archives of toxicology**, Berlin, v. 59, p. 26-29, 1986.

BERGE, G. N.; NAFSTAD, I.; FONNUM, F. Prenatal effects of trichlorfon on the guinea pig brain. **Archives of toxicology**, Berlin, v. 59, n. 1, p. 30-35, 1986.

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. et al. Depression and pesticide exposures among private pesticide applicators enrolled in the agricultural health study. **Environmental health perspectives**, Research Triangle Park, v. 116, p. 1713-1719, 2008.

BHATT, M. H.; ELIAS, M. A.; MANKODI, A. K. Acute and reversible parkinsonism due to organophosphate pesticide intoxication: five cases. **Neurology**, New York, 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**, London, v. 7, 2008.

BOUCHARD M, GOSSELIN, N. H.; BRUNET, R. C.; SAMUEL, O.; DUMOULIN, M. J.; CARRIER, G. A toxicokinetic model of malathion and its metabolites as a tool to assess human exposure and risk through measurements of urinary biomarkers. **Toxicological sciences**, Orlando, v. 73, p. 182-194, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Manual de Vigilância de Populações Expostas a Agrotóxicos**. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 1997.

BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. O.; ABAKERLI, R.; SANTOS, T. C. R.; RIBEIRO, M. L. Risco de contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros: análise preliminar. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, Vol. 11, p. 93-104, 2001.

BURATTI, F. M.; LEONI, C.; TESTAI, E. The Human Metabolism of Organophosphorothionate Pesticides: Consequences for Toxicological Risk Assessment. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, Birkhäuser, 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. Evaluation of methyl parathion as a toxic air contaminant. Part C. **Human Health Assessment**, 1999. TAC 99-02C. Disponível em: <www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/methylpa/exsumoct.pdf>. Acesso em 05 mai. 2009.

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

CASALE, G. P.; VANNERSTROM, 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**, New York, v.15, n.2-3, p. 199-215, 1993.

CHANG, C. C.; LEE, P. P.; LIU, C. H.; CHENG, W. Trichlorfon, an organophosphorus insecticide, depresses the immune responses and resistance to *Lactococcus garvieae* of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Fish and Shellfish Immunology**, Aberdeen, v. 20, p. 574-585, 2006.

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

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

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

COSTA, L. G. Current issues in organophosphate toxicology. **Clinica chimica acta: International journal of clinical chemistry and medical biochemistry**, Amsterdam, v. 366, p. 1-13, 2006.

COURTNEY, K. D.; ANDREWS, J. E.; SPRINGER, J. Assessment of teratogenic potential of trichlorfon in mice and rats. **Journal of environmental science and health - Part B - Pesticides, food contaminants and agricultural wastes**, New York, v. 21, n. 3, p. 207-27, jun. 1986.

CSIK, V.; MOTIKA, D.; MAROSI, G. Y. Delayed neuropathy after trichlorfon intoxication. **Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry**, London, v. 49, n. 2, p. 222, 1986. Disponível em: <<http://jnnp.bmj.com/cgi/reprint/49/2/222>>. Acesso em: 20 set. 2009.

CUKURCAM, S. et al. Trichlorfon predisposes to aneuploidy and interferes with spindle formation in vitro maturing mouse oocytes. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 564, p. 165-178, 2004.

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.

CZEIZEL, A. E. et al. Environmental trichlorfon and cluster of congenital abnormalities. **Lancet**, London, v.27, n. 341(8844) p. 539-42, 1993.

DA SILVA, C. L. submetida à banca examinadora para obtenção do título de na área de concentração em Água e Solo. **Análise a vulnerabilidade ambiental aos principais pesticidas recomendados para os sistemas de produção de algodão, arroz, café, cana-de-açúcar, citros, milho e soja**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, fev. 2004.

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**, Oxford, v. 101, n. 5, p. 371-379, 2008.

DAVIS, K. L.; YESAVAGE J. A.; BERGER, P. A. Single case study. Possible organophosphate-induced parkinsonism. **Journal of nervous and mental disease**, Baltimore, v. 166, n. 3, p. 222-225, 1978.

DE FREITAS et al. Polineuropatia por triclorfom. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, São Paulo, v. 48, p. 515-519, 1990.

DEDEK, W. Guanine N⁷-alkylation in mice *in vivo* by metrifonate-discussion of possible genotoxic risk in mammals. **Acta pharmacologica et toxicológica**, Copenhagen, sup.49, p. 40-50, 1981.

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

DÉSI, I.; VARGA, L.; FARKAS, I. Studies on the immunosuppressive effect of organochlorine and organophosphoric pesticides in subacute experiments. **Journal of hygiene, epidemiology, microbiology and immunology**, Praha, v. 22, n. 1, p. 115-22, 1978.

DÉSI, I.; VARGA, L.; FARKAS, I. The effect of DDVP, an organophosphorus pesticide on the humoral and cell-mediated immunity of rabbits. **Archives of toxicology**, Berlin, v. 4, p. 171-4, 1980.

DIETER, M. P. et al. The effects of iodinated glycerol, trichlorfon, and acetaminophen on tumor progression in a Fischer rat leukemia transplant model. **Cancer detection and prevention**, New York, v. 16, n. 3, p. 173-83, 1992.

DOHERTY, A. T. A study of the aneugenic activity of trichlorfon detected by centromere-specific probes in human lymphoblastoid cell lines. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 372, n. 2, p. 221-31, 1996.

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

DOULL, J.; VESSELINOVITCH, D.; ROOT, M.; COWAN, J.; MESKAUSKAS, J.; FITCH, F. **Chronic oral toxicity of Dylox to male and female rats**. Chicago: Department of Pharmacology, University of Chicago, 1962.

DUNIER, M.; SIWICKI, A. K.; DEMAËL, A. Effects of organophosphorus insecticides: effects of trichlorfon and dichlorvos on the immune response of carp (*Cyprinus carpio*). III. In vitro effects on lymphocyte proliferation and phagocytosis and in vivo effects on humoral response. **Ecotoxicology and environmental safety**, New York, v. 22, n. 1, p. 79-87, Aug. 1991.

ECOBICHON, D. J. Toxic Effects of Pesticides. In: KLAASSEN, C. D. (ed). **Casarett & 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.

EHRICH, M.; CORRELL, L.; VERONESI, B. Acetylcholinesterase and neuropathy target esterase inhibitions in neuroblastoma cells to distinguish organophosphorus compounds causing acute and delayed neurotoxicity. **Fundamental and applied toxicology**, Orlando, v. 38, n. 1, p. 55-63, Jul. 1997.

EMANS, H. J. B.; BEEK, M. A.; LINDERS, J. B. H. J., **Evaluation system for pesticides (ESPE) 1**. Bilthoven. Agricultural pesticides. National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM), Rep. No. 679101004, 1992.

ENVIRONMENTAL DATA SERVICES. Industry Glimpses New Challenges as Endocrine Science Advances. **ENDS Report**, London, v. 290, p. 26–30, 1999.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Reregistration Eligibility Decision (RED): Trichlorfon**. 1997. 190 p.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Final list of initial pesticide active ingredients and pesticide inert ingredients to be screened under the federal food, drug, and cosmetic act. **Federal Register**, Wednesday, v. 74, n. 71, 15 Apr. 2009.

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

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

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

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

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

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

EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK (EXTOXNET). **Pesticide Information Profiles (PIP): Trichlorfon**. 1996. Disponível em: <<http://extoxnet.orst.edu/pips/trichlor.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2009.

EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK (EXTOXNET). **Pesticide Information Profiles (PIP): Trichlorfon**. 1993. Disponível em: <<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/pyrethrins-ziram/trichlorfon.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2009.

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

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

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

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

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 **Ciência e saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 12, n.1, p. 25-38, 2007.

FERRACINI, V.L.; MARIA C. Y. P.; PESSOA, M.C.Y.; SILVA, D.S.; SPADOTTO, C.A. Análise de Risco de Contaminação das Águas Subterrâneas e Superficiais da Região de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA). **Pesticidas**: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, Curitiba, v. 11, p. 1-16, 2002.

FERRER, A. Intoxicación por plaguicidas. **Anales del sistema sanitario de Navarra**, Pamplona, 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. **American journal of industrial medicine**, New York, v. 32, p. 487-496, 1997.

FISCHER, G. W.; SCHNEIDER, P.; SCHEUFLER, H. Mutagenicity of dichloroacetaldehyde and 2,2-dichloro-1,1-dihydroxyethanephosphonic acid methyl ester, possible metabolites of the organophosphate pesticide Trichlorphon. **Chemico-biological interactions**, Amsterdam, v.19, n. 2, p. 205-13, 1977.

FLASKOS, J.; FOWLER, M. J.; TEURTRIE, C.; HARGREAVES, A. J. The effects of carbaryl and trichlorphon on differentiating mouse N2a neuroblastoma cells. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 110, n. 1-2, p. 79-84, Oct. 1999.

FOLONI, L. L. **Impacto sobre o meio ambiente plantio direto**. In: SIEMBRA DIRECTA EN EL CONO SUR, Montevideo. Documentos, Montevideo: Procisur, 2001. p.19-42, 2001.

FONNUM, F.; LOCK, E. A. Cerebellum as a target for toxic substances. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 112-113, n. 9-16, 2000.

FONNUM, F.; LOCK, E. A. The contributions of excitotoxicity, glutathione depletion and DNA repair in chemically induced injury to neurones: exemplified with toxic effects on cerebellar granule cells. **Journal of Neurochemistry**, Oxford, n. 88, p. 513-531, 2004.

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

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

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

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO). Trichlorfon. In: **Evaluations of some pesticide residues in food**, Geneva: WHO, 1971. p. 183-230. (WHO Pesticide Residues Series, No. 1, 1972).

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

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

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

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

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

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

GIBSON, G. G.; SKETT, P. **Introduction to drug metabolism**. 2. ed. St Albans: Stanley Thornes, 1994.

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

GOSS, D. W. Screening procedure for soils and pesticides for potential water quality impacts. **Weed Technology**, Lawrence, v. 6, p.701-708, 1992.

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

HADLEY, M. **Endocrinology**. New York: Prentice Hall: 2000.

HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1996.

HALLENBECK, W. H.; CUNNINGHAM-BURNS, K. M. **Pesticides and human health**. NY: Springer-Verlag, 1985.

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 neurology**, London, v. 28, n. 8, 2008.

HANNA, S.; BASMY, K.; OSAIMA, S.; SHOEB, S. M.; AWNY, A. Y. Effects of administration of an organophosphorus compound as an antibilharzial agent with special reference to plasma cholinesterase. **British medical journal**, London, v. 1, p. 1390–1392, 1966.

HANTSON, P.; HAINAUT, P.; VANDER STAPPEN, M. Regulation of body temperature after acute organophosphate poisoning. **Canadian journal of anaesthesia**, Ontario, v. 43, p. 755, 1996.

HANUKOGLU, I. Steroidogenic enzymes: Structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. **Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, Oxford, v. 43, p. 779–804, 1992.

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 DATABANK (HSDB) (ceased updating 2002). Disponível em: <<http://ds.datastarweb.com/ds/products/datastar/sheets/hsdb.htm>>. Acessado em: 08 jun. 2009.

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

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

HIERONS, R.; JOHNSON, M. K. Clinical and toxicological investigations of a case of delayed neuropathy in man after acute poisoning by an organophosphorus pesticide. **Arch. Toxicol.**, v. 40, p. 279-284, 1978.

HINZ, V. C.; GREWIG, S.; SCHMIDT, B. H. Metrifonate induces cholinesterase inhibition exclusively via slow release of dichlorvos. **Neurochemical research**, New York, v. 21, p. 331–337, 1996.

HIRATA, R.; SKORTZARU, B.; NARCISO, E. S. avaliação da degradação de inseticidas, em função do pH, utilizando *drosophila melanogaster* e teste de inibição enzimática. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, n.3, p.359-365, jul./set. 2003.

HJELDE, T.; MEHL, A.; SCHANKE, T. M.; FONNUM, F. Teratogenic effects of trichlorfon (Metrifonate) on the guinea-pig brain: Determination of the effective dose and the sensitive period. **Neurochemistry international**, Oxford, v. 32, p. 469-477, 1998.

HOFER, W. Chemistry of metrifonate and dichlorvos. **Acta veterinaria scandinavica**, Copenhagen, v. 49, sup. 5, p. 7-14, 1981.

HOLLINGWORTH, R. M. **Insecticides biochemistry and physiology**. New York: Plenum, 1976, p. 431.

HONG, X.; QU, J.; CHEN, J.; CHENG, S.; WANG, Y.; SONG, L.; WANG, S.; LIU, J.; WANG, X. Effects of trichlorfon on progesterone production in cultured human granulosa–lutein cells. **Toxicology in Vitro**, New York, v. 21, p. 912–918, 2007a.

HONG, X.; QU, J.; WANG, Y.; SUN, H.; SONG, L.; WANG, S.; WANG, X. Study on the mechanism of trichlorfon-induced inhibition of progesterone synthesis in mouse leydig tumor cells (MLTC-1). **Toxicology**, Amsterdam, v. 234, p. 51–58, 2007b.

HONORATO DE OLIVEIRA, G.; MOREIRA, V.; RIBEIRO GOES, S. P. Organophosphate induced delayed neuropathy in genetically dissimilar chickens: studies with tri-ortho-cresyl phosphate (TOCP) and trichlorfon. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 136, n. 2, p. 143-50, Dec. 2002.

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.

IARC. Trichlorfon. In: **Miscellaneous pesticides**. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1983. p. 207-231 (IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, vol. 30).

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GONÇALVES, L. S.; 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). **Environmental Health Criteria 132: Trichlorfon**. Geneva: World Health Organization, 1992.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Toxicological evaluation of certain - veterinary drug residues in food**. WHO food additives series 45. Geneva: World Health Organization, 2000.

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

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. **Environmental health criteria 132. Trichlorfon. 1992** Disponível em:
<<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc132.htm>>. Acesso em: 17 set. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. **The TRICHLORFON JMPR 1978**. Disponível em:
<<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v078pr28.htm>>. Acesso em: 17 set. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. **WHO FOOD ADDITIVES SERIES 45. 2000**. Disponível em:
<<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v45je05.htm>>. Acesso em: 17 set. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. **Environmental Health Criteria 132. Trichlorfon**, 1992. Disponível em:
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc132.htm>. Acesso em: 21 set. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. **Evaluations of some pesticide residues in food 1971. The monographs**. Disponível em
<<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v071pr09.htm>> Acesso em: 17 set. 2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. **Trichlorfon**. Geneva: OMS, 1992.

JAGA, K.; DHARMANI, C. The interrelation between organophosphate toxicity and the epidemiology of depression and suicide. **Reviews on environmental health**, Tel Aviv, 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**, Research Triangle Park, v. 115, n. 1, 2007.

JAMNADAS, V. P.; THOMAS, J. E. P. Metriphosphate and Organophosphate Poisoning. **Central African journal of medicine**, Salisbury, v.25, n. 6, p.130, 1979.

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

JOHNSON, M. K. Delayed neurotoxicity - do trichlorphon and/or dichlorvos cause delayed neuropathy in man or in test animals? **Acta pharmacologica et toxicológica**, Copenhagen, v. 49, sup. 5, p. 87-98, 1981.

JOHNSON, M. K. Organophosphates and delayed neuropathy: is NTE alive and well? **Toxicology and applied pharmacology**, New York, v. 102, 385-399, 1990.

JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES (JECFA). Trichlorfon: addendum. **WHO food additives series: 51**. 2001. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v51je04.htm>>. Acesso em: 20 ago, 2009.

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 MEETING ON PESTICIDE RESIDUES (JMPR). 452. Trichlorfon. **Pesticide residues in food**. 1978. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v078pr28.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2009.

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

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

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

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

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

KARADEMIR, M.; ERTÜRK, F.; KOÇAK, R. Two cases of organophosphate poisoning with development of intermediate syndrome. **Hum Exp Toxicol.**, v. 9, n. 3, p. 187-9, 1990. Disponível em:
<[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2375887?ordinalpos=&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.SmartSearch&log\\$citationsensor](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2375887?ordinalpos=&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.SmartSearch&log$citationsensor)>. Acesso em: 20 set. 2009.

KARALLIEDDE, L; SENANAYAKE, N. Organophosphorus insecticide poisoning: a review. **British journal of anaesthesia**, Altrincham, v.63, p.736-750, 1989.

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

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

KELLAR, K. J. Overcoming inhibitions. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, Washington, v. 103, n. 36, p. 13263-13264,

2006. Disponível em: <www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0606052103>. Acesso em: 12 abr. 2009.

KECIK, Y.; YORUKOGLU, D.; SAYGIN, B.; SEKERCI, S. A case of acute poisoning due to organophosphate insecticide. *Anaesthesia*, v. 48, p. 141-143, 1993. 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. *Toxicological sciences*, Orlando, v. 54, n. 2, p. 408-415, 2000.

KISS, Z.; FAZEKAS, T. Arrhythmias in organophosphate poisonings. *Acta cardiológica*, Bruxelles, v.34, p.323-330, 1979.

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

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.

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*, Research Triangle Park, v. 117, n. 3, p. 348-353, 2009.

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

LAVORENTI, A. Comportamento dos herbicidas no meio ambiente. In: WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO. Campinas, 1996, Jaguariúna. **Anais...** Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, p.81-115, 1996.

LEBRUN, A.; CERF, C. Note preliminaire sur la Toxicite pour l'homme d'un insecticide organophosphore (Dipterex). *Bulletin of the World Health Organization*, Geneve, v. 22, p. 579-582, 1960.

LEUNG, P. C.; STEELE, G. L. Intracellular signaling in the gonads. *Endocrine Reviews*, Baltimore, v. 13, p. 476-498, 1992.

LINGAPPA, V. R.; MELLON, S. H. **Hormone synthesis and release**. In: GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. (eds.). *Basic & Clinical Endocrinology*. New York: McGraw Hill. 2004.

LIU, C.; CHANG, P.; WU, Y. Trichlorfon induces apoptosis in SH-SY5Y neuroblastoma cells via the endoplasmic reticulum? **Chemico-biological interactions**, Amsterdam, v. 181, p. 37-44, 2009.

LONDON, L.; FLISHER, A. J.; WESSELING, C.; MERGLER, D.; KROMHOUT, H. Suicide and exposure to organophosphate insecticides: cause or effect? **American journal of industrial medicine**, New York, 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. **Environmental research**, New York, v. 73, p. 132-145, 1997.

LORENZ, W.; HENGLEIN, A.; SCHRADER, G. The new insecticide *O,O*-dimethyl 2,2,2-trichloro-1-hydroxy ethylphosphonate. **Journal of the american chemical society**, Washington, v. 77, p. 2554-2556, 1955.

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

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

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

MARQUES, P. R. B. O.; NUNES, G. S.; QUEIROZ, M. E. R.; ORLANDA, J. F. F.; SOUSA, H. S.; SANTOS, T. C. R. Análise de pesticidas em amostras ambientais oriundas da barragem de Boa Esperança (Pi/Ma, Brasil): avaliação preliminar. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, V. 12, p. 13-30, jan./dez. 2002.

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

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

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

MATTSON, A. M.; SPILLANER, J. T.; PEARCE, G. W. Dimethyl 2,2-dichlorovinyl phosphate (DDVP), an organic phosphate compound highly toxic to insects. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, v.3, p. 319- 321, 1955.

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. **Archives of toxicology**, Berlin, v. 73, n. 6, p. 296-300, 1999.

MEHL A, SCHANKE TM, TORVIK A, FONNUM F. The effect of trichlorfon and methylazoxymethanol on the development of guinea pig cerebellum. **Toxicology and applied pharmacology**, New York, v. 219, n. 2-3, p. 128-35, Mar. 2007.

MEHL A, ROLSETH V, GORDON S, BJØRAAS M, SEEBERG E, FONNUM F. Brain hypoplasia caused by exposure to trichlorfon and dichlorvos during development can be ascribed to DNA alkylation damage and inhibition of DNA alkyltransferase repair. **Neurotoxicology**, Feb-Apr 21(1-2):165-73, 2000.

MEHL, A.; SCHANKE, T. M.; JOHNSEN, B. A.; FONNUM, F. The effect of trichlorfon and other organophosphates on prenatal brain development in the guinea pig. **Neurochemical research**, New York, v. 19, n. 5, p. 569-74, May 1994.

METCALF, R. L.; FUKUTO, T. R.; MARCH, R. B. Toxic action of Dipterex and DDVP to the housefly. **Journal of economic entomology**, College Park MD, v.52, p. 44-49, 1959.

MILLER, W. L. Molecular biology of steroid hormone synthesis. **Endocrine reviews**, Baltimore, v. 9, p. 295–318, 1988.

MIYAMOTO, J. Non-enzymatic conversion of Dipterex into DDVP and their inhibitory action on enzymes. **Botyu-Kagaku**, v.24, p. 130-137, 1959.

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.

MONTGOMERY, M. P.; KAMEL, F.; SALDANA, T. M.; ALAVANJA, M. C. R.; SANDLER, D. P. Incident Diabetes and Pesticide Exposure among Licensed Pesticide Applicators: Agricultural Health Study, 1993–2003. **American journal of epidemiology**, Baltimore, v. 167, n. 10, p.1235–1246, 2008.

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

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

MÜLLER-VAHL, K. R.; KOLBE, H.; DENGLER, R. Transient severe parkinsonism after acute organophosphate poisoning. **Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry**, London, v. 66, n. 2, p. 253-254, 1999.

MURPHY, S. D. Toxic effects in pesticides. In: KLAASEN, C. D.; AMBDUR, M. O.; DOULL, J. (ed.). **Cassaret and Doull's Toxicology: the basic science of poisons**. New York: Macmillan, 1988. p. 543-553.

MURRAY, V.S.; WISEMAN, H.M.; DAWLING, S. Health effects of organophosphate sheep dips. **British medical journal**, London, s.v.305, p.1090, 1992.

NAISHTEIN, S.Ya. Trichlorfon and malathion tolerances in soil. **Khim. Sel'sk. Khoz.**, v.14, p. 32-34, 1976.

NAISHTEIN, S.Ya.; ZHULINSKAYA, V.A.; YUROVSKAYA, E.M. Stability of certain organophosphorous pesticides in soil. *Gig. i Sanit.*, 42-45, 1973.

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

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

NHACHI, C. F. B.; MURAMBIWA, W.; KASILO, O. J.; GWANZURA, L.; MASON, P. Effect of a single oral dose of metrifonate on human plasma cholinesterase levels. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, New York, v. 47, p. 641-645, 1991.

NICOLAU, G.Y. Circadian rhythms of RNA, DNA and protein in the rat thyroid, adrenal and testis in chronic pesticide exposure. III. Effects of the insecticides (dichlorvos and trichlorphon). **Physiologie**, Bucuresti, v. 20, n. 2, p.93-101, Apr./Jun. 1983.

NORDGREN, I. Quantitation of metrifonate and dichlorvos in blood and tissues by gas chromatography - mass spectrophotometry. **Fundamental and applied toxicology**, Orlando, v. 1, p. 230-237, 1981.

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, M. L. F. **Vulnerabilidade e cuidado na utilização de agrotóxicos por agricultores familiares**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004

OLIVEIRA, S. M.; GOMES, T. C. C. Contaminação por Agrotóxico em População de Área Urbana - Petrópolis, RJ. **Cadernos de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v.6, n. 1, p. 18-26, 1990.

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

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

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

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

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

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

PEAKALL, T. J. et al. Organochlorine residues in Alaskan peregrines. **Pesticides monitoring journal**, Washington, v. 8, p. 255–260, 1975.

PEARCE, N. E.; SMITH, A. H.; HOWARD, J. K.; SHEPPARD, R. A.; GILES, H. J.; TEAGUE, C. A. Case-control study of multiple myeloma and farming. **British Journal of Cancer**, London, 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**, New York, v. 64, p. 251–255, 2006.

PENNING, T. M. Molecular endocrinology of hydroxysteroid dehydrogenases. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 18, p. 281–305, 1997.

PIEPER, G. R.; RICHMOND, C. E. Residues of trichlorfon and lauroyl trichlorfon in Douglas fir, Willow grass, aspen, foliage and in creek water after aerial application. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, New York, v. 15, p. 250-256, 1976.

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. **Cadernos de Saúde Pública**, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 804-814, 2005.

PLESTINA, R.; DAVIS, A.; BAILEY, D. R. Effect of metrifonate on blood cholinesterases in children during the treatment of schistosomiasis. **Bull. Org. Mond. Sant**, v., 46, p. 747-759, 1972.

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

RANALDI, R. et al., Trichlorfon effects on mouse oocytes following in vivo exposure. **Mutation Research**. v. 651, p. 125–130. 2008.

RAY, D. E. Chronic effects of low level exposure to anticholinesterases - a mechanistic review. **Toxicology Letters**, Amsterdam, 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**, Amsterdam, v. 120, p. 343-351, 2001.

RAYNER, M. D.; POPPER, J. S.; CARVALHO, E. W. Hyporeflexia in workers chronically exposed to organophosphate insecticides. **Research communications in chemical pathology and pharmacology**, New York, v. 4, n. 3, p.595-606, 1972.

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

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

RICHARDS, J. S. Hormonal control of gene expression in the ovary. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 15, p. 725-751, 1994.

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

ROBERTS, D. M.; FRASER, J. F.; BUCKLEY, N. A.; VENKATESH, B. Experiences of anticholinesterase pesticide poisonings in na australian tertiary hospital. **Anaesth Intensive Care**, v. 33, p. 469-476, 2005.

ROCH, P.; COOPER, E. L. Cellular but not humoral antibacterial activity of earthworms is inhibited by Aroclor 1254. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, 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**, New York, v. 181, p. 310-318, 1985a.

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

RODGERS, K. E.; IMAMURA, T.; DEVENS, B. H. Investigations into the mecanism of immunosuppression caused by acute treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate. I: characterization of immune cell population affected. **Immunopharmacology**, Amsterdam, 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**, New York, v. 88, p. 279-281, 1987.

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

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

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. **Jornal brasileiro de medicina**, Rio de Janeiro, v. 69, n. 3, p. 73-96, 1995.

ROTHLEIN, J.; ROHLMAN, D.; LASAREV, M.; PHILLIPS, J.; MUNIZ, J.; MCCAULEY, L. Organophosphate Pesticide Exposure and Neurobehavioral Performance in Agricultural and Nonagricultural Hispanic Workers. **Environmental health perspectives**, Research Triangle Park, v. 114, n.5, p. 691-696, 2006

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

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

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

SCHANKER, H. M.; RACHELEFSKY, G.; SIEGEL, S.; KATZ, R.; SPECTOR, S.; ROHR, A.; RODRIQUIZ, C.; WOLOSHIN, K.; PAPANEEK JR., P. J. Immediate and delayed type hypersensitivity to malathion. **Annals of allergy**, St. Paul, v. 69, n. 6, p. 526-528, 1992.

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**, New York, v. 76, p. 356-364, 1984.

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

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

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

SERGEANT, D. B.; ZITKO, V. The determination of trichlorfon, dichlorvos, fenitrothion and phosphamidon in water. **Can. Fish Mars. Tech. Rep.**, v. 886, p. 1-12, 1979.

SHEETS, L. P. A consideration of age-dependent differences in susceptibility to organophosphorus and pyrethroid insecticides. **Neurotoxicology**, Amsterdam, v. 21, n.1-2, p. 57-63, Feb./Apr. 2000.

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. **Fundamental and Applied Toxicology**, Orlando, v. 35, n. 1, p. 101-119, Jan.1997.

SHIRAIISHI, S.; INOUE, N.; MURAI, Y.; ONISHI, A.; NODA, S. Dipterex (Trichlorfon) Poisoning -Clinical and Pathological Studies in Human and Monkeys. **Journal of UOEH**, Kitakyushu, v. 5 (Sup.) p. 125-132, 1983.

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**, Rio de Janeiro, n. 6, p. 01-22, 1999.

SIMCOX, N. J.; FENSKE, R. A.; WOLZ, S. A.; LEE, I-C.; KALMAN, D. A. Pesticides in Household Dust and Soil: Exposure Pathways for Children of Agricultural Families **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 103, n. 12, p. 1126-1134, 1995.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TÓXICO-FARMACOLÓGICAS
ÓBITOS REGISTRADOS DE INTOXICAÇÃO HUMANA POR AGENTE TÓXICO
E CIRCUNSTÂNCIA. 2003. Disponível em:
http://www.fiocruz.br/sinitox/2003/tab11_brasil2003.pdf. Acesso em: 08 jun. 2009.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TÓXICO-FARMACOLÓGICAS
ÓBITOS REGISTRADOS DE INTOXICAÇÃO HUMANA POR AGENTE TÓXICO
E CIRCUNSTÂNCIA. 2007. Disponível em:
<[http://www.fiocruz.br/sinitox/\[1997,1998,1999,2000,2001,2002,2003,2004,2005,2006,2007,\]/tab11_brasil.pdf](http://www.fiocruz.br/sinitox/[1997,1998,1999,2000,2001,2002,2003,2004,2005,2006,2007,]/tab11_brasil.pdf)>. Acesso em: 08 jun. 2009.

SIWICKI, A. K.; COSSARINI-DUNIER, M.; STUDNICKA, M.; DEMAEL, A. In vivo effect of the organophosphorus insecticide trichlorphon on immune response of carp (*Cyprinus carpio*). II. Effect of high doses of trichlorphon on nonspecific immune response. **Ecotoxicology and environmental safety**, New York, v. 19, n. 1, p. 99-105, 1990.

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

SLOTKIN, T. A.; LEVIN, E. D.; SEIDLER, F. J. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate insecticides: effects on brain development are separable from systemic toxicity. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, 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 research bulletin**, Phoenix, v. 72, n. 4-6, p. 232-274, 2007.

SLOTT, V.; ECOBICHON, D. J. An acute and subacute neurotoxicity assessment of trichlorfon. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, Ottawa, v. 62, p. 513-518, 1984.

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

SOBREIRA, A. G. P.; ADISSI P. J. Agrotóxicos: falsas premissas e debates. **Ciência e saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 4, p. 985-90, 2003.

SONNENSCHNEIN, C.; SOTO, A. M. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. **Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, Oxford, v. 65, n. 1-6, p. 143-150, 1998.

SOTH, T.; HOSOKAWA, M. Organophosphate and their impacts on the global environment. **Neurotoxicology**, Amsterdam, 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. **American journal of public health**, Washington, 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**, London, v. 345, p. 1135-1139, 1995.

STOCCO, D. M.; CLARK, B. J. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. **Endocrine reviews**, Baltimore, v. 17, p. 221-244, 1996.

STOCCO, D. M.; CLARK, B. J. The requirement of phosphorylation on a threonine residue in the acute regulation of steroidogenesis in MA-10 mouse Leydig cells. **Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, Oxford, v. 46, p. 337-347, 1993.

STODDART, J. F. **Comprehensive Organic Chemistry: The synthesis and reaction of organic compounds**. 6. ed. Oxford: [s. n.], 1979.

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

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

SUN, F. Y. Trichlorfon induces spindle disturbances in V79 cells and aneuploidy in male mouse germ cells. **Mutagenesis**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 17-24, 2000.

SUN, F.; BETZENDAHL a, I.; VAN WEMMEL b, K.; CORTVRINDT b, R.; SMITZ b, J.; PACCHIEROTTI c, F.; EICHENLAUB-RITTER, U. Trichlorfon-induced polyploidy and nondisjunction in mouse oocytes from preantral follicle culture. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 651, 114-124, 2008.

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

THRASHER, J. D.; MADISON, R.; BROUGHTON, A. Immunologic abnormalities in humans exposed to chlorpyrifos: preliminary observations. **Archives of environmental health**, Washington, v. 48, n. 2, p. 89-93, 1993.

TIAN, Y. et al. The Effects of Trichlorfon on Maternal Reproduction and Mouse Embryo Development during Organogenesis. **Industrial Health**, Kawasaki, v. 47, p. 313–318, 2009.

TIAN, Y.; ISHIKAWA, H.; YAMAUCHI, T. Analysis of cytogenetic and developmental effects on pre-implantation, mid-gestation and near-term mouse embryos after treatment with trichlorfon during zygote stage. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 471, p. 37–44, 2000.

TILSON, H. A. Behavioral indices of neurotoxicity: what can be measured? **American journal of industrial medicine**, New York, v.17, n.5, p.567–575, 1990.

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

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

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

VARSIK, P.; BURANOVA, D.; KONDAS, M.; KUCERA, P.; GOLDENBERG, Z.; POKORNA, V. Chronic toxic neuropathy after organophosphorus poisoning in quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Bratislavske Lekarske Listy**, Bratislava, v.106, n. 10, p. 293-296, 2005.

VASILESCU, C. Triorthocresyl phosphate neuropathy. **Archives of toxicology**, Berlin, v. 36, p. 455, July 1979.

VASILESCU, C.; ALEXIANU, M.; DAN, A. Delayed neuropathy after organophosphorus insecticide (dipterex) poisoning: a clinical electrophysiological and

nerve biopsy study. **Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry**, London, v. 47, p. 543-548, 1984. Disponível em: <<http://jnnp.bmj.com/cgi/reprint/47/5/543.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2009.

VASILESCU, C.; FLORESCU, A. Clinical and electrophysiological study of neuropathy after organophosphorus compounds poisoning. **Archives of toxicology**, Berlin, v. 43, p. 305-315, 1980.

VIDAIR, C. A. Age dependence of organophosphate and carbamate neurotoxicity in the postnatal rat: extrapolation to the human. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, 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**, São Paulo, v. 22, p. 305-308, 1999.

VIGHI, M.; DI GUARDO, A. Predictive approaches for the evaluation of pesticide exposure. In: VIGHI, M.; FUNARI, E. **Pesticide risk in groundwater**. 1995. cap.3, p.73-100.

VILLENEUVE, D. C.; WILLES, R. F.; LACROIX, J. B.; PHILLIPS, W. E. Placental transfer of ¹⁴C-parathion administered intravenously to sheep. **Toxicology and applied pharmacology**, New York, v. 21, p. 542-548, 1972.

VOCCIA, I.; BLAKLEY, B.; BROUSSEAU, P.; FOURNIER, M. Immunotoxicity of pesticides: a review. **Toxicology and industrial health**, Princeton, 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**, Manaus, 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. **International journal of occupational medicine and environmental health**, Lodz, v.8, p. 27-34, 2002.

WOODRUFF, T. J.; KYLE, A. D.; BOIS, F. Y. Evaluating Health Risks from Occupational Exposure to Pesticides and the Regulatory Response. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 102, n.12, p. 1088-1096, 1994.

WOODWELL, G. M.; WURSTER JR, C. F.; ISAACSON, P. A. DDT Residues in an east coast estuary: a case of biological concentration of a persistent insecticide. **Science**, v. 156, p. 821, 1967.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 213 – Trichlorfon. Pesticide Residues Series, n. 1 **Evaluations of some pesticide residues in food**, 1971. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v071pr09.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 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: 04 ago. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Trichlorfon**. Health and Safety Guide, n. 66. 1991. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg066.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Trichlorfon**: Who food additives series 45. toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. Geneva, 2000. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v45je05.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Trichlorfon**: Environmental Health Criteria, n. 132. Geneva, 1992. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc132.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2009.

WU, M.; DENG, J. Acute hemolysis caused by incidental trichlorfon exposure. **Journal of the Chinese Medical Association**, Taipei, v. 72, n. 4, apr. 2009. Disponível em: <http://ajws.elsevier.com/ajws3/process_pdf.asp?art_id=6090&art_journals=11>. Acesso em: 20 set. 2009.

XIE, X.; PIAO, F.Y.; TIAN, Y., YAMAUCHI, T. Pharmacokinetics and neurotoxicity of dipterex in hens. A comparative study of administration methods. **Journal of toxicological sciences**, Sapporo, v. 23, n. 1, p. 25-33, Feb. 1998.

YAMASHITA, M.; YAMASHITA, M.; TANAKA, J.; ANDO, Y. Human mortality in organophosphate poisonings. **Veterinary and human toxicology**, Manhattan, v. 39, n. 2, apr. 1997.

YIN, H. et al. Trichlorfon exposure, spindle aberrations and nondisjunction in mammalian oocytes. **Chromosoma - Abteilung B**, Berlin, v. 7, n. 6-7, p. 514-22, 1998.

ZAKHAROV, B. N. Migration of trichlorfon in nature. *Gig. i Sanit.*, v. 45, p. 62-63, 1980.