

**PARECER TÉCNICO DE REAVALIAÇÃO DO GLIFOSATO**  
**INGREDIENTE ATIVO QUANTO AO SEU POTENCIAL**  
**CANCERÍGENOS EM HUMANOS**



**Marize de Lourdes Marzo Solano, Doutora em Patologia**

Faculdade de Tecnologia

Universidade de Campinas- Unicamp

Limeira-SP

marizesolano@ft.unicamp.br

marizesolano@terra.com.br

Junho, 2016

**PARECER TÉCNICO DE REAVALIAÇÃO DO GLIFOSATO**

**INGREDIENTE ATIVO QUANTO AO SEU POTENCIAL**

**CANCERÍGENOS EM HUMANOS**

**Marize de Lourdes Marzo Solano, Doutora em Patologia**

Faculdade de Tecnologia

Universidade de Campinas- Unicamp

Limeira-SP

marizesolano@ft.unicamp.br

marizesolano@terra.com.br

Junho, 2016

## Sumário

<b>I RELATÓRIO.....</b>	<b>3</b>
1. APRESENTAÇÃO.....	4
3. SITUAÇÃO INTERNACIONAL .....	7
4. SITUAÇÃO NACIONAL .....	9
<b>II ANÁLISE.....</b>	<b>10</b>
1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS .....	10
2. METABOLISMO E FARMACOCINÉTICA .....	11
3. TOXICIDADE AGUDA E SUBCRÔNICA.....	12
4. GENOTOXICIDADE .....	16
4.1 Avaliação de dados genotóxicos e o peso das evidências.....	16
4.2 Genotoxicidade do glifosato.....	17
4.3 Genotoxicidade e os estudos avaliados pela IARC .....	21
5. TOXICIDADE CRÔNICA/ ESTUDOS DE CARCINOGENICIDADE .....	25
5.1 Estudos com animais .....	26
5.1.1 Avaliação individual da incidência de linfomas malignos em camundongos.....	28
5.1.2. Avaliação individual da incidência de adenoma e carcinoma renal em camundongos .....	31
5.1.3. Avaliação individual da incidência de hemangiosarcoma em camundongos .....	33
5.1.4 Avaliação individual da incidência de tumores em ratos.....	33
5.2 Sumário estudos em animais .....	35
6. ESTUDOS COM FORMULAÇÕES E DADOS PUBLICADOS DE EXPOSIÇÃO HUMANA ...	37
6.1 Estudos coorte.....	47
6.2 Estudos de caso-controle sobre o linfoma não-Hodgkin (NHL), mieloma múltiplo e leucemia .....	48
6.3 Meta-análise.....	51
6.4 Interferência de co-formulantes e toxicidade do glifosato em formulações.....	52
6.5 Sumário estudos epidemiológicos.....	53
7. TOXICIDADE REPRODUTIVA.....	55
8. INFORMAÇÕES ADICIONAIS SOBRE MECANISMOS DE AÇÃO DO GLIFOSATO.....	59
9. EXPOSIÇÃO DIETÁRIA E AVALIAÇÃO DO RISCO NÃO OCUPACIONAL E OCUPACIONAL.....	67
9.1 Modelos internacionais .....	67
9.2 Avaliação do risco alimentar - cenário internacional .....	69
9.3 Manifestações clínicas e intoxicação ocupacional ao glifosato .....	72
9.4 Avaliação do risco ocupacional ao glifosato - cenário internacional .....	73
<b>III DISCUSSÃO.....</b>	<b>77</b>
9. DIFERENÇAS NA AVALIAÇÃO DA IARC SOBRE CARCINOGENICIDADE DO GLIFOSATO .....	77

10. CONCLUSÃO .....	79
Resumo dos testes mutagênicos <i>in vitro</i> em células de mamíferos ou bactéria. ....	81
Resumo dos testes genotóxicos <i>in vitro</i> em células de mamíferos ou bactéria. ....	83
Resumo dos testes mutagênicos de células somáticas em mamíferos, <i>in vivo</i> . ....	86
Resumo outros testes de formação de adutos e quebra de DNA em mamíferos, <i>in vivo</i> . .....	92
Resumo testes mutagênicos de células germinativas em mamíferos, <i>in vivo</i> . ....	93
Resumo de incidência de tumores selecionados em camundongos machos da linhagem CD-1.....	94
Resumo da incidência de Linfoma Maligno em estudos de longa duração com diferentes linhagens de camundongos. ....	95
Resumo de estudos relevantes de carcinogênese em ratos. ....	97
REFERÊNCIAS.....	82

# I. RELATÓRIO

---

## 1. APRESENTAÇÃO

A Nota Técnica apresentada aqui visa cumprir uma das etapas da reavaliação toxicológica (ênfase no potencial carcinogênico para humanos) do ingrediente ativo glifosato junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil, prevista na RDC nº 10/2008 e detalhada na RDC nº 48/2008. Portanto, o enfoque da presente Nota está nos estudos de genotoxicidade e carcinogenicidade em animais, além de evidências em humanos, enquanto os outros aspectos toxicológicos do glifosato encontram-se de maneira resumida no documento. As contribuições 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), e resguardada a decisão final à Diretoria Colegiada da ANVISA.

## 2. ASPECTOS LEGAIS DA REAVALIAÇÃO DE AGROTÓXICOS

No Brasil, uma vez concedido o registro de determinado agrotóxico, este possui validade *ad eternum* e sem previsão de qualquer prazo para renovação ou revalidação, mas a Lei nº 7.802, de 1989 e o Decreto nº 4.074, de 2002<sup>1</sup> prevêm a reavaliação

---

**1** Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. No §6º do Art. 3º dessa Lei determina-se a proibição do registro de agrotóxicos, seus componentes e afins:

"a) para os quais o Brasil não disponha de métodos para desativação de seus componentes, de modo a impedir que os seus resíduos remanescentes provoquem risco ao meio ambiente e à saúde pública;  
b) para os quais não haja antídoto ou tratamento eficaz no Brasil;  
c) que revelem características teratogênicas, carcinogênicas ou mutagênicas, de acordo com os resultados atualizados de experiências da comunidade científica;  
d) que provoquem distúrbios hormonais, danos ao aparelho reprodutor, de acordo com procedimentos e experiências atualizadas na comunidade científica;  
e) que se revelem mais perigosos para o homem do que os testes de laboratório, com animais tenham podido demonstrar, segundo critérios técnicos e científicos atualizados;

toxicológica do agrotóxico frente à necessidade de atualização do conhecimento técnico científico sobre os ingredientes ativos e, especialmente, sobre o surgimento de perigos e riscos associados ao uso (BRASIL, 1989 e BRASIL, 2002). A Portaria do Ministério da Saúde nº 03, de 16 de janeiro de 1992<sup>2</sup>, regulamenta como devem ser realizadas as avaliações toxicológicas de produtos agrotóxicos no país e, por isso, também é essencial na reavaliação toxicológica. Ela determina que a avaliação toxicológica deve detectar possíveis efeitos graves para a saúde que possam impedir o registro e a utilização de um determinado agrotóxico. Portanto, no processo de reavaliação de um agrotóxico, após a análise de todos os dados e estudos, deve-se avaliar o peso das evidências obtidas, a relevância para os seres humanos e se os efeitos se enquadram nas características legais proibitivas de registro.

## 2. MOTIVAÇÃO PARA A REAVALIAÇÃO DO GLIFOSATO

---

f) cujas características causem danos ao meio ambiente."

Redação dada pelo **Decreto nº 4.074/02 - Art 2º**, inciso VI.

"Art. 2o Cabe aos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Saúde e do Meio Ambiente, no âmbito de suas respectivas áreas de competências:

VI - promover a reavaliação de registro de agrotóxicos, seus componentes e afins quando surgirem indícios da ocorrência de riscos que desaconselhem o uso de produtos registrados ou quando o País for alertado nesse sentido, por organizações internacionais responsáveis pela saúde, alimentação ou meio ambiente, das quais o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordos."

10) Na Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 27 de setembro de 2006 (Art. 1º, incisos de I a III), essa previsão é reforçada, conforme segue:

"Art. 1º As reavaliações dos agrotóxicos, seus componentes e afins serão efetuadas nas seguintes situações:

I - quando ocorrer alerta de organização internacional responsável pela saúde, alimentação ou meio ambiente, da qual o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordo ou convênio, sobre riscos ou que desaconselhem o uso de agrotóxico, componente ou afim;

II - por iniciativa de um ou mais dos órgãos federais envolvidos no processo de avaliação e registro, quando houver indícios de redução de eficiência agronômica, alteração dos riscos à saúde humana ou ao meio ambiente, e

III - a pedido do titular do registro ou de outro interessado, desde que fundamentado tecnicamente."

- em grau não usual com referência à incidência, sítio, tipo de tumor ou idade do início. A evidência é reforçada quando há relação direta entre número de animais positivos para tumores e o aumento das doses. Entende-se como grau não usual a diferença estatisticamente significativa em relação aos animais dos grupos testemunhas."

**2** Redação dada por: **Portaria ANVISA 03/1992 - Avaliação Toxicológica**. Portaria Nº 03/MS/SNVS. Diretrizes e exigências referentes à autorização de registros, renovação e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins - Nº 1, de 9 de dezembro de 1991.

"1.3.2 - Para a avaliação da carcinogenicidade de um agrotóxico são adotados os critérios utilizados pela Agência Internacional de Pesquisas Sobre o Carcinoma (IARC) da Organização Mundial da Saúde, considerando-se como carcinogênicas as substâncias que apresentarem:

a) evidência científica de carcinogenicidade para o homem, baseada em estudos epidemiológicos validados, efetuados com o rigor científico da OMS, em órgãos Regionais e seus Centros especializados;

b) evidência científica, baseada em dados validados, de carcinogenicidade para pelo menos duas espécies de animais de experimentação com incidência aumentada de tumores malignos:

- em determinado local do corpo ou órgão, com tumores do mesmo tipo;

- em diversas provas, de preferência com diferentes vias de administração e com diversas doses."

Em relação aos aspectos toxicológicos, a reavaliação de agrotóxicos ocorre quando há alguma indicação de perigo ou risco à saúde humana, em comparação a avaliação feita para a concessão de registro. As novas evidências podem ser apresentadas mediante novos estudos e pelo avanço dos conhecimentos científicos. A ANVISA publicou a reavaliação toxicológica do ingrediente ativo glifosato, por meio da Resolução RDC nº 10 de 22 de Fevereiro de 2008, devido à suspeita de efeitos à saúde, à sua larga utilização no Brasil, os relatos de casos de intoxicação ocupacional e acidental, a solicitação de revisão da dose estabelecida para a Ingestão Diária Aceitável (IDA) por parte de empresa registrante, e ainda pela necessidade de controle de limite máximo de impurezas presentes no produto técnico. A presente Nota Técnica é o objeto desta reavaliação, na qual foram considerados todos os dados e estudos disponíveis até o momento, considerando-se o peso das evidências obtidas, a relevância para os humanos e se os efeitos observados se encontravam nas características legais proibitivas de registro<sup>2</sup> (Brasil 1992). Nessa Nota Técnica foram utilizados estudos presentes nos dossiês apresentados pelas companhias registrantes para a ANVISA e também os incluídos nas revisões publicadas por algumas agências regulatórias internacionais (i.e. Germany, 2015; Health Canada, 2015; U.S. EPA, 1986; JMPR/WHO/FAO, 2004), bem como por dados brutos de incidências de neoplasias disponíveis online de material suplementar de uma revisão consolidada de 14 bioensaios realizados em roedores com o glifosato (Greim et al., 2015). Além disso, estudos presentes na literatura, assim como os citados pela Agência Internacional de Pesquisa em Carcinoma (IARC) e referentes ao ingrediente ativo glifosato (não o formulado), também foram utilizados, empregando-se critérios de avaliação do risco e de seleção de relevância e confiabilidade dos dados (como utilizados pelas agências

internacionais, e.g.: NTP, 2015; EFSA, 2010, 2011; BfR, 2010; IPCS, 2007; OECD 2012; Kier e Kirkland, 2013; Klimisch et al., 1997).

### 3. SITUAÇÃO INTERNACIONAL

O glifosato é um agrotóxico que tem sido extensivamente investigado sobre o seu potencial muitas vezes controverso em produzir efeitos adversos para a saúde em seres humanos. Governo, agências regulamentadoras, organizações internacionais, e outras instituições científicas e especialistas em vários países têm avaliado os dados científicos disponíveis para julgar de forma independente a segurança do glifosato. A Agência Ambiental do Canadá (Health Canada), dos Estados Unidos (US EPA), a Autoridade de Segurança Alimentar Européia (EFSA) e Organização Mundial da Saúde (WHO/FAO/JMPR) publicaram revisões que utilizam métodos e princípios de toxicologia aceitos internacionalmente, e concluíram que não há motivo suficiente para preocupação à saúde humana com relação ao ingrediente ativo glifosato. No entanto, a Agência Internacional de Pesquisa em Carcinoma (IARC) acredita que há associação entre risco de aumento de incidência de carcinoma em humanos e a exposição ao glifosato com base em evidências coletadas de estudos publicados na literatura.

O documento mais recente atualmente é o da Reunião Conjunta do Painel de Especialistas sobre Resíduos de Pesticidas em Alimentos e Meio Ambiente da Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (FAO) com a Organização Mundial da Saúde (WHO) e seu Núcleo de Avaliação sobre Resíduos de Pesticidas (JMPR), publicado em Maio de 2016 (JMPR/FAO/WHO, 2016). O grupo publicou apenas um resumo preliminar do documento que ainda será divulgado, mas a

reunião concluiu que tendo em vista a ausência de potencial carcinogênico em roedores com doses humanas relevantes e a ausência de genotoxicidade por via oral em mamíferos, e considerando as evidências epidemiológicas de exposições ocupacionais, é improvável que o glifosato ingrediente ativo represente um risco cancerígeno para os seres humanos com a exposição através da dieta (JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES, 2016).

Abaixo estão exemplos da situação de registro dos produtos à base de glifosato em alguns países que consideram relevantes as referências das autoridades internacionais mencionadas acima (Tabela 1).

**Tabela 1:** Situação do registro dos produtos a base de glifosato em alguns países (pesquisa atualizada em 23/Junho/2016).

PAÍS	REGISTRO
Austrália	Autorizado (atualização 06/Agosto/2013)
Canadá	Autorizado. Até 15 de Março de 2015, este e nenhum outro país membro da OECD proibiu qualquer uso do glifosato.
Colômbia	Em Maio de 2015, o Governo proibiu a aspersão aérea do glifosato para erradicar as plantações de coca no país., mas em Maio de 2016 o Conselho Nacional de Narcóticos (CNE) anunciou que o agrotóxico pode voltar a ser usado para o mesmo fim, no entanto por via terrestre e com um protocolo especial de controle e segurança dos trabalhadores do terreno e das comunidades das áreas fumegadas.
Equador	Autorizado. Classificado como ligeiramente perigoso (atualização Maio/2016)
EUA	Em reavaliação do registro. Em 06/05/2016 publicou um documento de que o glifosato não era cancerígeno para humanos, mas depois o retirou do website por não se tratar de versão final do documento.  Em 29/05/2015 publicou documento do programa substâncias em <i>screening</i> inicial sobre os efeitos de desregulação endócrina (EDSP) onde não houve interação das vias estrogênica, androgênica ou tireoidiana dos Teste Tier 1 com o glifosato.
Japão	Autorizado (atualização em 01/Junho/2016)

<p>União Europeia</p>	<p>Em reavaliação do registro. Consta incluído no Anexo I da Diretiva 91/414/EEC da União Europeia. Em 01 de Junho de 2016, o Parlamento Europeu estendeu a autorização atual de glifosato por um período limitado até que a Agência Europeia dos Produtos Químicos (ECHA) conclua sua revisão. No entanto, independentemente da votação, cada Estado Membro pode tomar as suas decisões, ou seja, a Comissão pode proibir o uso de uma substância, mas não o produto final. Também está em discussão pela EFSA a concentração máxima de resíduos permitida nos alimentos.</p> <p>O Ministério da Agricultura proibiu recentemente os herbicidas que contenham taloamina, um coadjuvante do glifosato. Até ao final de Junho/2016 têm de ser retirados do mercado.</p>
-----------------------	--

Fontes: Austrália: <http://apvma.gov.au/node/10916>; Canadá: <http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pest/index-eng.php>; Colômbia: [http://internacional.elpais.com/internacional/2016/05/05/colombia/1462412622\\_636433.html](http://internacional.elpais.com/internacional/2016/05/05/colombia/1462412622_636433.html); Equador: <http://www.agrocalidad.gob.ec/listados-oficiales-plaguicidas-agricolas/>; Japão: <http://www.acis.famic.go.jp/eng/ailist/index.htm>; EUA: <http://www.regulations.gov>; <http://beyondpesticides.org/dailynewsblog/2016/05/epa-releases-then-pulls-its-report-that-disputes-cancer-finding-for-glyphosate-roundup/>; União Europeia: [http://europa.eu/rapid/press-release\\_STATEMENT-16-2011\\_en.htm](http://europa.eu/rapid/press-release_STATEMENT-16-2011_en.htm)

#### 4. SITUAÇÃO NACIONAL

Vários efeitos tóxicos observados em estudos publicados e disponíveis na literatura foram obtidos após exposição a produtos formulados contendo glifosato, os quais parecem apresentar maior toxicidade que o próprio ingrediente ativo (conforme descrito no item 6.4 de "ANÁLISE"). Por falta de detalhamento da composição nos artigos científicos, estes estudos não podem ser comparáveis quali e/ou quantitativamente com os produtos formulados contendo outros co-adjuvantes com igual ou maior poder tensoativo em relação às marcas comerciais registradas no Brasil. Assim, a ausência de estudos publicados com produtos formulados comercializados no país não significa que os mesmos não apresentem efeitos aditivos ou sinérgicos ou ainda, que sejam inócuos. Portanto, a presente Nota Técnica baseou-se na avaliação da informações referentes apenas ao ingrediente ativo glifosato para discutir e concluir quanto à sua carcinogenicidade. Então, outros dados sobre o produto técnico,

formulações, comercialização e monitoramento no Brasil não foram aprofundadas nesta Nota, mas serão fornecidas pela Coordenação de Reavaliação de Agrotóxicos (CREAV) da ANVISA próximo ao período de consulta pública para que, quando publicados, estejam atualizados e possam ser incluídos nas decisões finais sobre o registro desse agrotóxico no país.

## II. ANÁLISE

---

### 1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

Glifosato é um composto anfótero de alta polaridade, insolúvel em solventes orgânicos e usado como herbicida foliar não-seletivo que inibe o crescimento de plantas através da interferência na produção de aminoácidos aromáticos essenciais pela enzima enolpiruvilsiquimate fosfato sintetase presente na biosíntese exclusiva de plantas. Atualmente o composto é comercializado por companhias distintas e cada uma com formulações e conteúdos diferentes de impurezas produzidas junto com o material técnico, o que torna importante a validação da equivalência toxicológica do ingrediente ativo de cada companhia individualmente. Foram identificadas duas impurezas relevantes, o formaldeído, que é classificado internacionalmente como Tóxico, Carcinogênico e Mutagênico (CE- Comissão Européia n.º 1272/2008 - EFSA, 2015b; IARC, 2006); e o N-nitro-glifosato, pertencente a um grupo de impurezas (nitrosaminas) com potencial cancerígeno genotóxico (Lund, 1986; Lijinsky et al., 1974; Sittig, 1980). No Brasil, essas impurezas são consideradas toxicologicamente relevantes, com limites e controles determinados em legislação de 0,001g/kg para o N-

nitroso glifosato e 1,3g/kg para o formaldeído presentes no ingrediente ativo (BRASIL, 2008; FAO, 1958). Outras possíveis impurezas (insolúveis em 1M NaOH) precisam ser melhor identificadas e documentadas quanto aos seu perfil toxicológico por parte das companhias.

No Brasil, quatro tipos de sais de glifosato estão registrados e os estudos toxicológicos avaliados foram os com o glifosato na sua forma de sal, considerada a principal forma de exposição ocupacional e dietética do produto técnico.

## **2. METABOLISMO E FARMACOCINÉTICA**

O glifosato apresenta absorção rápida, mas incompleta após a administração oral (cerca de 20% da dose administrada, baseada na excreção urinária após 48 horas e comparação do comportamento cinético após administrações oral e intravenosa). Como é esperado em substâncias pouco absorvidas pelo trato alimentar, a eliminação do glifosato ocorre principalmente pelas fezes e com o composto na sua forma inalterada. O glifosato que é absorvido quase não é metabolizado, distribuí-se amplamente pelo corpo, não sofre circulação enteral e é rapidamente eliminado (Ridley e Mirley, 1988; Howe et al, 1988; Davies 1996). Os resultados dos estudos com múltiplas doses demonstrou que a dosagem oral repetitiva não apresentou efeito significativo na eliminação do glifosato (quando comparado com o ensaio de dose única) e que o mesmo foi totalmente eliminado em 7 dias, com total de resíduos  $\leq 1\%$  da dose após esse período (Brewster *et al.*, 1991). Esses resultados demonstram que o herbicida não apresenta potencial de bioacumulação.

Nas análises metabólicas, o ácido aminometilfosfônico (AMPA) foi o único metabólito ativo encontrado e em quantidades mínimas de 0,2 a 0,4%, no tecido e no conteúdo do cólon em alguns animais (Colvin et al, 1973; Colvin e Miller, 1973; Bodden, 1988; Brewster *et al.*, 1991; Davies, 1996; Estudo XV, 1987). AMPA é o metabólito mais bem estudado até hoje, apresentando baixa toxicidade aguda oral e dérmica, sem sensibilização, além de mostrar-se consistentemente negativo *in vitro* em bactérias (teste de Ames), no ensaio de linfoma do rato e em hepatócitos de rato (danos e reparos ao DNA). *In vivo*, não produziu um aumento na frequência de micronúcleos em medula óssea de ratos em duas linhagens utilizando exposição oral ou injeção intraperitoneal (Estudo LXIX, 1993; Williams et al., 2000), e será melhor caracterizado nas seções seguintes.

Os estudos de análise de absorção dérmica utilizando glifosato mostraram baixas taxas de penetração (menor que 2%) em pele de macaco Rhesus *in vivo* e de humanos *in vitro* (Maibach 1983; Ward 2010; Hadfield 2012) . Portanto, a exposição sistêmica do glifosato ou seu metabólito AMPA resume-se a uma combinação de baixa absorção e rápida excreção após contato oral e/ou dérmico.

### **3. TOXICIDADE AGUDA E SUBCRÔNICA**

A toxicidade aguda do glifosato foi estudada em animais de laboratório. A dose letal para metade da população de animais testada (DL<sub>50</sub>) oral e dérmica foi reajustada da anterior estabelecida pela Organização Mundial da Saúde (WHO) em 1994 de 5000 mg/kg peso corpóreo (pc) para >2000 mg/kg pc., assim como outras agências regulatórias internacionais (EFSA, 2015a e Health Canadá, 2015 - oral e dérmica >2000 mg/kg pc.; US EPA, 1993 >4320 mg/kg pc., oral e > 2000mg/kg pc., dérmica). A baixa

toxicidade aguda do glifosato foi evidenciada por estudos com roedores expostos por via oral, inalatória e dérmica. No entanto, a severa irritação ocular com glifosato ácido em coelhos (WHO, 1994) demonstra a necessidade de classificação nessa categoria para indicação de uso de equipamentos de proteção individual quando da manipulação do produto sintetizado nessa forma. O glifosato não provocou sensibilização dérmica em porco da Índia (Auletta, 1983)

Os órgãos afetados pelo glifosato durante os ensaios subcrônicos com roedores foram principalmente o sistema gastrointestinal, glândulas salivares, fígado e bexiga. Catarata também foi reportada em estudos mais longos com ratos. Observou-se irritação desses sistemas e também diminuição de peso, geralmente seguido de diminuição de peso corpóreo ao final dos experimentos com ratos e camundongos (Tierney, 1979; Stout e Johnson, 1987, Estudo I, 1987; Estudo II, 1991; NTP, 1992; Estudo, III 1993; Estudo IV, 1995; Estudo V, 1995; Coles et al, 1996; Estudo VI, 1996).

Os sinais gastrointestinais que foram observados após a administração de doses elevadas de glifosato em mamíferos (animais de laboratório e de fazendas) são muito provavelmente devido às propriedades irritantes bem estabelecidas de ácido de glifosato e não pode ser diretamente atribuída à alterações da microflora do intestino. Isso se confirma com resultados de estudos quantitativos de microflora de ruminantes (animais monogástricos mais sensíveis que humanos) que não apresentaram aumento de crescimento de *Clostridium botulinum* quando expostos ao glifosato (Riede et al, 2013; EFSA, 2015b).

Também devido às condições de baixo pH na cavidade oral proveniente de uma dieta acidificada pelo glifosato, estudo específico mimetizando a mesma situação com

outros compostos (e.g. ácido cítrico) comprovaram que a resposta das glândulas salivares ao glifosato ocorre como resultado de uma resposta celular adaptativa da mucosa quando exposta à dietas ácidas (Estudo LXX, 2010). Além disso, as glândulas salivares dos roedores são distintas dos humanos e sua maior sensibilidade a alguns compostos nem sempre tem a mesma relevância para o homem.

O fígado e rins, órgãos de metabolização e depuração de toxinas, apresentaram principalmente alteração bioquímica e inflamação nos estudos com glifosato, possivelmente também decorrentes de resposta adaptativa à desidratação provocada pela irritação gastrointestinal e palatabilidade reduzida com a dieta ácida (diminuição do consumo de ração resultado da diluição do seu conteúdo calórico pelo incremento de 2.5 a 5% de glifosato). Outros efeitos nesses órgãos (fígado e rins) serão discutidos em outras seções dessa Nota Técnica. Em estudos subcrônicos com cães Beagle, por exemplo, que se demonstraram mais sensíveis que roedores, algumas das alterações encontradas nas investigações do laboratório (como aumento nos parâmetros de células sanguíneas, e dos níveis de proteína e albumina) foram indicativos de hemoconcentração, que provavelmente foi secundária à desidratação causada pela diarreia e desidratação ocorrida por severa irritação intestinal desde o início do tratamento (Reyna e Ruecker, 1985; Estudo VII, 1990; Estudo, VIII 1996; Estudo IX, 1996; Brammer, 1996; Estudo X, 1997; Estudo XI, 1999; Estudo XII, 2007; Estudo XIII, 2007). Em geral, vários foram os estudos com cães por um ano de exposição ao glifosato e os efeitos foram diminuição dos níveis de cálcio no sangue, vômitos e alteração dos parâmetros bioquímicos e hematológicos, mas os níveis foram pouco diferentes dos controles e geralmente não dose-resposta.

Em um estudo independente conduzido por Chan e Mahler de uma organização governamental de pesquisa internacional nos Estados Unidos (Programa Nacional de Toxicologia- NTP) em 1992 (NTP, 1992), a exposição subcrônica (90 dias) de ratos Fischer 344/N não provocou morte dos animais mesmo expostos a altas doses de glifosato com 99% de pureza (3393 mg/kg pc./dia), mas observou-se diarreia e diminuição do ganho de peso desses machos e fêmeas ao final do experimento. Num outro estudo com camundongos B6C3F1 realizado pelo mesmo grupo, no mesmo ano e sob as mesmas condições, apesar de duas mortes reportadas pelos patologistas como não relacionadas ao tratamento e de diminuição de peso corpóreo de ambos os sexos, não houve sinais clínicos de toxicidade com doses de até 10,780 mg/kg pc./dia em machos e 11,977 mg/kg pc./dia em fêmeas (NTP, 1992).

Os sinais de irritação intestinal e diminuição de peso corpóreo, além de cistite da bexiga urinária, alteração bioquímica clínica do fígado, e hiperplasia e basofilia dos ácinos das glândulas salivares (somente em roedores) foram encontrados em doses mais baixas nos animais expostos ao glifosato, e a dose menor sem efeito adverso observado (NOAEL) relevante para exposição oral de ratos e camundongos em estudo de 90 dias de exposição é de 414 mg/kg pc./dia (Estudo II, 1991; Estudo III, 1993; Estudo IV, 1995; Estudo VI, 1996) e 500 mg/kg pc./dia (NTP 1992), respectivamente; e de 300 mg/kg pc./dia, em cães após 90 dias (Estudo IX, 1996; Estudo XI, 1999; Estudo XII, 2007) e 1 ano de exposição ao glifosato (Estudo VII, 1990; Brammer, 1996; Estudo XIII, 2007). Na exposição dérmica, o NOAEL sistêmico para estudos de 21/28 dias em ratos é de 1000 mg/kg pc./dia (Pinto, 1996) e de 5000 mg/kg pc./dia em coelhos (Estudo XIV, 1994), e para irritação local de 500 mg/kg pc./dia em ratos e 1000 mg/kg pc./dia em coelhos pelo mesmo período de exposição (Pinto, 1996; Estudo XIV, 1994).

Em resumo, não houve efeito adverso relacionado ao tratamento com glifosato em ratos, camundongos e cães expostos por várias semanas.

A toxicidade subcrônica do metabólito AMPA foi investigada em ratos e cães (Estes, 1979; Tompkins, 1991) e os efeitos (aumento de glicose e aspartato aminotransferase no sangue e cristais de cálcio na urina na alta dose, além de irritação do trato urinário na alta média e alta dose) relacionados ao tratamento foram observados apenas em níveis de dosagem muito elevadas. O NOAEL para os ratos é de 400 mg/kg pc./dia, enquanto que em cães é a maior dose testada de 263 mg/kg pc./dia. Com base nestes resultados, conclui-se que a toxicidade subcrônica de AMPA, como a de glifosato produto técnico, é baixa.

## **4. GENOTOXICIDADE**

### **4.1 Avaliação de dados genotóxicos e o peso das evidências**

Na avaliação de dados genotóxicos, os objetivos foram determinar a probabilidade de ocorrer determinado evento-chave e quando esse evento pode levar à alterações hereditárias associadas a qualquer efeito adverso *in vivo*, incluindo carcinoma. Para isso, considerou-se as diferenças estatísticas reprodutíveis e biologicamente significantes e também uma relação dose-resposta para o efeito observado, o qual deve ser permanente e progressivo e não reversível quando retirada a exposição. A caracterização dos efeitos no material genético (DNA) foi um fator relevante observado nos estudos considerados aceitáveis, assim como a discussão das inconsistências encontradas nos ensaios para, ao final, avaliar se os efeitos produzidos foram relevantes para os humanos. Esse é um modelo clássico usado para selecionar as fontes de dados numa avaliação de risco consistente e guiada pelo Conselho

Nacional de Pesquisa (NRC, 1983), com procedimentos similares empregados por diversas agências regulatórias internacionais. Nessa análise, o peso das evidências é ainda significativamente afetado pela relevância dos dados disponíveis, ou seja, os ensaios de curta duração podem revelar evidências de eventos genotóxicos *in vitro* ou *in vivo* que podem ser comparáveis com exames mais compreensivos em animais expostos no bioensaio carcinogênico em roedores de 2 anos, por exemplo.

## 4.2 Genotoxicidade do glifosato

Existem muitos estudos sobre a genotoxicidade do glifosato (mais de 100) provenientes das companhias produtoras e da literatura, reunidos em dossiês e revisões. Um resumo em tabelas com detalhes de concentração, métodos e resultados dos estudos mais relevantes avaliados pelo presente documento estão presente no Apêndice. Todos os parâmetros requeridos para registro, como mutação gênica em bactéria e células mamárias, aberrações cromossômicas estruturais e numéricas *in vitro* e *in vivo*, foram investigadas em estudos realizados conforme os guias validados internacionalmente pela OECD (Organização de Cooperação e Desenvolvimento Econômico) e os princípios de Boas Práticas de Laboratório (BPL), além de estudos publicados na literatura com experimentos não-BPL delineados pelos autores dos estudos.

Nos testes *in vitro* com células mamárias e bactérias os resultados foram consistentes e negativos, e mesmo nos estudos pouco confiáveis ou de baixa qualidade não houve nenhuma indicação de genotoxicidade. Com relação ao ensaio *in vitro* de aberração cromossômica (CA) em células de mamíferos, todos os testes foram

executados sob condições BPL, assim como vários foram os estudos publicados na literatura com resultado negativo utilizando concentrações de até 1250 µg/L (Li 1983; Clay 1996; Jensen 1991). Entretanto, resultados positivos foram encontrados em alguns estudos públicos de aberração cromossômica a níveis de baixa dose (Lioi et al, 1998 a,b) em outros parâmetros considerados apenas como indicadores (e.g. troca entre cromátides irmãs (SCE) e indução de quebras de fita de DNA *in vitro*). Em particular nesses dois estudos com linfócitos humanos e bovinos *in vitro*, há vários problemas relacionados à consistência dos dados e à comparação com outros agrotóxicos com diferentes modos de ação testados juntos; a frequência de SCE encontrada no controle de células não tratadas também foi extremamente baixo comparado com o esperado em linfócitos humanos; o número de indivíduos cujos linfócitos foram examinados não apresentou nenhum padrão de determinação de significância estatística e os aumentos nos resultados observados foram variáveis e nem sempre dose relacionados. Portanto, esses estudos não podem ter o mesmo peso de evidências que os estudos conduzidos sob condições BPL. No caso do glifosato, as indicações positivas observadas em alguns testes *in vitro* não foram confirmadas pelos estudos *in vivo* que abrangem mais parâmetros mutagênicos juntos e de forma metabólica, sistêmica e sinérgica, similares aos encontrados em humanos, como são os testes de micronúcleo *in vivo*.

Numa avaliação de 16 estudos *in vivo* com células somáticas de roedores tratados oralmente com doses de até 5,000 mg/kg pc. ou injeções intraperitoneais de estudos publicados na literatura (conduzidos de acordo com protocolos internacionais e outros não-BPL) houve resultado negativo para genotoxicidade do glifosato. Os estudos do glifosato na organização cromossômica *in vivo* foram quase totalmente

negativos. Os dados de estudos de micronúcleo (De Marco et al., 1992; NTP, 1992; Rank et al, 1993; Bolognesi et al., 1997; Kier et al., 1997) e os sobre efeitos cromossomal em medula óssea (Li e Long, 1988) foram consistentemente negativos, exceto por um estudo publicado por Bolognesi et al. (1997). Neste último estudo não-BPL foi observado acúmulo de adutos 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) em fígado de camundongos tratados com glifosato intraperitoneal em altas quantidades (270 mg/kg glifosato em Bolognesi et al, 1997; e 130 e 270 mg/kg glifosato em Peluso et al, 1998). Glifosato administrado intraperitonealmente (i.p) é mais tóxico que a exposição dérmica ou por ingestão, e estas doses periletais ( $DL_{50}$  camundongos i.p. 134 a 545 mg/kg pc. - WHO, 1994) usadas nos estudos podem ter levado à acumulação desses adutos oxidativos. Produtos de espécies reativas do oxigênio, incluindo o 8-OHdG, são estáveis e tendem a formar adutos com proteínas e ligação cruzada com DNA com baixa frequência (Randerath *et al.*, 1997a,b). Esses achados encontrados por Bolognesi et al, (1997) e Peluso et al, (1998) não são consistentes com um modo de ação específico para o glifosato e o aumento nos níveis de 8-OHdG não são por definição, indicadores de uma interação química com o DNA. Esses produtos podem ser resultado de efeitos secundários associados à indução química ou inibição do reparo de lesões espontâneas devido à toxicidade. Ainda, o solvente utilizado por Peluso et al. (1998) não pode detectar produtos oxidativos no DNA (Randerath *et al.*, 1997a).

De forma similar, o aparecimento de quebras de fitas simples de DNA em tecido hepático e renal desses animais (Bolognesi et al, 1997; Peluso et al, 1998) após experimentos com eluição alcalina, podem ser indicativos de eventos citotóxicos que reduzem ou retardam as taxas de replicação do DNA, dando a aparência de eventos de quebra. Os sítios alcali-lábeis são geralmente produzidos em sítios abásicos do DNA e

podem ser revelados em condições de denaturação secundária da estrutura do material genético. Como estes sítios alcali-lábeis foram transitórios no estudo, isto é, puderam ser detectados em um curto período de tempo após a exposição e não foram mais evidentes após 24h da exposição, este evento também sugere ser um efeito indireto de exposição.

O tipo de bioensaio usado por Bolognesi et al. (1997) não pôde diferenciar entre sítios verdadeiramente abásicos (como os gerados por DNA liases enzimáticas), sítios produzidos por excisão gerada do sistema reparo, ou interrupções naturais de DNA encontradas em pontos de replicação do DNA. Ainda, o ensaio de síntese não programada de DNA (USD) foi negativo em hepatócitos (Li and Long, 1988), o que pode indicar que o efeito de quebra de fita simples de DNA relatado por Bolognesi et al (1997) não seja necessariamente um aumento do número de sítios de excisão por erro no DNA, mas sim um evento de aumento do número de células aprisionadas na fase S da divisão celular. Peluso et al (1998) não observou formação de adutos de DNA ou ligação covalente de resíduos com o DNA no tecido dos animais expostos ao glifosato. Assim, a fraca produção de quebras de fita simples de DNA demonstradas pela eluição alcalina e pelo ensaio do Cometa (Clements et al, 1997; Bolognesi et al, 1997; Peluso et al, 1998) são todos sugestivos de efeitos secundários de exposição ao glifosato e provavelmente são decorrentes de citotoxicidade e não efeito direto da exposição. Também não houve efeito genotóxico em células germinativas de rato e camundongos tratados oralmente com doses de até 2,000 mg/kg pc. (EPA 1980; Estudo XVI, 1992).

Portanto, conclui-se que o glifosato não apresenta mutagenicidade ou genotoxicidade consequente de uma reação química direta com o material genético DNA das células.

### 4.3 Genotoxicidade e os estudos avaliados pela IARC

A IARC considerou alguns estudos relevantes em sua monografia (2015) que não foram incluídos na avaliação da genotoxicidade do glifosato na presente Nota Técnica pelos motivos especificados individualmente em cada artigo científico:

AUTORES	AVALIAÇÃO
Paz-y- Mino et al., 2007 e 2011.	<p>Resumo: Estudos onde foram analisadas as consequências da pulverização aérea com glifosato adicionado a uma solução de surfactante na parte norte do Equador, investigando indivíduos expostos e controle não expostos usando o ensaio cometa. Os resultados mostraram um grau mais elevado de danos no DNA no grupo exposto em comparação com o grupo de controle.</p> <p>Análise: Os trabalhos apresentaram documentação insuficiente em relação ao teste do Cometa (Código Klimisch 3). Também não são relevantes para a avaliação desta Nota Técnica por utilizar formulação com glifosato e aplicação em altas doses, muito maiores que as recomendadas internacionalmente para o uso. Ainda, o agrotóxico foi adicionado de um coadjuvante (Cosmoflux 411F) não utilizado no Brasil e que pode aumentar a ação biológica do herbicida.</p>
Mladinic et al., 2009 a, b.	<p>Resumo: Estudo com teste de bloqueio de citocinese e formação do micronúcleo com exposição por 4 horas cultura de linfócitos humanos em cultura ao glifosato ingrediente ativo (96%). Resultados negativos foram observados para as culturas sem ativação metabólica mamália exógena (-S9), mas positiva nas (+S9).</p> <p>Análise: Não há indicação de BPL. Resultados não reportados separadamente para culturas replicadas ou amostras individuais. Código independente e aleatório para visualização e contagem das lâminas não indicado. Não há indicação de controle de pH e osmolaridade. Com o teste do cometa hOGG1 modificado, +S9, o aumento foi significativo (P &lt;0.01) apenas com a dose mais elevada testada (580 ug / mL). Autores declararam que não há efeito dose-resposta observado.</p> <p>É importante notar que o glifosato é excretado quase sem metabolização em mamíferos <i>in vivo</i>, com apenas alguns pequenos níveis de AMPA ou estruturas AMPA-relacionadas (Brewster et al., 1991). Assim, os efeitos mediados por S9 nos estudos de Mladinic et al., não estão relacionados com metabólitos</p>

	<p>relevantes <i>in vivo</i>. Outros estudos <i>in vitro</i> conduzidos com o glifosato em dose similar a de Mladinic et al., e a avaliação de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos (Williams et al., 2000) ou formação de micronúcleo em linfócitos bovinos (Piesova, 2005) apresentaram resultados negativos. No geral, esses resultados sugerem a possibilidade de um efeito citotóxico aneugênico fraco ao invés de clastogênico (quebra de cromossomo) em presença do S9 na alta dose de glifosato testada. Assim, os resultados de um único laboratório como o de Mladinic não são reprodutíveis quando comparados com os numerosos resultados negativos de outros consistentes estudos <i>in vitro</i> também utilizando metabolização exógena. Portanto, os estudos de Mladinic et al. não apresentam significativo peso nas evidências para avaliação da genotoxicidade <i>in vitro</i> e então, não é relevante na análise da genotoxicidade <i>in vivo</i>.</p>
<p>Vigfusson e Vyse, 1980.</p>	<p>Resumo: Três agrotóxicos incluindo o produto formulado do glifosato - Roundup foram utilizados no teste de indução trocas de cromátides irmãs (SCE). O herbicida aumento a frequência de SCE em altas concentrações.</p> <p>Análise: o material utilizado no teste foi um produto formulado contendo surfactante. Os autores confirmam que a citotoxicidade foi um fator confundidor na interpretação dos dados. Desde a época deste estudo, por volta de 1980, os efeitos de surfactantes em testes <i>in vitro</i> têm sido melhor documentados.</p> <p>Apenas mudanças muito pequenas nas SCE foram documentadas, com dados limitados a apenas 2 doadores, além de ausência de dose-resposta. A análise estatística, portanto, não é representativa e praticável com esse tamanho amostral.</p> <p>O estudo, portanto, não é relevante para a presente Nota Técnica por utilizar formulação com glifosato, apresentar limite de dados amostrais, achados internos inconsistentes, sem análise estatística e sem efeito dose-resposta Código Klimisch 3).</p>
<p>Siviková e Dianovisky, 2006.</p>	<p>Resumo: Estudo com teste de indução de aberrações cromossômicas em cultura de linfócitos bovinos exposta a produto formulado à base de glifosato 62% em peso. O estudo utilizou uma concentração máxima de 1.12 mM que levou à redução na inibição mitótica em &gt;50%, mas mostrou resultados negativos para a indução de aberrações cromossômicas.</p> <p>Análise: O estudo apresenta uma série de limitações como a não utilização do sistema de ativação metabólico mammaliano exógeno (S9) para o teste de aberração cromossômica <i>in vitro</i>; resultados não reportados separadamente para culturas replicadas ou amostras individuais; sem indicação de código independente e aleatório para visualização e contagem das lâminas; não há indicação de controle de pH e osmolaridade. Ainda assim, este estudo mostrou resultados negativos para efeitos de aberrações cromossômicas após exposição ao glifosato sal de isopropilamina em cultura de células mammalianas <i>in vitro</i> e em diferentes concentrações, com exposição de 2-24 horas e sem S9.</p> <p>O estudo, portanto, não é relevante para a presente Nota Técnica por utilizar produto formulado com glifosato e apresentar diversas limitações metodológicas.</p>
<p>Dimitrov et al.,</p>	<p>Resumo: Estudo <i>in vitro</i> de avaliação de indução de aberrações</p>

2006.	<p>cormossômicas e formação de micronúcleo em pontas de raiz de cebola incubadas com o produto formulado do glifosato -Roundup. A máxima exposição ao concentrado (determinado como contendo 1% do ingrediente ativo) é estimada na ordem de 4-6mM. Os resultados foram negativos para a indução de aberrações cromossômicas e formação de micronúcleo.</p> <p>Análise: O estudo não utilizou o sistema de ativação metabólico mammaliano exógeno (S9), mas apresenta resultados de falta de efeitos cromossômicos para o glifosato e um produto formulado à base de glifosato. em um sistema não mammaliano <i>in vitro</i>, também em acordo com outros estudos negativos de crescimento da ponta de raiz de cebola.</p>
Prasad et al., 2009.	<p>Resumo: Estudo com teste de indução de aberração cromossômica e formação de micronúcleo em medula óssea de camundongo após exposição ao produto formulado do glifosato -Roundup administrado com o veículo dimetilsulfóxido. O resultado foi positivo na dose de 50 mg/kg i.p.</p> <p>Análise: O estudo utilizou apenas uma dose do produto; menos de 100 metáfases contabilizadas por animal; resultados não reportados separadamente para culturas replicadas ou amostras individuais; sem indicação de código independente e aleatório para visualização e contagem das lâminas.</p> <p>Vários outros laboratórios e estudos não tiveram o mesmo resultado com Roundup e outras formulações (revisão de Williams et al., 2000), mas a razão da discordância não é clara. Uma grande diferença neste estudo foi o uso de dimetilsulfóxido como veículo num estudo <i>in vivo</i> de genotoxicidade, particularmente porque tanto o glifosato como as formulações são solúveis em água. Outros experimentos com formulação contendo POEA e não glifosato administrada i.p com dimetilsulfóxido/óleo de oliva em camundongos produziu severos efeitos tóxicos no fígado e rins assim como em estudos com formulações contendo glifosato; isto pode indicar que o aumento da toxicidade primária pode ser decorrente dos componentes da formulação e não necessariamente do glifosato quando administrado com veículo salino por via oral (Heydens et al., 2008).</p>
Grisolia, 2002.	<p>Resumo: Estudo com teste de indução de formação de micronúcleo em camundongos após duas exposições intraperitoneais diárias com produto formulado do glifosato- Roundup contendo surfactante (120 g/L). A dose de até 200 mg/kg pc não induziu a formação de micronúcleo. O estudo também utilizou eritrócitos sanguíneos de peixe da espécie <i>Tilapia rendalli</i> exposta a 42, 85 ou 170 mg/kg pc de formulação com glifosato. Neste animal, houve aumento da frequência de formação de micronúcleo na menor dose quando comparado com o controle, em amostras de sangue coletadas após 4 dias de injeção intraperitoneal.</p> <p>Análise: O estudo não apresenta resultados consistentes nas duas espécies, além de não apresentar efeito dose-resposta no peixe. Estes foram coletados de um lago de uma reserva tropical na cidade de Brasília-DF e podem possivelmente apresentar contaminação por substâncias desconhecidas carregadas pela chuva, por exemplo.</p> <p>Um outro estudo com peixes de reservatório da espécie <i>Anguilla anguilla</i> (Guilherme et al., 2012) expostos a concentrações ambientalmente relevantes de</p>

---

uma formulação Roundup (58.116 ug/L), glifosato (17.9, 35.7 ug/L) e surfactante com base em POEA (9.3, 18,6 ug/L) durante 1 e 3 dias, aplicou o ensaio cometa às células do sangue, quer como o procedimento padrão, ou como um passo adicional envolvendo enzimas de reparação de DNA específicas de lesão, a fim de tratar danos no DNA e mecanismos possivelmente com o reparo. O resultado foi que os peixes expostos à concentração mais elevada do ingrediente ativo glifosato durante 3 dias recuperou os danos que tinham sido detectados após exposição de 1 dia. Em outros três estudos regulatórios (Germany, 2015), realizados de acordo com orientações de ensaio acordadas a nível internacional, o glifosato ingrediente ativo foi avaliado para a sua toxicidade sobre a reprodução dos peixes. Em geral, os valores de NOEC crônicas para peixes de  $\geq 10$  mg/L são indicativos de baixa toxicidade crônica. O parâmetro crônico do estudo de 255 dias de "ciclo de vida completo de peixes" com *Pimephales promelas* foi de 25.7 mg a.s./L. A avaliação do risco para o metabólito AMPA em organismos não-alvo também baseou-se nos resultados de um estudo de "fase precoce da vida", em que os embriões de peixes foram expostos durante 33 dias num fluxo através do sistema. Os resultados demonstram toxicidade crônica baixa do glifosato aos embriões semelhante à toxicidade aos peixes parentais, com um valor NOEC de 12 mg a.s./L, que foi a concentração mais alta testada. Não houve nenhum efeito sobre a sobrevivência e os parâmetros de crescimento de *Pimephales promelas* observada com a maior concentração testada (Germany, 2015).

Assim, além de não estar clara a relevância para a saúde humana deste teste de Grisolia com peixes, não é possível identificar a interferência proveniente da formulação do produto utilizado, nem de outras substâncias as quais esses animais coletados do meio ambiente e não de produção controlada em laboratório podem apresentar. Então, o artigo é irrelevante para a avaliação de carcinogenicidade do ingrediente ativo glifosato puro da presente Nota Técnica.

---

É importante ressaltar que a presente Nota Técnica reconhece que a questão da toxicidade das formulações deve ser considerada ainda com alguns estudos publicados de genotoxicidade (os não de acordo com as Boas Práticas de Laboratório ou com as orientações da OCDE) em formulações apresentando resultados positivos in vitro e in vivo. Assim, a toxicidade de formulações e, em particular, o seu potencial genotóxico devem ser mais aprofundadas e consideradas, mas não influenciarão na conclusão final e deste documento baseado na avaliação do ingrediente ativo puro.

## 5. TOXICIDADE CRÔNICA/ ESTUDOS DE CARCINOGENICIDADE

Os critérios de avaliação desta Nota Técnica levou em consideração os critérios utilizados pela IARC (2006) e adicionou outros fatores específicos para avaliação de efeitos carcinogênicos, como parte da abordagem do método de peso das evidências também adotado pela Comissão Européia (European Union 2008 -Reg EC No 1272/2008) . Estes fatores utilizados na avaliação geral do nível de preocupação foram: o tipo de tumor e a incidência histórica; a resposta de múltiplos pontos no organismo; progressão das lesões para malignidade; redução da latência do tumor; resultado de uma resposta em um ou ambos os gêneros; resultado de uma resposta em uma ou mais espécies; busca por similaridade estrutural entre substâncias já com conhecida evidência carcinogênica; relevância e rotas de exposição; comparação entre absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos animais com humanos; possibilidade de interferência de efeitos confundidores decorrentes de uma toxicidade excessiva das doses testadas; modo de ação e sua relevância para o homem, assim como citotoxicidade por aumento de estimulação, mitogênese, imunossupressão ou mutagenicidade. Esses fatores podem ser vistos tanto como aditivos ou redutores do nível de preocupação para carcinogenicidade humana e dependem quantitativamente da coerência das evidências de cada fator. Assim, buscou-se um detalhamento mais completo das informações para se tentar diminuir ao invés de aumentar o nível de preocupação com a substância avaliada, em estudo por estudo com relevância de efeitos observados.

## 5.1 Estudos com animais

A toxicidade crônica e o potencial carcinogênico do glifosato foram avaliados em 6 estudos com camundongos e 10 estudos com ratos submetidos aos dossiês de agências regulatórias. Nos ensaios com **ratos**, não houve aumento significativo da incidência de tumores em nenhum dos grupos de animais tratados. A dose de 100 mg/kg pc./dia representa um NOAEL geral, com base na avaliação combinada de quatro estudos independentes. O LOAEL geral foi de 350 mg/kg pc./dia, baseado nos estudos de (Estudo XVII, 1993; Stout e Ruecker, 1990; Estudo XVIII - XXI, 1997). Os efeitos foram sobre o peso corpóreo e ganho de peso corporal, aumento de peso no fígado e glândulas salivares, alterações clínicas nos parâmetros bioquímicos (por exemplo, aumento da atividade da enzima Alcalino Fosfatase e redução do pH da urina), além de alterações histológicas da glândula salivar parótida, catarata e irritação da mucosa do estômago ou distensão do ceco foram observados, mas não de forma consistente em todos os estudos.

Nos **camundongos**, os efeitos não-neoplásicos se assemelham aos de ratos, mas foram acompanhadas por patologia no fígado e hiperplasia epitelial da bexiga, com um NOAEL geral de 150 mg/kg pc./dia, (baseado em: Estudo XXII, 1983, Estudo XXIII, 1997; Estudo XXIV, 2001). O LOAEL geral foi de 800 mg/kg pc./dia ou acima, pois os primeiros efeitos foram observados a 787 mg/kg pc./dia em fêmeas por Sugimoto (1997) e a 814 mg/kg pc./dia por (Estudo XXII, 1983) em machos. Tal como em ratos, a natureza dos efeitos de doses elevadas de camundongos foi diferente nos diversos estudos, dependendo do laboratório, linhagem animal, seleção da dose e, talvez, o perfil de pureza/impureza do material de teste.

No entanto, a EFSA reportou que dos 9 estudos avaliados em rato pela Agência Europeia, 3 não foram avaliados/incluídos na conclusão dos analistas da monografia do glifosato pela IARC. Em um dos estudos, a IARC reportou aumento de incidência estatisticamente significativa de adenomas de células da ilhota pancreática de ratos machos tratados com a menor dose de glifosato do estudo, efeito não reproduzível em doses mais altas desse experimento (Estudo XXV, 1981). A IARC também avaliou apenas 2 dos 5 estudos com camundongos e identificou uma tendência significativa no aumento de incidência de adenomas e carcinomas de túbulos renais em machos em um dos estudos (Estudo XXII, 1983), e mais uma tendência significativa no aumento de incidência de hemangiosarcomas em outro estudo (Estudo XXVI, 1993), de acordo com o teste Cochran-Armitage conduzido por esse grupo de especialistas.

Em outro estudo de 1990, a IARC reportou o mesmo efeito de aumento de incidência estatisticamente significativa de adenomas de células da ilhota pancreática em ratos machos tratados em dois níveis de dose (mas não de maneira dose-resposta), além de tendência significativa positiva para adenomas hepatocelulares em machos (mas sem progressão maligna), e para adenomas de células C na tireóide das fêmeas (Estudo XXVII, 1990). Na avaliação dos adenomas no fígado, mesmo a IARC observou não existir evidência de progressão desse efeito no órgão. Ou seja, este tipo de patologia hepática é comum em estudos com roedores e não tem a mesma frequência e incidência em humanos, tornando-se relevante apenas quando todos os estágios da carcinogênese no fígado estão presentes (i.e., aparecimento de células pré-neoplásicas iniciais, formação de adenomas e progressão para carcinomas) (Edler et al., 2014). Cada tipo de tumor apontado como significativo pela IARC será discutido individualmente abaixo e mais detalhes dos estudos, delineamento, doses e a

incidência de neoplasias podem ser encontradas de forma resumida nas tabelas presentes no Apêndice deste documento (página 76).

### **5.1.1 Avaliação individual da incidência de linfomas malignos em camundongos**

Dos cinco estudos com camundongos, um deles com a linhagem albina Swiss HsdOLA:MF1 apresentou efeitos carcinogênicos caracterizados por um aumento estatisticamente significativo na incidência de linfomas malignos na mais alta dose do estudo com 1460 mg/kg pc./dia (Estudo XXIV, 2001) (grupos 0, 100, 1000 e 10000ppm, eq. 15; 151; 1460 mg/kg pc./dia combinado por sexo com valores similares).

De acordo com artigos mais antigos, as incidências desse tipo de tumor em animais controle machos das linhagens suíças ou Swiss-derivados pode atingir 18-27.5%, e exceder 36% no sexo feminino (Sher, 1974; Roe e Tucker, 1974; Tucker, 1979). Mesmo que estas taxas históricas sejam mais baixas do que o que foi observado no Estudo XXIV (2001), pelo menos, nos níveis de dosagem mais elevados, eles fornecem prova clara de que camundongos Swiss são propensos a desenvolver tumores linforeticulares. Em uma publicação mais recente, Tadesse-Heath et al. (2000) observaram quase 50% de incidência de linfoma (principalmente de origem de células B) em uma colônia de ratos CFW suíços. Esses autores enfatizaram a contribuição de infecções generalizadas com vírus oncogênico murino para a incidência notavelmente elevada, mas variável de tumores do sistema linfo-reticular. Assim, a validade desse estudo de 2001 (Estudo XXIV) é questionável devido à ocorrência de infecção viral dos animais durante o experimento, o que poderia influenciar a taxa de sobrevivência, assim como a incidência de tumores, especialmente linfomas.

Quando comparamos a incidência de linfomas malignos em todos os outros estudos disponíveis de carcinogênese em camundongos de outras linhagens, observamos que o estudo mais recente (Estudo XXVIII 2009) não ajuda na comparação, pois a dose mais alta utilizada neste último é muito baixa em relação à dose crítica do estudo de 2001 (Estudo XXIV) (10,000ppm) e a linhagem é CrI:CD-1 (grupos 0, 500, 1500 e 5000ppm, eq. a 71/98; 234/299; 810/1081 mg/kg pc./dia em m/f). De fato houve um aumento na incidência de animais machos CD-1 com o mesmo tipo de tumor (5/51 vs. 0/51 do grupo controle), mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Do mesmo modo, no estudo de Sugimoto (1997), houve um aumento do número de camundongos CD-1 do sexo masculino afetados num nível de dose exagerada de 40,000 ppm (eq. 4350 mg/kg pc./dia) em relação ao grupo controle (6/50 vs 2/50), mas, novamente, a diferença não obteve significância estatística (grupos 0, 1600, 8000 e 40,000ppm, eq. a 165/153; 838/787; 4348/4116 mg/kg pc./dia m/f). Informações sobre o controle histórico da incidência desse tumor nas colônias de camundongo CD-1 do laboratório do estudo de Sugimoto (1997), mostram que a frequência em machos varia muito entre 4% e 19 %, taxa proveniente de vários estudos com essa linhagem (Kitazawa, 2013). Portanto, a frequência de camundongos CD-1 com linfoma maligno de 12% na alta dose desse estudo (Sugimoto, 1997) está dentro da taxa observada no controle histórico do laboratório. No outro estudo mais recente de 2009 (Estudo XXVIII), o controle histórico do laboratório apontou uma taxa de frequência desse tumor de 0% até 32% em machos e fêmeas, comprovando novamente a grande variabilidade da frequência de linfoma em camundongos CD-1 (Wood, 2015). Essa grande variabilidade na frequência de linfomas malignos nessa linhagem é embasada também por banco de dados de controle histórico da indústria -

*"Registry of Industrial Toxicology Animal-data", RITA database (Giknis e Clifford 2010; Anonym I, 2015) ou literatura publicada (Son and Gopinath, 2004), esta baseada na análise retrospectiva de 20 estudos de longa duração para carcinogenicidade (Huntingdon Life Sciences, U.K., 1990-2002).*

Além disso, sob certas circunstâncias, sabe-se que o desenvolvimento de números aumentados de linfomas e leucemias em estudos com roedores não indica risco de carcinoma para os seres humanos. A incidência do linfoma em estudos com roedores é particularmente variável, pois varia com o tempo e pode ser influenciada por fatores não-específicos, como acondicionamento em biotério e dieta (Greaves, 2012). A correlação negativa entre tumores hepáticos e neoplasmas hematopoiéticos em ratos e camundongos também tem sido observado (Young e Gries, 1984).

Em suma, nem o estudo de Sugimoto (1997) ou o de 2009 (Estudo XXVIII) com camundongos da linhagem Crj:CD-1, dão suporte ao aumento na incidência de animais com linfoma maligno observado pelo Estudo XXIV (2001) em camundongos albinos suíços. A incidência ligeiramente mais elevadas nos machos CD-1 em doses superiores nos dois estudos não foram estatisticamente significativas e estão totalmente dentro da margem dos dados de controle histórico.

Nenhuma evidência similar foi encontrada em fêmeas de camundongo em nenhum outro estudo, e este tipo de tumor não foi observado em nenhum dos 6 estudos válidos com ratos expostos por 2 anos ao glifosato em doses suficientemente altas.

Nenhum outro efeito carcinogênico foi observado no Estudo XXIV (2001) até a mais alta dose de cada um dos outros estudos com camundongos, pois a incidência de tumores nestes experimentos permaneceram no limite da faixa do controle histórico

do laboratório do estudo e/ou não houve nível de significância estatística nessa comparação. Então, por ser um tumor comum nessa linhagem de camundongos, não ser reprodutível nos outros estudos e a ocorrência em altas doses do glifosato, é pouco provável que o mesmo efeito seja encontrado em outros mamíferos como os humanos após exposição à esse herbicida.

### **5.1.2. Avaliação individual da incidência de adenoma e carcinoma renal em camundongos**

Em quatro estudos com camundongos CD-1 e um estudo com camundongos Swiss albinos, a incidência de tumores renais em camundongos machos foram reexaminadas para avaliação estatística (Germany, 2015). No primeiro estudo (Estudo XXII , 1983), as incidências combinadas para adenoma e carcinoma renais nos machos foi de 1, 0, 1 ou 3 para o controle, de baixa, média ou alta dose (0, 1000, 5000, 30,000ppm), respectivamente, com base no resultado do reexame histopatológico por grupo de patologistas independentes (US EPA 1986, 1993), e de 0 , 0, 1, 3, de acordo com o relatório do estudo original. No segundo estudo (Estudo XXIII, 1997), as incidências de adenoma renal foram 0, 0, 0 ou 2 para controle, baixa, média ou alta dose nos machos, respectivamente (0, 1600, 8000, 40,000ppm). Em camundongos Swiss albino (Estudo XXIV, 2001) a incidência no sexo masculino de adenoma renal foi de 0, 0, 1, 2 (grupos 0, 100, 1000 e 10,000ppm). Nestes três estudos, a análise estatística com o teste para tendência linear Cochran Armitage produziu um resultado significativo, mas a análise por comparações de pares (teste exato de Fisher) não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Nos outros dois estudos com camundongos (Estudo XXVI, 1993; Estudo XXVIII, 2009), bem como nas fêmeas de todos os outros estudos, não houve indicação para a indução de adenoma renal. Para ambos os estudos com camundongos CD-1, os tumores renais observados foram considerados espontâneos e sem relação com o tratamento pelos patologistas do estudo. Além disso, extensas re-avaliações patológicas e biométricas dos dados do primeiro estudo chegaram à conclusão de que a ausência de qualquer lesão renal pré-neoplásica em machos tratados comprova que a ocorrência desses tumores foi espontânea, em vez de induzida por substância (Estudo XXII, 1983). Esta avaliação é corroborada pelo fato de que, em ambos os estudos, o aumento da incidência de tumores renais nos grupos sujeitos a doses elevadas não foram estatisticamente significativos quando comparados com os controles concorrentes, e as incidências estavam dentro da faixa de controle histórico de adenomas e carcinomas combinados (até 6%). Portanto, se um aumento da incidência de tumores encontram-se apenas nas doses mais altas utilizadas num estudo de uma vida inteira, a possibilidade de um efeito confundidor por toxicidade excessiva não pode ser excluída. Em ambos os estudos, os elevados níveis de dosagem testada (4841 ou 4348 mg/kg pc./dia) foram bem superiores à dose limite para testes de carcinogenicidade (1000 mg / kg pc/ dia), como recomendado pelo OECD (2012). Além disso, o método de ensaio da OECD para estudos de carcinogenicidade afirma que a dose máxima deve provocar sinais de toxicidade mínima, com a diminuição de ganho de peso corporal inferior a 10%. Em ambos os estudos, no entanto, o ganho de peso dos camundongos machos tratados com doses elevadas foi reduzido em mais de 15% em relação aos controles, e houve uma aumento significativo na hipertrofia e

necrose dos hepatócitos centro-lobulares, além de nefrite intersticial crônica nesses animais machos de um dos estudos (Estudo XXII, 1983).

### **5.1.3. Avaliação individual da incidência de hemangiosarcoma em camundongos**

Em dois estudos com camundongos CD-1, a incidência de hemangiosarcoma em machos foram reexaminadas para avaliação estatística. No primeiro estudo (Estudo XXVI, 1993), a incidência combinada para hemangiossarcoma foi de 0, 0, 0 e 4 (8%) para o controle, baixa, média e alta dose (0, 100, 300, 1000 mg/kg pc./dia). No segundo estudo (Estudo XXIII ,1997), as incidências de hemangiosarcoma foram 0, 0, 0 e 2 (4%) para o controle, baixa, média e grupo alta dose, respectivamente (0, 165, 838, 4348 mg/kg pc./dia). Para ambos os estudos, a análise estatística com o teste de tendência linear Cochran-Armitage produziu um resultado significativo, mas a análise por comparações de pares (teste exato de Fisher) não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. As incidências históricas para hemangiosarcoma em camundongos CD-1 machos, a partir de 51 estudos de pelos menos 78 semanas, iniciados entre 1987 e 1996 (Anonym II 2000), foram de até 6/50 (12%) para múltiplos órgãos examinados, e de até 5% ou 8% no fígado e baço, respectivamente. Portanto, as incidências observadas para hemangiosarcoma foram consideradas espontâneas e sem relação com o tratamento com glifosato tanto pelos patologistas dos estudos como pela presente Nota.

### **5.1.4 Avaliação individual da incidência de tumores em ratos**

No estudo de Stout e Ruecker (1990), houve aumento significativo na incidência de adenoma pancreático em ratos machos Sprague- Dawley (SD) em duas doses (89 e 940 mg/kg pc./dia), mas sem tendência estatística positiva, nem dose-resposta ou progressão para carcinoma. Os machos também apresentaram tendência significativa positiva para o aparecimento de adenomas hepatocelulares sem indicação de progressão para malignidade e sem tendência na combinação de adenomas e carcinomas hepáticos. Houve ainda no mesmo estudo, tendência significativa positiva para adenomas de células C na tireóide das ratas fêmeas. Mesmo para a IARC, não há evidência de progressão para esses dois últimos resultados de tumor. No total, a IARC avaliou apenas 6 dos 9 estudos de longa duração com ratos considerados pela presente Nota Técnica

Com relação ao tumor pancreático, quando avaliado pelo teste de tendência linear Cochran-Armitage, não apresenta resultado positivo para este tumor, e a significância estatística encontrada com o teste exato de Fisher mostra que a diferença é entre o grupo controle e a mais baixa dose de 89 mg/kg pc./dia. Num outro estudo com ratos (SD) ocorreu o mesmo com os animais machos do grupo de mais baixa dose (3 mg/kg pc./dia), onde houve aumento significativo na incidência de adenoma e adenoma combinado com carcinoma pancreático (Estudo XXV, 1981). Não houve incidência significativa de tumor pancreático em ratas fêmeas em nenhum dos estudos, e sua frequência foi altamente variável, não apresentou dose-resposta ou significância estatística em outros estudos de dois anos mais recentes e com doses mais altas (até 20,000ppm ou eq. 1498 mg/kg pc./dia) (Estudo XXX, 2009; Estudo XXXI, 2001; Estudo XVIII, 1997; Estudo XVII, 1993)

No entanto, para todos esses tumores em ratos, mesmo nos com incidências significativas, não houve um efeito dose-resposta claro observado, e nas situações em que houve dose-resposta, a diferença foi significativa apenas na alta dose de 940 a 1183 mg/kg pc./dia em machos (tumor hepático) e fêmeas (tumor de células C na tireóide), respectivamente, isto é, uma dose alta (próxima ou acima da limite oral de 1000 mg/kg pc./dia) que promoveu outros efeitos adversos em peso corpóreo, fígado, estômago (mucosa) e nos olhos (catarata) (Stout e Ruecker, 1990).

## **5.2 Sumário estudos em animais**

A presente avaliação sobre o potencial carcinogênico do glifosato nesta Nota Técnica considerou o peso de evidências de todos os estudos disponíveis, e observou que a significância estatística encontrada na análise de tendências dos estudos com animais (mas não na comparação por pares dos grupos) aponta para a falta de consistência encontrada em múltiplos estudos de animais. O número de incidências de tumores foram pequenos e não relevantes quando observados apenas numa dose limite ou em excesso do limite de dosagem/dose máxima tolerada (MTD) oral recomendada pela OECD guia 116 (2012) de 1000 mg/kg pc./dia em estudos de exposição por longa duração para carcinogenicidade. Esse limite de dose considera que pode haver fatores concomitantes e confundidores de uma toxicidade esperada pela alta concentração no sistema inteiro. Vale ressaltar que toxicidade excessiva - por exemplo, a toxicidade em doses superiores a MTD - pode afetar as respostas cancerígenas em bioensaios. Esta toxicidade pode causar efeitos, tais como a morte celular (necrose) com hiperplasia regenerativa associada, que por sua vez pode levar ao desenvolvimento do tumor como uma consequência secundária, não relacionada

com o potencial intrínseco da própria substância para provocar tumores em menor e menos doses tóxicas (ECHA, 2013; 2015). Assim, é evidente que a análise de tendência não pode ser utilizado para estudos onde incidências alta tumorais são observados somente em doses superiores a MTD. Então, a avaliação estatística deve se concentrar na comparação de pares com os respectivos controles, os quais não mostraram diferenças estatisticamente significativas para nenhum dos estudos válidos sobre o glifosato. Além da perda de peso corporal significativa e descrita pela monografia da IARC nas altas doses dos estudos citados, outros sinais de toxicidade excessiva relatados no dossiê das companhias em altas doses foram observados, como hipertrofia hepática centrolobular, hiperplasia epitelial da bexiga, ulcerações etc.

Além disso, observou-se que as incidências de tumores dos grupos e controles estavam dentro da faixa de um controle histórico do laboratório que conduziu o experimento. Esse dado de histórico da incidência de tumores no laboratório é importante para controlar nas matrizes de reprodução, a incidência e a frequência de tumores e lesões espontâneas e/ou provenientes do intercruzamento genético dos animais daquele biotério. Os tipos de lesões observadas nos estudos também foram avaliadas de acordo com seu perfil e relevância histopatológico, na busca também por lesões significativas pré-neoplásicas nos animais, o que não foi observado para a exposição com o glifosato.

Em comparação com a avaliação da IARC e a presente Nota Técnica nos ensaios com roedores, a IARC concluiu que há evidência suficiente sobre o potencial cancerígeno do glifosato, ao contrário deste documento, pelos motivos explicitados acima. A grande diferença, contudo, baseou-se na análise estatística, pois em alguns

estudos os mesmo dados foram estatisticamente significantivos e em outros não, dependendo do modelo estatístico adotado (comparação por pares ou análise de tendência Cochran). É importante ressaltar que nenhum dos estudos válidos apresentou diferença estatisticamente significativa confirmada pelos dois métodos. Assim, a relevância biológica dos resultados foi contra-balanceada pela a inconsistência dos resultados estatísticos observados.

Assim, avaliação da IARC com relação ao potencial cancerígeno do glifosato difere principalmente na análise estatística que o grupo de especialistas utilizou. Ou seja, a IARC realizou uma análise de tendência (Cochran-Armitage trend test) que apontou diferenças significativas onde, inicialmente, não houve diferença pelas análises estatísticas conduzidas e planejadas pelo protocolo dos experimentos segundo os pesquisadores dos estudos (Teste exato de Fisher (one-tailed) em combinação por pares com Bonferroni) para avaliar as incidências de lesões não-neoplásicas (com  $p \leq 0.01$ ) e lesões neoplásicas (com  $p \leq 0.01$  e  $\leq 0.05$ ). De acordo com os documentos guia para avaliação de estudos carcinogênicos em suporte dos próprios testes da OECD, ambas as formas de análise estatística estão corretas (OECD 2012, ENV/JM/MONO (2011) 47; OECD 2002, ENV/JM/MONO (2002) 19).

## **6. ESTUDOS COM FORMULAÇÕES E DADOS PUBLICADOS DE EXPOSIÇÃO HUMANA**

Uma série de estudos de epidemiologia na última década têm-se centrado na exposição à agrotóxicos e a associação aos resultados de saúde. As publicações variam no âmbito das suas conclusões a respeito de agrotóxicos em geral, ou de determinadas classes e em alguns casos individuais de insecticidas, herbicidas ou fungicidas.

Enquanto algumas destas publicações mencionam especificamente o glifosato, poucas são as com associações inequívocas em qualquer resultado específico de carcinoma. Os estudos epidemiológicos avaliados enfrentam diversos problemas relacionados ao pequeno número de casos de carcinoma estudados e à dificuldade de identificação/separação de fatores confundidores, como por exemplo:

- O glifosato geralmente foi analisado juntamente com diversos outros agrotóxicos interferentes, tornando difícil avaliar o efeito individual de cada substância,

- Não está claro em qual formulação o glifosato foi usado, isto é, pode haver diferenças de marcas com algumas diferenças na mistura química e co-formulantes, os quais podem ter efeito carcinogênico,

- A exposição não pôde ser facilmente medida já que não houve medição de biomarcadores no sangue e, geralmente, foram usados os métodos de entrevista e questionários, os quais apresentam erros intrínsecos de recuperação precária da memória do indivíduo (e.g. quantidades, combinações, período, uso de equipamentos, tempo de exposição, etc). Além disso, esse método de entrevista pode envolver uma tendência no momento da recordação, pois indivíduos com carcinoma são mais propensos a pensar sobre as possíveis razões da doença do que indivíduos saudáveis,

- A classificação dos tipos de tumores não é consistente e a definição de linfoma não-Hodgkin (NHL), apontado como relacionado ao glifosato nos estudos, tem mudado ao longo do tempo. Isso ocorreu devido ao uso de diferentes métodos de diagnóstico, ou seja, primeiramente o diagnóstico era apenas morfológico e depois passou a ser melhor definido com o advento de modernos métodos imunológicos.

Portanto, os NHL relatados nem sempre se referem ao mesmo carcinoma, e.g alguns podem ter incluído enquanto outros excluíram a leucemia de células pilosas do diagnóstico. Atualmente, o mieloma múltiplo também pode ser considerado/relatado como NHL, mas antigamente não o era. Hoje os tipos fenotípicos e moleculares de linfomas podem ser bem caracterizados e separados em dois grupos: linfoma de Hodgkin (HL) e de não Hodgkin (NHL), os quais ainda possuem vários subtipos, alguns deles associados claramente a infecções virais (Camargo, 2009). Assim, alguns estudos não podem ser comparáveis e algumas comparações são difíceis por causa das in- e exclusões de alguns subtipos de tumor que não são os mesmos,

- Os efeitos adversos não foram sempre obtidos de registros médicos, dificultando ainda mais um diagnóstico preciso,

- A contribuição da toxicidade proveniente dos co-formulantes não pôde ser excluída/ avaliada .

Os mesmos fatores e dificuldades se aplicam para as combinações das metas-análise. Apesar das limitações, os estudos epidemiológicos são sempre considerados importantes por se tratar da espécie de interesse e diminuírem as incertezas de extrapolação de resultados toxicológicos do animal para o humano (Camargo, 2009).

O maior estudo epidemiológico de exposição à agrotóxicos e resultados em saúde nos Estados Unidos é o Estudo de Saúde Agrícola (AHS - American Health Study), que também abordou e incluiu o glifosato (Alavanja et al, 1996). Dezenas de publicações resultaram de dados gerados por este estudo de aproximadamente 57,000 agricultores inscritos (aplicadores). Blair et al. (2009) apresentou um panorama do carcinoma associado à diferentes produtos químicos agrícolas relatados em

publicações anteriores à do AHS. O glifosato não foi associado com a leucemia, melanoma, ou carcinoma de próstata, do pulmão, da mama, do cólon ou do reto. De Roos et al. (2005) relataram dados do AHS avaliando o uso do glifosato e múltiplos tipos de carcinoma. Nenhuma associação foi observada para o glifosato com todos os carcinomas, incluindo o carcinoma de pulmão, da cavidade oral, do cólon, reto, pâncreas, rim, bexiga, próstata, melanoma, todos os carcinomas linfohematopoiéticos, linfoma não-Hodgkin (NHL) e leucemia. Em uma publicação anterior com base em outro conjunto de dados, no entanto, De Roos et al. (2003) havia relatado uma associação entre NHL e o uso do glifosato. Da mesma forma, McDuffie et al. (2001) mencionou uma associação positiva não significativa entre a exposição ao glifosato auto-relatados e NHL em um estudo canadense. Blair et al. (2009), em contraste, não relatou uma associação entre o uso de glifosato e NHL nos dados usados do AHS, mas uma "possível associação" entre o uso de glifosato e mieloma múltiplo, fazendo referência a uma "associação sugerida" entre o uso de glifosato e mieloma múltiplo e sugerida por De Roos et al. (2005a). No entanto, neste trabalho, não foi demonstrado aumento significativo do risco relativo para o mieloma múltiplo. Curiosamente, uma posterior revisão dos dados do AHS para o Painel de Carcinoma do Presidente (Freeman, 2009) especificamente referenciou o trabalho de De Roos et al. (2005a) por fornecer nenhuma evidência de carcinoma de qualquer tipo associada com o glifosato.

Monge et al. (2007) investigaram a associação entre exposição parental à agrotóxicos e leucemia infantil na Costa Rica. Os resultados não são interpretáveis para o glifosato, pois a exposição foi estimada com "outros agrotóxicos", incluindo o paraquat, clorotalonil e "outros". Nenhuma associação foi observada para exposições

paternas, mas elevada incidência de leucemia foi associada com exposição materna a "outros" agrotóxicos durante a gravidez.

Alguns estudos epidemiológicos concentraram-se em uma associação entre a exposição à agrotóxicos e Não-Hodgkin's linfoma (NHL). Hardell e Eriksson (1999) investigaram em um estudo de caso-controle a incidência de NHL em relação à exposição à agrotóxicos na Suécia. 404 casos e 741 controles foram incluídos. Os autores discutiram um risco aumentado para NHL especialmente para ácidos fenoxiacéticos. O glifosato foi incluído na uni- e multivariada análise. No entanto, apenas 7 de 1.145 indivíduos do estudo apresentaram histórico de exposição a este agente. Os autores relataram uma relação moderadamente elevada de chance (OR) de 2.3 para o glifosato. Esta OR não foi estatisticamente significativa e foi baseada em apenas 4 casos "expostos" e 3 "expostos" controles. As principais limitações deste estudo foram: a dependência de informações sobre relatos de uso de agrotóxicos (exposição não documentada), o pequeno número de indivíduos que relataram o uso de agrotóxicos específicos, a possibilidade de erros de recuperação de memória, a dependência de fontes secundárias (entrevistas com parentes próximos) para cerca de 43% da informação sobre o uso de agrotóxicos, e a dificuldade no controle para possíveis fatores de confusão, dado o pequeno número de indivíduos expostos. Um outro estudo foi apresentado por Hardell et al. (2002). Estes estudo selecionou dados a partir da publicação acima mencionada por Hardell e Eriksson (1999) e os reuniu com dados de uma publicação previamente submetida por Nordström et al. (1998). Os autores encontraram um aumento do risco em uma análise uni-variada para indivíduos expostos a herbicidas, inseticidas, fungicidas e agentes de impregnação. Entre os herbicidas foram encontradas associações significativas para o glifosato e MCPA (4-

cloro-2-metilfenoxiacético ácido).. No entanto, em análises multivariadas, o único aumento significativo do risco foi encontrado em uma categoria heterogênea de "outros herbicidas" e não para o glifosato. Nenhuma informação é descrita sobre a concentração e duração da exposição, bem como histórico médico, fatores de estilo de vida (por exemplo, tabagismo, uso de drogas prescritas, etc.). Ao todo, as limitações da publicação de Hardell e Eriksson (1999) acima mencionadas são também aplicáveis à publicação por Hardell et al. (2002).

Fritschi et al. (2005) apresentaram um estudo de caso-controle com 694 casos de NHL e 694 controles na Austrália. A exposição substancial a qualquer pesticida foi associado com um aumento de NHL. No entanto, não houve associação entre NHL e glifosato. Nenhuma informação foi descrita sobre a duração da exposição, produtos de glifosato utilizados e período/taxas de aplicação. Portanto, a documentação é considerada como insuficiente para avaliação.

Eriksson et al. (2008) relataram um estudo de caso-controle que incluiu 910 casos de NHL e 1016 controles que vivem na Suécia. O maior risco foi calculado para MCPA (4-cloro-2-metilfenoxiacético ácido). A exposição ao glifosato foi relatado por 29 casos e 18 controles, e a OR correspondente foi de 2.02 (95% CI: 1.10-3.71). As ORs para a exposição ao glifosato de <10 dias e > 10 dias foram 1.69 IC (95%: 0.70-4.07) e 2.36 (1.04-5.37), respectivamente. As ORs para glifosato foram CI 1.11 (95%: CI 0.24-5.08) e 2.26 (95%: 1.16-4.40) para "latência" em períodos de 1-10 anos e > 10 anos, respectivamente. Em análises de glifosato e tipos de NHL foram observadas associações estatisticamente significativas positiva para pequenos linfomas linfocíticos/leucemia linfocítica crônica (SLL / CLL) (OR = 3.35; IC 95%: 1.42-7.89) e para

"NHL não especificado" (OR = 5.63; IC 95%: 1.44-22.0). A OR para os outros tipos de linfomas (no total de células B, linfoma folicular grau I-III, linfoma difuso de grandes células B, outra especificidade de linfoma de células B, linfoma células B não especificado, e linfomas de células T) eram superiores a 1.0, mas não foram estatisticamente significativas (isto é, os intervalos de confiança de 95% eram relativamente amplos e incluíram o valor nulo de 1.0). Os autores concluíram que há associação estatisticamente significante para o glifosato e linfomas. Mas apesar da força de evidência desse estudo ser médio devido ao número de casos e pela dependência de intensidade de uso do agrotóxico, a análise multivariada não apresentou resultados significativos. O estudo também não apresenta nenhuma informação sobre a duração da exposição ou os produtos usados de glifosato e os períodos/taxas de aplicação. Outros fatores (ou seja, o hábito de fumar, uso de medicação, etc.) foram analisadas, mas não incluídas na avaliação. Assim, o estudo tem algumas limitações típicas de um estudo caso-controle (recuperação de memória, erro de classificação de exposição a agrotóxicos) e sem apropriado ajuste para múltiplos testes (múltiplas exposições).

Alavanja et al. (2003) revisaram estudos sobre a incidência de carcinoma entre os aplicadores de agrotóxicos e outros devido à exposição à agrotóxicos. Neste artigo, foram integrados a biologia epidemiológica, molecular e dados toxicológicos da literatura recente, avaliando a relação entre agrotóxicos específicos e vários tipos de carcinoma como, carcinoma de próstata, NHL, leucemia, mieloma múltiplo e carcinoma de mama. O glifosato foi relatado como o ingrediente ativo de agrotóxico convencional mais utilizada em todo o mundo. No entanto, a única associação entre o

uso de glifosato e carcinoma mencionados nesta revisão foi a observação de Eriksson et al. (2008).

Os seguintes estudos epidemiológicos não revelaram uma associação entre glifosato e tipos específicos de carcinoma: 1) Alavanja et al. (2003) informaram sobre as associações de carcinoma de próstata com exposição a agrotóxicos específicos no AHS, mas o glifosato não demonstrou uma associação exposição-resposta significativa com carcinoma de próstata; 2) Multigner et al. (2008) também relataram ausência de associação entre o uso de glifosato e carcinoma de próstata. Estes dados parecem também terem sido relatados por Ndong et al. (2009). A falta de associação entre o uso de glifosato e carcinoma de próstata também foi apoiado recentemente em um estudo epidemiológico com agricultores em British Columbia, Canadá, por Banda et al. (2011); 3) Lee et al. (2004a) relataram falta de associação entre o uso do glifosato e adenocarcinomas do estômago e de esôfago; 4) Carreon et al. (2005) relataram dados epidemiológicos sobre gliomas e exposição a agrotóxicos agrícolas em mulheres, e o glifosato não teve associação com gliomas; 5) Engel et al. (2005) relataram dados do AHS na incidência de carcinoma de mama entre as mulheres dos agricultores, com nenhuma associação entre o carcinoma de mama e o glifosato; 6) Flower et al. (2004) apresentaram dados parentais do AHS sobre o uso de agrotóxicos específicos e subsequente risco de carcinoma infantil entre 17.280 crianças, com nenhuma associação entre o carcinoma infantil e o glifosato; 7) Andreotti et al. (2009) relataram dados do AHS onde o glifosato não foi associado ao carcinoma de pâncreas; 8) Landgren et al. (2009) informaram dados do AHS sobre gamopatia monoclonal de significado indeterminado (MGUS), não mostrando nenhuma associação com o uso de

glifosato; 9) Karunanayake et al. (2011) relataram falta de associação entre glifosato e linfoma de Hodgkin; 10) Pahwa et al. (2011) relataram falta de associação entre glifosato e mieloma múltiplo; 11) Schinasi e Leão (2014) publicaram os resultados de pesquisa epidemiológica sobre a relação entre o linfoma não-Hodgkin (NHL) e exposição ocupacional à agrotóxicos, onde os herbicidas fenoxi, inseticidas carbamatos, inseticidas organofosforados e lindano foram associados positivamente com o NHL. No entanto, nenhuma associação entre NHL e glifosato foi relatado; 12) Kachuri et al. (2013) investigaram uma associação entre o uso durante a vida de vários agrotóxicos e mieloma múltiplo em homens canadenses. Riscos excedentes do mieloma múltiplo foram observados entre os homens que relataram o uso de pelo menos um pesticida carbamato, um herbicida fenoxi e  $\geq$  organoclorados. No entanto, não houve excesso de risco para o glifosato; 13) Cocco et al. (2014) investigaram o papel da exposição ocupacional à agrotóxicos na etiologia do linfoma geral, linfoma de células B e seus subtipos mais prevalentes, e não houve risco aumentado de leucemia linfocítica crônica em relação ao glifosato; 14) Alavanja e Bonner (2012) revisaram estudos sobre a exposição ocupacional a agrotóxicos e risco de carcinoma, e vinte e um agrotóxicos identificados após a última revisão da IARC mostraram associações exposição-resposta significativa em estudos de carcinomas específicos. Nenhuma associação significativa foi observada para o glifosato; 15) El-Zamy e Heyworth (2013) relataram um estudo caso-controle sobre a associação entre o arraste da pulverização de agrotóxicos das áreas de aplicação de defensivos agrícolas e carcinoma de mama na Austrália Ocidental. Os resultados suportam a hipótese de que a mulher que alguma vez já notou pulverizações, ou que primeiro notou a deriva de pulverização em uma idade mais jovem, tinha um risco aumentado de carcinoma de mama. No entanto, não

foi possível verificar se as associações observadas são o resultado de uma determinada classe de agrotóxicos; 16) Pahwa et al. (2011) investigaram a suposta associação de agrotóxicos específicos com sarcoma de tecidos moles (STS). Um estudo canadense de caso-controle de base populacional realizado em seis províncias foi utilizado nesta análise. A incidência de STS foi associada com inseticidas aldrin e diazinon após o ajuste para outros fatores independentes. No entanto, nenhuma associação estatisticamente significativa entre STS e exposição ao glifosato ou outros herbicidas foi observada; 17) Koutros et al. (2011) estudaram a associação entre agrotóxicos e carcinoma de próstata. Não foi observada qualquer associação positiva estatisticamente significativa entre agrotóxicos e carcinoma de próstata. Não havia evidências sugestivas de um risco aumentado ( $OR > 1.0$ ) com um aumento do número de dias de uso do óleo destilado de petróleo / éter de petróleo utilizado como herbicida, terbufos, fonofos, forato e brometo de metila. No entanto, nenhum aumento do risco ( $OR > 1.0$ ) foi observada para o glifosato.

Em uma revisão abrangente das publicações e dados de AHS, Weichenthal et al. (2010) observaram que as taxas de aumento nos seguintes tipos de carcinoma não foram associados com o uso do glifosato: incidência geral de carcinoma, carcinoma de pulmão, carcinoma pancreático, carcinoma de cólon ou retal, carcinomas linfematopoiéticos, leucemia, NHL, mieloma múltiplo, carcinoma de bexiga, carcinoma de próstata, melanoma, carcinoma de rim, carcinoma infantil, os carcinomas da cavidade oral, carcinoma de estômago, carcinoma de esôfago e carcinoma de tireóide. Mink et al. (2012) apresentou uma revisão abrangente de estudos epidemiológicos de glifosato e carcinoma. Revisaram a literatura epidemiológica para avaliar se a exposição ao glifosato está associada causalmente

com o risco de carcinoma em seres humanos e também revisaram estudos metodológicos e de biomonitoramento relevantes com glifosato. A avaliação concluiu não haver padrão consistente de associações positivas indicando uma relação causal entre o carcinoma total (em adultos ou em crianças) ou qualquer tipo de carcinoma sítio específico e exposição ao glifosato.

## 6.1 Estudos coorte

Existem cerca de 30 estudos epidemiológicos coorte (observacional de grupo exposto à herbicida) e caso-controle (retrospectivo e entre indivíduos saudáveis e doentes) válidos para avaliação do potencial carcinogênico do glifosato. Em 10 desses estudos coorte (inclusive o Estudo da Saúde Agrícola (AHS) que conta com a colaboração do governo dos EUA através da Agência Ambiental- US EPA, do Instituto Nacional de Ciências Ambientais - NIEHS, do Instituto Nacional do Carcinoma -NCI e Instituto de Saúde e Segurança Nacional -NIOSH e apresenta o maior número de estudos prospectivos coorte reunidos até o momento , citado em várias publicações sucessoras), o glifosato não causou diferentes tipos de tumores e não aumentou o risco de incidência de todos os tipos de carcinoma conhecidos. Nove estudos caso-controle não indicaram um aumento no risco de carcinogenicidade pelo glifosato, ou apresentou pouco poder de evidência. Outros 5 casos-controle (De Roos et al. 2003; McDuffie et al. 2001; Eriksson et al. 2008; Orsi et al. 2009; Hardell et al. 2002) e um estudo coorte prospectivo (De Roos et al. 2005a) relacionaram o glifosato ao Linfoma não-Hodgkin (NHL). Nestes estudos, uma associação estatisticamente significativa foi observada num pequeno número de casos reportados, os quais são considerados insuficientes para concluir sobre a causalidade desse evento devido à fraca

consistência dos resultados. Assim, apesar que haver alguns casos com associação causal positiva entre exposição ao glifosato e carcinoma em humanos, não há como excluir de forma confiante e razoável outros interferentes associados às diferenças estatísticas, como o acaso, predisposição ou outros confundidores. Portanto, para o ingrediente ativo às evidências humanas de associação com carcinoma são limitadas.

O glifosato não aumentou significativamente o risco de carcinoma de próstata, carcinoma pancreático, melanoma, carcinoma no pulmão, carcinoma de cólon, carcinoma de reto, carcinoma de rim, carcinoma de bexiga, carcinoma de mama, carcinoma na infância e todos os tipos de carcinoma (Alavanja et al, 1996, 2003; Andreotti et al, 2009; Dennis et al, 2010 e Engel et al, 2005; Lee et al, 2007; Flower et al, 2004; De Roos et al, 2005a,b). Os estudos coorte também não relataram nenhum risco aumentado de todos os tipo de carcinoma linfohematopoiéticos, linfoma não-Hodgkin (NHL), mieloma múltiplo, e gamopatia de anticorpos monoclonais, considerada uma desordem pré-malignas que frequentemente precede o mieloma múltiplo (Landgren et al, 2009; Sorahan, 2015; Alavanja et al, 1996; De Roos et al, 2005 a,b). Assim, a conclusão da maioria desses estudos coorte é de que o glifosato não causou os diferentes tipos de carcinoma relatados ou não aumentou o risco de todos os tipos de carcinoma.

## **6.2 Estudos de caso-controle sobre o linfoma não-Hodgkin (NHL), mieloma múltiplo e leucemia**

As neoplasias linfóides formam um grupo de entidades diversificado e em muitos casos, mas não em todos, o fenótipo das células neoplásicas se assemelha àquele de um determinado estágio de diferenciação linfocítica normal, e este aspecto

é utilizado no diagnóstico e classificação destes transtornos. Já as neoplasias mielóides surgem de células -tronco hematopoiéticas que dão origem à células da linhagem mielóide (i.e., eritróide, granulocítica e/ou trombocítica) (Robbins & Conran, 2005). NHL não é uma doença específica, mas ao invés disso existem múltiplas apresentações de linfoma que são classificadas de modo simplista como não sendo linfoma de Hodgkin (HL). Esta classificação dicotômica de HL/NHL foi rejeitada pela Organização Mundial de Saúde em 2001, em que 43 linfomas diferentes de várias etiologias foram caracterizados precisamente (Berry, 2010 *apud* Greim et al., 2015). Um dos critérios de Bradford Hill em estabelecer causalidade da doença é plausibilidade, com base na etiologia da doença conhecida. No caso de linfoma, existem numerosas etiologias para as numerosos e diferentes tipos de linfoma, e, como tal, cada tipo de linfoma deve ser investigado por um mecanismo plausível para determinar se a causalidade pode ser atribuída a uma associação apropriadamente qualificada (Greim et al., 2015).

Em 14 estudos avaliados, cinco não relataram aumento do risco de linfoma não-Hodgkin e/ou leucemia ou mieloma múltiplo (Brown et al, 1990; Cantor et al, 1992; Karunanayake et al, 2012.; Lee et al., 2004b, e Orsi et al., 2009). Alguns dos estudos reportados apresentaram-se limitados ou muito limitados quanto ao poder de avaliação dos efeitos do glifosato. Em três estudos, apenas 4 casos expostos foram comparados com 2, 3 ou 5 indivíduos controle (Cocco et al, 2014; Hardell e Eriksson, 1999; Nordström et al., 1998).

Os estudos relevantes sobre o linfoma não-Hodgkin foram selecionadas por Schinasi e Leão (2014) pela IARC para uma meta-análise. Para a análise de uma associação entre glifosato e Linfoma não-Hodgkin os seguintes estudos têm sido

utilizados: De Roos et al, 2003; De Roos et al, 2005a; Eriksson et al, 2008, Hardell et al., 2002; McDuffie et al., 2001 e Orsi et al., 2009. Além disso, para a análise de uma associação entre glifosato e linfoma de células B, os estudos utilizados são: Eriksson et al (2008) e Cocco et al (2014). Dois dos 6 estudos utilizados para a análise de linfoma não-Hodgkin relataram que não houve aumento do risco de Linfoma não-Hodgkin (De Roos et al., 2005a e Orsi et al., 2009).

Três dos 7 estudos citados acima foram também considerados pela IARC como limitados ou até mesmo com um poder muito limitado de avaliação (Hardell et al., 2002 e Cocco et al., 2014) ou ainda uma baixa de participação na avaliação (McDuffie et al., 2001). Recentemente, numa publicação no *The Lancet Oncology* (Guyton et al., 2015) de 3 estudos (De Roos et al, 2003; McDuffie et al., 2001 e Eriksson et al., 2008), a conclusão foi de que as evidências para carcinogenicidade do glifosato em seres humanos são limitadas.

Os estudos principais usados pela IARC na discussão sobre a exposição ao glifosato e o risco de NHL foram re-avaliados quanto à força e à validade das evidências, e não houve evidência suficiente de uma associação clara e direta do NHL com glifosato. As limitações desses estudos epidemiológicos foram muitas: base de evidências em entrevistas com agricultores ou membros da família; número pequeno de casos envolvidos, e nenhum conhecimento da quantidade real de glifosato ou o tipo de fórmula de glifosato utilizada. Mesmo que a razão de chance (OR) indique uma associação entre a exposição ao glifosato e NHL, esse aumento foi pequeno em todos os estudos (principalmente do tipo Leucemia Linfocítica Crônica/ Linfoma de Pequenos Linfócitos - CLL/SLL), além de não ter sido significativo em outros estudos com outros

tipos de linfoma mais agressivos (total de linfomas de células B, linfoma folicular grau I-III, linfoma difuso de grandes células B, outro linfoma de células B especificado, linfoma de células B não especificado, e linfomas de células T.) (Eriksson et al., 2008 - baseado em 29 casos; McDuffie et al., 2001; De Roos et al., 2003). Num estudo com dados da AHS em 2005a por De Roos et al., nenhuma associação clara entre glifosato e NHL foi encontrada com base em um grande número de participantes agricultores.

Esses estudos precisam ser colocados no contexto de outros estudos epidemiológicos e experimentais realizados com a substância para uma avaliação do risco para os humanos. Provavelmente, mais estudos precisam ser realizados para se verificar o uso e o impacto da formulação utilizada na situação de campo e, em específico, no tipo de aplicação empregado em cada região do país.

Outros estudos caso-controle (cinco- como já citados acima) foram avaliados com relação ao risco de outros tipos de carcinoma em humanos. Nenhum deles reportaram aumento do risco ou mesmo redução do risco nos tipos de carcinoma investigados: adenocarcinoma de estômago e esôfago, gliomas e sarcoma de tecidos moles (Lee et al., 2004a, 2005; Ruder et al., 2004; Carreon et al., 2005; Pahwa et al., 2011; Schinasi e Leon, 2014).

### **6.3 Meta-análise**

A meta-análise é uma ferramenta de investigação aceita para fornecer um resumo estatístico entre um número de estudos com o mesmo motivo de pesquisa e configuração similar. O estudo de Schinasi e Leon (2014) relataram a relação do NHL entre 14 grupos de herbicidas e inseticidas. Em nove (64%) dos grupos, eles encontraram uma relação estatisticamente significativa associada ao risco de NHL

tanto no grupo como um todo, ou em um ou mais dos agrotóxicos individuais dentro desses grupos. Uma taxa de meta-risco de 1.3 (95% CI 1.03-1.65, I<sup>2</sup> = 0%, P para heterogeneidade 0.589) para o NHL e o glifosato (glifosato baseado de formulações) foi apresentada. Esta é uma questão de definição e ponderação da OR/RR dos estudos de caso-controle e de coorte, onde a relação meta-risco (resultado da meta-análise) parece mostrar um efeito moderado. No entanto, o resultado é baseado em apenas 6 estudos (De Roos et al, 2003; 2005a; Eriksson et al., 2008; Hardell et al, 2002; McDuffie et al, 2001; Orsi et al., 2009), qualificados de acordo com os critérios definidos pela IARC. Embora num desses (De Roos et al., 2005a) o estudo prospectivo de coorte não foi classificado superior para NHL e glifosato, e em um outro (Hardell et al., 2002), a definição dos autores para NHL difere dos outros estudos incluídos nesta meta-análise. Mesmo neste último artigo, os autores declaram que mais estudos são necessários.

A revisão de estudos epidemiológicos sobre o glifosato e carcinoma por Mink et al., (2012) não foi mencionada pela monografia da IARC, mas apesar dos autores não terem realizado nenhuma meta-análise, reuniram uma lista de 7 estudos de coorte e 11 caso-controle estudos, quase todos revistos pela IARC e as agências regulatórias internacionais. Nesta revisão, não foi encontrada nenhuma evidência de associações positivas consistentes e indicativas de uma relação causal entre qualquer tipo de carcinoma específico e a exposição ao glifosato.

#### **6.4 Interferência de co-formulantes e toxicidade do glifosato em formulações**

Os casos expostos e relatados nos estudos epidemiológicos são sempre de formulações com glifosato e praticamente nunca são com o ingrediente ativo apenas.

Todos os produtos formulados que contêm glifosato também contêm surfactantes ou são misturados com agentes tensoativos como aditivo obrigatório para produzir a diluição pronta para o uso. Muitos estudos indicaram que os produtos contendo glifosato tornaram-se aparentemente mais tóxico do que o glifosato sozinho (Estudo XXXII, 1982; Estudo XXXIII, 1983; Dallegrave et al., 2003, 2007). Este fenômeno foi atribuído à presença de agentes tensoativos específicos, predominantemente, as POE alquilaminas polietoxiladas de cadeia longa, surfactantes que aumentam a atividade de herbicidas como o glifosato. A alta toxicidade do surfactante pode explicar as diferenças do ingrediente ativo com as formulações, quando estas foram testadas em diferentes parâmetros (Gasnier et al., 2009; Richard et al., 2005; Benachour et al., 2007; Walsh et al., 2000; Mesnage et al., 2013, 2014).

## **6.5 Sumário estudos epidemiológicos**

De uma maneira geral, os estudos epidemiológicos avaliados não são coerentes entre si em não mostrar uma associação positiva, em vez disso, apresentam resultados inconsistentes: um número considerável não mostra correlação positiva, enquanto outros podem indicar uma associação positiva. Na maioria dos estudos, diversos produtos químicos são estudados (e usados), e a substância considerada tem sido utilizada em várias misturas com diferentes formulantes. Contudo, é difícil demonstrar ou provar a ausência de carcinogenicidade utilizando apenas um estudo epidemiológico. Apesar do grande número de estudos epidemiológicos sobre o glifosato, quando avaliados individualmente, os dados disponíveis são limitados devido ao baixo poder estatístico alcançado com um número reduzido de indivíduos envolvidos. Já o estudo coorte da AHS apresenta um considerável número de

participantes e conclui que não há associação do glifosato com carcinoma. Apesar das limitações de todos os estudos primários individuais envolvidos, parece inadequada à negligência do conjunto que as evidências podem fornecer em combinação.

Assim, a maioria dos estudos não mostra nenhuma associação, mas alguns estudos sim e na mais recente meta-análise, observou-se uma tendência fraca entre glifosato, NHL e um linfoma das células do subgrupo B (Schinasi e Leon, 2014). Por conseguinte, um efeito não pode ser excluído. A questão está em se expressar a incerteza remanescente na classificação ou não do glifosato, uma vez que muitos estudos não mostram nenhum efeito do glifosato mas alguns o indicam como um cancerígeno de potência fraca, expressa através da razão de chance (OR) do evento ocorrer. O limite de confiança da OR se baseia no seu erro padrão, que por sua vez depende do tamanho do estudo. Há peso no número de casos/indivíduos, pelo menos indiretamente. Além disso, entre os estudos incluídos nesta meta-análise, não havia nenhum outro ajuste de relevância indicada para desenho do estudo ou elementos de qualidade do estudo. Deve-se notar que a estimativa de OR 1.3 pela IARC com base na meta-análise de Schinasi e Leon (2014), indica na verdade uma associação fraca e que as associações epidemiológicas não podem ser interpretadas como prova de causalidade.

O estudo mais válido pelo poder de análise das evidências é o da AHS, um estudo coorte prospectivo que em termos epidemiológicos é o mais adequado para estudar a relação, e não mostrou associação com a incidência global de carcinoma ou com a maioria dos subtipos de carcinoma; apenas sugeriu uma associação com a incidência de mielomas múltiplos, o que precisa ser melhor estudado e aprofundado

(De Roos et al., 2005a). Assim, a avaliação da presente Nota Técnica é ligeiramente diferente da avaliação da IARC mesmo se utilizando dos mesmos estudos, pois baseou-se na avaliação do perfil de toxicidade completo do glifosato ingrediente ativo e não encontrou um modo de ação cancerígeno evidente em ensaios experimentais *in vitro* e *in vivo*. No entanto, há um problema em particular com os co-formulantes adicionados nas formulação com o glifosato, suas combinações e doses, os quais podem realmente estar levando à uma maior toxicidade do produto final e a exposição humana.

Conforme destacado por Nordström et al. (1998), e em contraste com outras exposições ocupacionais, a agricultura pode envolver a exposição a muitos produtos químicos. E é por isso que é difícil de saber se a exposição humana ao glifosato formulado, deixando de lado o glifosato, por si só pode levar a NHL, com base em estudos epidemiológicos. Uma forma de lidar com essa questão patológica é avaliar toda uma classe de compostos, sem determinar qual produto químico específico(s) pode ser responsável pela doença. Para agrotóxicos a abordagem é examinar cada ingrediente ativo do agrotóxico de forma independente, como está sendo realizado pelas agências regulatórias em várias jurisdições no mundo todo.

## **7. TOXICIDADE REPRODUTIVA**

Nos vários estudos de toxicidade reprodutiva em ratos, o NOAEL geral foi de aproximadamente 300 mg/kg de pc./dia, tanto para a toxicidade parental e dos filhotes de todos os estudos disponíveis (Estudo XXXIV, 1997; Estudo XXXV, 2000; Estudo XXXVI, 2007). Os efeitos parentais observados foram aumento do consumo de água e ração, redução do ganho de peso corporal e um aumento na incidência e gravidade da alteração celular das glândulas salivares parótida e submandibular nos diferentes

estudos e gerações, com um LOAEL de aproximadamente 670 mg/kg de pc./dia e acima. Na prole, o ganho de peso corporal foi reduzido e, em um dos estudos, a separação prepucial foi atrasada em uma dose alta (15,000 ppm: 1000-1600 mg/kg pc./dia) e sem nenhum outro efeito de atraso de desenvolvimento (e.g. peso corpóreo)(Estudo XXXVI, 2007). Em relação à toxicidade reprodutiva desse mesmo estudo, o único achado foi uma diminuição na quantidade de espermátides resistentes na homogeneização da cauda do epidídimo de um estudo nos machos F0 que receberam o nível de dose limite de 1000 mg/kg de pc./dia. Assim, o NOAEL para toxicidade reprodutiva foi de 351 mg/kg de pc./dia. O desempenho reprodutivo não foi alterado em nenhum estudo.

Os estudos de toxicidade do desenvolvimento embriofetal em ratos mostraram um NOAEL geral para ambos os efeitos maternos e de desenvolvimento de 300 mg/kg de pc./dia com base em sinais clínicos e redução no ganho de peso corporal, além de aumento na incidência de fetos com ossificação retardada e anomalias esqueléticas em 1000 mg/kg de pc./dia (Estudo XXXVII, 1991; Estudo XXXVIII, 1995). Em estudo mais antigo, o glifosato foi administrado por gavagem a ratos Sprague-Dawley com uma dosagem de 0, 300, 1000, ou 3500 mg/kg pc./dia durante os dias de gestação 6 a 19 (Tasker, 1980). Houve toxicidade materna grave, como diminuição de ganho de peso e mortalidade (6 das 25 ratas prenhes) na alta dose de 3500 mg/kg de pc./dia. Esse efeito foi acompanhado por redução dos pesos fetais, redução da viabilidade e ossificação do externo. Assim, o NOAEL materno e de toxicidade do desenvolvimento embriofetal foi de 1000 mg/kg pc./dia. Em conclusão, o glifosato não apresenta potencial teratogênico em ratos.

Em coelhos, o NOAEL geral de toxicidade materna foi de 50 mg/kg pc./dia, com base no índice de mortalidade e perturbações gastrointestinais na dose de 100 mg/kg pc./dia em diante (Estudo XXXIX, 1991). O NOAEL mais baixo de efeitos no desenvolvimento também foi estabelecida em 50 mg/kg pc./dia, com base na perda de pós-implantação em 200 mg/kg pc./dia (Estudo XL, 1996). Outros efeitos fetais de desenvolvimento foram menor peso fetal e atraso na ossificação (Estudo XLI, 1993).

Um estudo de desenvolvimento embriofetal em coelhos a uma dose de 450 mg/kg pc./dia provocou toxicidade materna marcante, com uma incidência ligeiramente aumentada de defeitos no septo interventricular (Estudo XXXIX, 1991). Em todos os outros estudos de desenvolvimento embriofetal aceitáveis este achado não foi confirmado (Estudo XL, 1996; Estudo XLI, 1993; Estudo XLII, 1996; Estudo XLIII, 1980; Estudo XLIV, 1980; Estudo XXXVII, 1991; Estudo XLV, 1991; Estudo XLVI, 1995). No entanto, excessiva toxicidade, incluindo mortalidade materna em níveis de dose comparáveis foram observados (como descrito acima), dificultando a avaliação. Concluiu-se que não há nenhum risco aumentado para efeitos cardíacos fetais em níveis de exposição inferiores aos que causou grave toxicidade materna.

Em estudos presentes na literatura, Paganelli et al. (2010) expôs embriões de rã *Xenopus laevis* ao glifosato e também à uma formulação na água onde eles moravam, ou por injeção direta nos embriões de rã, e também por um buraco cortado na casca do ovo de embriões de galinha expostos diretamente à formulação. Os autores afirmaram ter encontrado evidências de teratogenicidade em lesões particulares da crista neural que podem progredir para malformações craniofaciais. Contudo, a relevância destes resultados deve ser questionada devido à aplicação de doses

excessivas (8 a 12  $\mu\text{M}$ ) e provavelmente interferentes na via de sinalização do ácido retinóico (apresentou-se aumentada neste estudo). Além disso, essas vias de exposição não são convencionais e nenhuma malformação craniofacial foi observada nos estudos de desenvolvimento embrionário em ratos e coelhos. Ainda, Chruscielska et al. (2000) apresentou um estudo de teratogenicidade em ratos *Wistar outbred*. O plano de ensaio não foi indicado e as doses de 0-750-1500-3000 mg/kg pc./dia foram administradas a partir do dia 7-14 de gestação para 20 fêmeas por grupo de dose. Não foram observados embriotoxicidade ou efeitos teratogênicos. Infelizmente, o material de teste não estava corretamente descrito, apenas a informação de que era glifosato.

Estudos publicados por Dallegrave et al. (2003; 2007) com a formulação Roundup contendo o surfactante POEA produzida no Brasil, mostraram resultados de dois estudos de toxicidade do desenvolvimento embrionário não-BPL e com delineamento experimental próprio em rato. A formulação produziu efeitos adversos sobre o sistema reprodutivo de ratos (tóxico para as ratas prenhes, retardo no desenvolvimento ósseo fetal - 2003; atraso no tempo de abertura vaginal das fêmeas e na ninhada de machos, diminuição no número de espermatozoides na cauda do epidídimo e na produção diária de espermatozoides durante a idade adulta, aumento na porcentagem de espermatozoides anormais e diminuição dose-resposta no nível de testosterona no soro na puberdade, além de sinais de degeneração individual de espermátides em ambos os períodos - 2007). Apesar de deficiências de comunicação e incoerências dos dados nestes artigos, confirma-se a necessidade de melhor avaliação do produto formulado registrado não apenas no Brasil.

Com base em todos os estudos de toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento embriofetal, apenas o ingrediente ativo glifosato não é considerado teratogênica em ratos e coelhos pela presente Nota Técnica e é pouco provável que cause efeitos reprodutivos ou teratogênicos em humanos.

## **8. INFORMAÇÕES ADICIONAIS SOBRE MECANISMOS DE AÇÃO DO GLIFOSATO**

1) O glifosato foi testado em 3 estudos com parâmetros agudos e subcrônicos relevantes para avaliação de **neurotoxicidade** e não foi neurotóxico em roedores (Estudo XLVII, 1996; Estudo XLVIII, 1996) nem apresentou neuropatia retardada em frango (Estudo XLIX, 1996). Embora o glifosato (N-fosfometil glicina) é por vezes alocado à classe dos organofosfatos, é bem conhecido que este herbicida não inibe a atividade da colinesterase e é por isso que, em casos de intoxicação em seres humanos, os sintomas comuns da inibição da acetilcolinesterase aguda (salivação, lacrimejamento, micção e defecação) não ocorrem após exposição ao glifosato. Além disso, resultados epidemiológicos relacionando doenças não-cancerosas humanas ao glifosato foram avaliadas por Mink et al. (2011), e não houve nenhuma evidência convincente para um aumento da incidência de doença de Parkinson ou de outras desordens neurológicas em indivíduos que apresentaram Informações de exposição ao glifosato.

2) Com base na revisão de imunotóxicos conhecidos e seus pontos de impacto, além da revisão de testes de **imunotoxicidade** pela US EPA (2013) e da base de dados da EFSA sobre 198 ingredientes ativos de agrotóxicos (EFSA 2015 c), a evidência é de que os estudos de toxicidade de rotina realizados pelas empresas a fim

de registro e regulação são adequados para identificar compostos que exibem potencial imunotoxicidade. O estudo da NTP (1992) *in vivo* com o glifosato não apresentou efeito sobre o sistema imune dos animais, além da única diminuição pontual de peso relativo/absoluto do timo em ratos machos da alta dose apenas, mas não nas fêmeas de nenhum grupo. Um outro estudo *in vivo* de 13 semanas com o glifosato formulado não apresentou efeito sobre o sistema imune dos animais após tratamento (Blakley, 1997). No entanto, um estudo publicado observou potencial inflamatório do trato respiratório pelo glifosato usando um modelo murino de aplicação intranasal que ainda precisa ser melhor validado (Kumar, 2014). Já um estudo específico de imunotoxicidade em camundongos fêmeas não forneceu evidência de supressão de componentes humorais do sistema imune ou efeitos sobre o peso do timo e baço após a administração dietética de glifosato, com doses de até 5000 ppm (eq. a 1450 mg/kg de pc./dia) em mais de 28 dias (Estudo L, 2012). Embora este teste do Estudo L (2012) tenha sido elaborado para analisar a imunossupressão, houve aumento dose-resposta de anticorpos dependente de células T e um aumento não dose-resposta da celularidade do baço. Assim como neste estudo, uma série de estudos avaliados nesta revisão da Nota Técnica sobre o glifosato usaram doses acima da dose limite aceitável de 1000 mg/kg de pc./dia, o que os torna susceptíveis a produzir uma gama de efeitos não específicos. Assim, é importante que futuros estudos que incluam biomarcadores imunes usem doses não excessivas para auxiliar a identificação de quaisquer efeitos específicos. No entanto, como também apontado pela revisão da US EPA (2013) e da análise realizada pela publicação de suporte da EFSA (2015c), a imunotoxicidade não é um aspecto crítico da avaliação dos riscos de agrotóxicos e, portanto, dados adicionais sobre a imunotoxicidade do glifosato não

terão impacto na conclusão sobre seu potencial carcinogênico discutido na presente Nota.

3) O maior metabólito formado no solo e na planta (**AMPA**) foi extensivamente investigado em estudos agudos, a curto prazo e de desenvolvimento, além de testes de mutagenicidade, não apresentando genotoxicidade e igual toxicidade com relação ao composto de origem. *In vitro*, dois ensaios bacterianos e um ensaio de mutação genética em células de mamíferos realizado sob condições padrão/protocolares internacionais de Boas Práticas de Laboratório (BPL) apresentaram resultados negativos (Callander, 1988; Estudo LXVIII, 1993; Nessler, 2002), ao passo que dois testes de micronúcleo foram positivos (Roustan et al., 2014; Mañas et al., 2009a). Dois testes *in vitro* para indução de reparo do DNA (UDS) realizados em condições de BPL apresentaram resultados negativos (Nessler, 2002; Bakke, 1991); enquanto um teste para indução de quebras no DNA (teste do cometa) foi positivo (Mañas et al., 2009a). *In vivo*, dois testes do micronúcleo de medula óssea realizados em condições de BPL apresentaram resultados negativos (Estudo LXIX, 1993; Williams et al., 2000), enquanto um resultado positivo foi relatado em um estudo publicado na literatura, mas com limitações metodológicas (Mañas et al., 2009a). A indução de rupturas nos filamentos de DNA foi relatado em uma publicação após doses orais repetidas (Mañas et al., 2013). Ao final, apesar de alguns estudos publicados na literatura observarem resultado positivo para genotoxicidade do AMPA, estes também apresentaram inconsistências metodológicas e, quando comparados com o número, grau de confiabilidade, importância e relevância dos outros estudos conduzidos em BPL, o metabólito mostrou-se consistentemente negativo *in vitro* em bactérias (teste de Ames), no ensaio de linfoma do rato e em hepatócitos de rato (danos e reparos ao

DNA). *In vivo*, não produziu um aumento na frequência de micronúcleos em medula óssea de ratos em duas linhagens utilizando exposição oral ou injeção intraperitoneal (Estudo LXIX, 1993; Williams et al., 2000). Considerando-se todos os dados disponíveis também sobre o perfil toxicológico do ingrediente ativo e o método do peso das evidências, conclui-se que o metabólito AMPA não induz mutações *in vivo* e não apresenta classificação de perigo para a mutagenicidade

4) Os estudos disponíveis e os relatórios sobre o potencial de **estresse oxidativo** de glifosato, e a sua relação de causalidade, se for o caso, para a ocorrência de tumores, são extremamente limitadas. Em geral, a documentação da maioria dos estudos sobre o estresse oxidativo em todos os estudos *in vitro* e *in vivo* descrito na monografia da IARC pode ser confirmada (Gehin et al. 2005; Elie-Caille et al. 2010; George e Shukla, 2013; Chaufan et al. 2014; Coalova et al. 2014; Mladinic et al, 2009; Kwiatkowska et al. 2014), mas deve-se notar que existe uma falta de controles positivos para o estresse oxidativo nos delineamentos dos grupos (George e Shukla 2013; Astiz et al. 2009; Bolognesi et al. 1997). A partir dos dados disponíveis sobre o glifosato, existe alguma indicação de indução de estresse oxidativo em testes de culturas de células humanas e em sistemas experimentais e mamíferos (*in vivo*). Em particular, a IARC declara que há indícios de estresse oxidativo no plasma do sangue, do fígado, rim e cérebro de ratos após exposição ao glifosato (Astiz et al. 2009; Bolognesi et al. 1997; George et al. 2010). No entanto, o estresse oxidativo foi avaliado em apenas um dos estudos citados em ratos administrando glifosato puro, em combinação com citotoxicidade/efeitos degenerativos nos órgãos alvo da única espécie testada (Astiz et al. 2009). Notavelmente, o desacoplamento da fosforilação oxidativa mitocondrial também representa um mecanismo estabelecido para a

geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e tem sido relatada por estudos com glifosato em microsomas de fígado de rato (Bababunmi et al. 1979) e com uma formulação de glifosato (mas não glifosato ingrediente ativo) (Peixoto, 2005). A indução de estresse oxidativo pode fornecer uma explicação mecanicista para qualquer citotoxicidade/efeito degenerativo observado e indiretamente efeitos genotóxicos de substâncias (ECHA 2013). No entanto, considerando o baixo nível de metabolismo e a estrutura química do glifosato, apenas a observação de indução de estresse oxidativo pelo desacoplamento da fosforilação oxidativa mitocondrial sozinha, não se pode deduzir sobre a existência de um mecanismo plausível genotóxico ou carcinogênico em seres humanos para formulações à base de glifosato e glifosato.

Mesmo a IARC afirmou que não há dados disponíveis na literatura sobre imortalização, alterações epigenéticas, alteração de reparo de DNA, instabilidade genômica e ensaios de triagem de alta tecnologia. Assim, os dados disponíveis até o momento não permitem a presente Nota Técnica concluir sobre esses parâmetros para o glifosato.

5) No entanto, o glifosato foi testado numa grande gama de estudos sobre **apoptose e proliferação celular**. A concentração de até 30 µM de glifosato também não promoveu a proliferação celular (5-bromo-2'deoxiuridina) e não aumentou a atividade caspase 3 ou TP53 em células humanas neuroprogenitoras ReN CX (Culbreth et al, 2012). Muitos estudos foram com testes de apoptose em células de hepatoma humano HepG2 e o glifosato ingrediente ativo não produziu efeito ou apresentou efeito apenas em concentrações consideradas altas (Gasnier et al, 2009, 2010; Chaufan et al, 2014; Coalova et al, 2014). Nesses dois últimos estudos de 2014, testou-se ainda

a atividade da enzima hepática caspase, a qual apresentou-se inalterada, assim como a viabilidade celular que aumentou, ao invés de diminuir, após incubação de 48 ou 72 horas com o glifosato ou ao metabólito AMPA na concentração de até 1000 mg/L . Já formulações em baixas concentrações e com até 48% de glifosato induziram morte celular, ativação das caspases 3 e 7, além de indução de condensação e fragmentação do núcleo celular e da cromatina (Chaufan et al, 2014; Coalova et al, 2014). As células epiteliais humanas das veias do cordão umbilical de neonatos (HUVEC- Human Umbilical Vein Endothelial Cells), a linhagem 293 de células embrionárias de rins, e ainda a linhagem JEG3 placentária foram incubadas com glifosato e não houve indução de apoptose em baixas concentrações, apenas nas altas (1 e 10% - diluições 10 (5) vezes), indicadas por indução de caspase 3 e 7, coloração do DNA e microscopia (Benachour e Seralini, 2009). Ainda, com 4 formulações de glifosato testadas (Roundup Express®, Roundup Bioforce®, Roundup Grands Travaux® and Roundup GT Plus), a necrose celular ocorreu já em concentrações bem pequenas (0.005% - diluídas 100,000 vezes), equivalentes aos baixos níveis de resíduos encontrados em alimentos cultivados com esses compostos. As células umbilicais HUVEC apresentaram maior sensibilidade (cerca de 100 vezes mais que as outras linhagens).

6) Com relação ao potencial **desregulador endócrino**, Richard et al. (2005) comparou os efeitos do glifosato e uma **formulação Roundup** (que pode ser diferente da marca comercializada com o mesmo nome) em células da placenta humana e aromatase, e concluiu que Roundup foi mais tóxico do que o seu ingrediente ativo. Benachour et al. (2007) estudaram os efeitos tempo e de dose-dependentes de Roundup sobre as células embrionárias e da placenta humana e chegaram à mesma conclusão, ou seja, de que o Roundup foi mais eficiente que a seu ingrediente ativo

glifosato. Benachour e Seralini (2009) declarou que seu trabalho claramente confirma que os adjuvantes em formulações Roundup não são inertes. Na mais recente publicação deste laboratório, 9 formulações à base de glifosato e o ingrediente ativo foram testados quanto ao seu potencial de toxicidade em células humanas por Mesnage et al. (2014). Os autores demonstraram que "adjuvantes etoxilados base para glifosato são princípios ativos de toxicidade celular humano" Infelizmente, nestes estudos os surfactantes não foram testados sozinhos, sem glifosato. Levine et al. (2007) apresentaram dados convincentes para demonstrar a falta de sinergismo *in vitro* de glifosato com o agente tensoativo, uma vez que os efeitos citotóxicos eram completamente independentes de glifosato. Assim, curvas dose-resposta idênticas foram observadas para um produto formulado com e sem o glifosato ingrediente ativo.

Em consonância com esses resultados, Walsh et al. (2000) relataram que uma formulação, mas não o glifosato isolado, afetou a produção de progesterona através de inibição da via de esteroidogênese, resultando em redução dos níveis de proteína mitocondrial StAR abaixo na cadeia. Ainda, Quassinti et al. (2009) revelaram claramente que não há efeitos sobre a esteroidogênese gonadal em testículos e ovários de sapo. Forgacs et al. (2012) demonstraram não haver nenhum efeito sobre os níveis de testosterona em células *in vitro* de Leydig VLTK1 murinas. Além disso, Hecker et al. (2010) avaliou o glifosato usando ensaio da OECD (Steroidogenesis Assay) e concluiu que não houve impacto sobre a esteroidogênese. As concentrações de  $10^{-6}$  a  $1\mu\text{M}$  de glifosato foram testadas quanto ao efeito hormônio dependente em células MDA-MB231 de carcinoma de mama humano e não induziram o crescimento dessas células em nenhum dos meios de cultura testados (Thongprakaisang et al, 2013). Ainda

outros pesquisadores testaram o glifosato e o metabólito AMPA a 15-50 mM e estes inibiram o crescimento celular de 8 linhagens de células de carcinoma humanos, exceto em 2 linhagens de células imortalizadas de células normais de próstata que também apresentaram resultados contraditórios para o teste com AMPA (Li et al, 2013).

O **glifosato** passou recentemente por uma bateria completa de ensaios Tier I numa avaliação do potencial do glifosato em interagir com as **vias estrogênica, androgênica e endócrina da tireóide** pelo Programa de Triagem de substâncias Desreguladoras Endócrinas (EDSP) da Agência Ambiental dos EUA (USEPA). Nenhum efeito sobre as vias androgênicas e estrogênicas *in vivo* foi encontrado nos ensaios com ratos púberes masculinos e femininos (ensaio de Hershberger e Uterotrófico), e nenhum impacto sobre a esteroidogênese foi observada nos ensaios *in vitro* (USEPA-EDSP, 2015).

7) De modo geral, nos estudos da literatura reportados acima sobre morte e proliferação celular, estresse oxidativo e vias endócrinas não houve efeito significativo do glifosato ingrediente ativo em diversas linhagens de células muito sensíveis e específicas. Os efeitos observados foram consistentemente encontrados em testes com altas concentrações, até mesmo citotóxicas, ou então com o produto formulado em concentrações baixas. Os estudos *in vivo* de triagem sobre potencial desregulador endócrino produzidos pela US EPA também são conclusivos em descartar essa via de atuação para o glifosato. Assim, a observação para esses estudos *in vitro* é a mesma para os resultados dos estudos *in vivo* sobre a toxicidade do glifosato a nível tecidual. Portanto, além da falta de evidência de potencial mutagênico e carcinogênico da

glifosato, não há consideração adicional sobre o modo de ação do glifosato nesse aspecto.

## **9. EXPOSIÇÃO DIETÁRIA E AVALIAÇÃO DO RISCO NÃO OCUPACIONAL E OCUPACIONAL**

A presente Nota Técnica valoriza todas as opiniões e discussões internacionais sobre as doses de referência e a avaliação do risco toxicológico sobre o glifosato. No entanto, esta é uma avaliação que precisa considerar todos os estudos toxicológicos de forma detalhada e aprofundada para melhor definir uma dose de referência, e o presente documento objetivou avaliar os aspectos relacionados apenas à carcinogenicidade do ingrediente ativo glifosato. Portanto, a presente Nota utilizou como referência as análises mais recentes relatadas por outros países por estas considerarem as evidências mais atualizadas quanto aos outros aspectos toxicológicos da avaliação de risco.

### **9.1 Modelos internacionais**

Os países como EUA, Canadá, Austrália e União Europeia geralmente seguem as recomendações das agências internacionais regulatórias como a US EPA, PMRA, APVMA, EFSA, e a JMPR/FAO/WHO tem sido a referência para o restante dos países no mundo. Nestas autoridades, uma avaliação da exposição alimentar determina quanto de um resíduo de agrotóxico, incluindo resíduos no leite e carne, podem ser ingeridos com a dieta diária, por exemplo. A exposição ao glifosato a partir de alimentos importados potencialmente tratados também pode ser incluído na avaliação. Estas avaliações dietéticas são idade-específica e incorporam os diferentes hábitos

alimentares da população em várias fases da vida (bebês, crianças, adolescentes, adultos e idosos). Por exemplo, as avaliações levam em conta as diferenças nos padrões alimentares das crianças, tais como preferências alimentares e o maior consumo de alimentos em relação ao seu peso corporal quando comparados com os adultos. O risco dietético é então determinado pela combinação da exposição e as avaliações de toxicidade. Alta toxicidade pode não indicar alto risco se a exposição é baixa. Da mesma forma, pode existir risco se um agrotóxico é de baixa toxicidade, mas a exposição é elevada. Em situações em que se identifica a necessidade de atenuar a exposição alimentar, as seguintes opções são consideradas. a exposição alimentar dos usos agrícolas podem ser mitigados através de mudanças no padrão de uso; revisões do padrão de uso podem incluir ações como a redução da taxa de aplicação ou o número de aplicações sazonais, estabelecendo mais intervalos de pré-colheita, e / ou remover usos do rótulo do produto (Canadá, 2015). Nestes países, vários são os cálculos das doses de referência para exposição aguda, ocupacional e diária aceitável, baseando-se principalmente das concentrações utilizadas nos estudos com os animais e na estimativa de um resíduo máximo aceitável dietário. Geralmente, o que vai variar nos valores finais são os estudos que cada país considerou mais relevantes e informativos sobre a toxicidade do agrotóxico e, assim, usados para calcular suas doses de referência.

O risco alimentar agudo também é importante e quando é calculado, geralmente considera a maior ingestão de glifosato que seria provável em qualquer dia, e usando o consumo de alimentos e valores de resíduos alimentares. A ingestão prevista de resíduos é comparado com a dose aguda de referência (ARfD), que é a dose na qual um indivíduo pode ser exposto em qualquer dia e esperar nenhum efeito

adverso para a saúde. Quando a ingestão prevista de resíduos é menor do que a ARfD, em seguida, a exposição dietética aguda não é uma preocupação, e por isso, nem sempre é estimada em algumas avaliações.

O risco alimentar crônico geralmente é calculado usando a média de consumo de diferentes alimentos e os valores médios de resíduos sobre os alimentos. Esta ingestão esperada de resíduos é, então, comparada com a IDA. Quando a ingestão prevista de resíduos é menor do que a IDA, em seguida, a exposição crônica da dieta não é uma preocupação. No caso das avaliações sobre o glifosato, os cálculos de exposição alimentar crônica podem ser conduzidos para a forma de ácido de glifosato (incluindo todos os metabólitos compreendidos na definição de resíduos), que é considerada a parte comum para todas as formas atualmente registrados de glifosato.

## **9.2 Avaliação do risco alimentar - cenário internacional**

Na Austrália, a Ingestão Diária Aceitável (IDA) para o glifosato, definida pelo Doha Australian em 1985, é de 0,30 mg/kg de pc/dia , com base em um NOEL de 30 mg/kg de pc/dia (a dose mais elevada administrada) em um estudo de reprodução de 3 geração em ratos, e um fator de segurança intra e interespecie de 100. Este valor não foi modificado mesmo na última reavaliação do agrotóxico por uma agência de consultoria do governo, disponível em 2013. Em comparação com a IDA, o nível real de exposição para os australianos é provavelmente muito menor. Com base no consumo de produtos alimentares para os quais a APVMA (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority) estabeleceu Limites Máximos de Resíduos (LMR), o consumo nacional estimado diária (CNED) do glifosato é de 0.02 mg/kg de pc/dia, ou apenas 6

da IDA. Mesmo este valor pode ser conservador. Na sequência de uma pesquisa alimentar de mulheres australianas grávidas e análise de amostras de alimentos compostos que elas forneceram, McQueen et al (2012) estimaram que a exposição alimentar materna ao glifosato é de 0.001 mg/kg de pc/dia. Esta dose é de 0,33% da IDA australiana, e também é apenas 5% da CNED de 0.02 mg/kg de pc/dia, além de ser apenas 1% da estimativa de ingestão diária máxima teórica para o glifosato pela JMPR (2004 e 2016) de 0-1.0 mg/kg de pc/dia.

Evidências sugerem que a exposição dos usuários de produtos com glifosato é também relativamente baixa. Isto pode ser devido à taxa de absorção cutânea relativamente baixa, estimada em 1 % para o concentrado e as diluições (baseado em estudos *in vitro* de pele humana) (EFSA 2015). Em um estudo de biomonitorização das famílias de agricultores norte-americanos, Acquavella et al (2004) detectou glifosato na urina de 60% dos agricultores, 4% dos seus cônjuges e 12% dos seus filhos no dia da aplicação. De acordo com a avaliação da JMPR (2004), as doses sistêmicas máximas (absorvidas) de um único evento de mistura/carga/aplicação foram é de 0.004, 0.00004 e 0.0008 mg/kg de pc nos agricultores, cônjuges e filhos, respectivamente. Estes valores representam 1.3%, 0.013% e 0.27% da IDA australiana para o glifosato, por exemplo.

Outra recente avaliação do risco toxicológico sobre o glifosato é a do Canadá (2015). Para estimar o risco alimentar de exposição a longo prazo, o estudo de toxicidade e carcinogenicidade crônica de 26 meses em ratos com um NOAEL de 32/34 mg/kg de pc/dia foi selecionado para a avaliação de risco. Este foi o maior NOAEL (combinado) para os estudos de toxicidade a longo prazo em ratos. Seguindo os limites

máximos, a avaliação da exposição foi realizada para mulheres de 13-49 anos de idade e todos os outros subgrupos populacionais usando LMR/nível de tolerância de resíduos para todas as commodities, fatores de processamento padrão e assumindo que todas as culturas foram 100% tratadas. Para todas as culturas, incluindo as importações, foram utilizados os maiores valores dos LMRs canadense, dos níveis de tolerâncias dos Estados Unidos ou do Codex Alimentarius. A estimativa da exposição aguda ao percentil de 95% para o sexo feminino com 13-49 anos de idade é de 31% da dose aguda de referência e, portanto, não é motivo de preocupação. A exposição aguda estimada no percentil 95% para outros subgrupos da população que não de mulheres na faixa de 13-49 anos é entre 12% e 45% da IDA e, portanto, também não é motivo de preocupação. A estimativa de exposição crônica para a população canadense em geral é de 30% da IDA e, portanto, também não é motivo de preocupação. As estimativas de exposição para subgrupos populacionais variam de 20% a 70% da IDA e, por conseguinte, não são uma preocupação.

Os países membros da União Europeia podem se basear na última avaliação da EFSA (European Food Safety Authority) em 2015 para concluir sobre as doses de referência para o glifosato. Neste documento, a autoridade define uma IDA de 0.5 mg/kg de pc/dia, com base no NOAEL de 50 mg/kg de pc/dia de toxicidade materna do estudo de desenvolvimento de coelhos e aplicação de um factor de incerteza padrão (UF) de 100. A avaliação anterior UE em 2002 havia estabelecido uma IDA de 0.3 mg/kg de pc/dia com base nos quatro estudos de toxicidade a longo prazo em ratos que estavam disponíveis naquele momento. Em linha com a prática anterior de regulamentação, foram utilizados NOELs (No-Observed-Effect-Level) em vez de NOAELs (No-Observed-Adverse-Effect-Level), e um NOEL total de 30 mg/kg de pc/dia

foi estabelecido. Um desses estudos já não satisfazem os critérios de testes de orientação atuais, devido às baixas doses testadas (o NOEL é a maior dose testada neste estudo) e na avaliação atual da EFSA, o NOAEL geral a longo prazo é de 100 mg/kg de pc/dia baseado em seis estudos de toxicidade/carcinogenicidade válidos combinados em ratos. Nesta nova reavaliação, a EFSA também estabeleceu uma dose aguda de referência (ARfD) de 0,5 mg/kg de pc/dia que não tinha sido atribuída na avaliação anterior da UE, com base no mesmo NOAEL de 50 mg/kg de pc/dia, aplicando uma UF de 100, e devido à ocorrência de toxicidade grave, incluindo a mortalidade observada na gravidez e aumento da incidência de perdas pós-implantaionais observadas em dois dos sete estudos de toxicidade do desenvolvimento em coelhos.

A outra organização de referência mundial da WHO, o JMPR-FAO em Maio deste ano lançou apenas um resumo divulgando que haverá uma nova reavaliação sobre o glifosato e os limites de resíduos. No entanto, mesmo neste curto texto, o grupo continuou a manter a dose de referência IDA em 0-1 mg/kg pc/dia e também declarou que o agrotóxico não apresenta potencial cancerígeno para humanos.

### **9.3 Manifestações clínicas e intoxicação ocupacional ao glifosato**

Os resultados de várias investigações estabeleceram que a toxicidade e potencial de irritação aguda do herbicida do tipo Roundup (marca registrada de produto formulado com glifosato) em seres humanos é baixa. Especificamente, os resultados de estudos controlados com Roundup mostraram que a irritação da pele foi semelhante ao de um xampu e menor do que a observada com um detergente e um produto de limpeza para todos os fins (Maibach 1986). Nenhuma reação de

sensibilização dérmica, irritação, ou fotossensibilização foram observadas. Além disso, a incidência de casos ocupacionais envolvendo Roundup é baixo, dada a generalizada utilização do produto. Os dados destes casos indicam algum potencial de irritação cutânea e ocular com o produto concentrado, mas a exposição à soluções diluídas durante a pulverização raramente resultaram em qualquer efeito adverso significativo. E ainda, os efeitos dérmico ou ocular não foram duradouros (Temple e Smith;1992; Talbot et al. 1991). Também não houve efeito sistêmico significativo atribuível ao contato com Roundup.

Estudos sobre a ingestão de Roundup mostraram que a morte e outros efeitos graves (hipotensão severa, falência renal) ocorreram apenas quando grandes quantidades foram intencionalmente ingeridas com o propósito de cometer suicídio (Sawada et al., 1988; Menkes et al., 1991; Talbot et al., 1991; Tominack et al., 1991; Temple e Smith, 1992). Estes dados confirmaram que a toxicidade oral aguda em humanos é baixa e consistente com a prevista pelos resultados de estudos em animais de laboratório.

#### **9.4 Avaliação do risco ocupacional ao glifosato - cenário internacional**

Os trabalhadores podem estar expostos ao glifosato, através de mistura, carregamento, ou ao aplicar o agrotóxico, e quando entrar em uma área tratada para realizar atividades como inspeção. Atualmente no Brasil, algumas marcas do produto são liberados para pulverização aérea, mas a maioria registrada no IBAMA são liberadas apenas para pulverização terrestre com o emprego de equipamentos costais manuais ou tracionados e acionados por tratores (Fonte: IBAMA 2015

[http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade\\_Ambiental/produtos\\_na\\_ibama\\_2015.pdf](http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/produtos_na_ibama_2015.pdf)). A Colômbia em 2015 proibiu a aspersão aérea do glifosato para erradicar as plantações de coca no país, mas em Maio de 2016 o Conselho Nacional de Narcóticos (CNE) anunciou que o agrotóxico pode voltar a ser usado para o mesmo fim, no entanto por via terrestre e com um protocolo especial de controle e segurança dos trabalhadores do terreno e das comunidades das áreas fumegadas (Fonte: [http://internacional.elpais.com/internacional/2016/05/05/colombia/1462412622\\_636433.html](http://internacional.elpais.com/internacional/2016/05/05/colombia/1462412622_636433.html)).

A avaliação do risco ocupacional a um agrotóxico depende exclusivamente das condições de cada país de aplicação, incluindo não só o tipo de cultura a ser utilizado, mas também as características climáticas e geográficas das áreas a receberem o produto. Portanto, cada país deve elaborar seus próprios critérios de avaliação de acordo com as características do material e do território a ser liberado para aplicação. A presente Nota Técnica baseou-se principalmente nas características toxicológicas e o potencial carcinogênico do ingrediente ativo e, portanto, os estudos de aplicação do produto formulado não foram avaliados. Apesar da maioria dos países utilizar as doses produzidas nos estudos com animais (como a derivação da dose de Ingestão Diária Aceitável - IDA), esta área também requer estudos específicos para servir de base de cálculo para os diferentes cenários de exposição e uso. Os estudos são de acordo com as vias de exposição ocupacional e são baseados em absorção dérmica do produto concentrado e das diluições, toxicidade aguda incluindo irritação e sensibilização da pele com as preparações, toxicidade inalatória, irritação da pele e dos olhos, etc. Portanto, abaixo estão apenas alguns exemplos mais recentes de avaliação do risco ocupacional ao glifosato.

Para o Canadá e os EUA, o risco ocupacional e não-ocupacional é estimado comparando exposições potenciais com o parâmetro mais relevante dos estudos de toxicologia para calcular uma margem de exposição (MOE). Este é comparado com um MOE alvo incorporando factores de incerteza protetores da subpopulação mais sensível. Se a MOE calculada é inferior à MOE alvo, isso não significa necessariamente que a exposição irá resultar em efeitos adversos, mas medidas de mitigação para seriam necessários para reduzir o risco. Abaixo está um quadro resumo publicado pela monografia do Canadá (2015):

**Table VII.1 Commercial Mixer/Loader/Applicator Exposure and Risk Assessment**

Application Equipment	Scenario	Max. Rate	Area Treated per Day	Dermal Exposure <sup>1</sup> (mg/kg bw/day)	Inhalation Exposure <sup>2</sup> (mg/kg bw/day)	Dermal MOE <sup>3</sup>	Inhalation MOE <sup>3</sup>	Combined MOE <sup>4</sup>
<b>Baseline PPE: Open M/L, Single Layer</b>								
Groundboom (custom)	MLA	4.320 kg/ha	360 ha/day	0.060848	0.046294	490	650	280
Aerial	ML	4.320 kg/ha	536 ha/day	0.059208	0.046310	510	650	280
	A	4.320 kg/ha	536 ha/day	0.011184	0.002026	2700	15000	2300
Airblast	MLA	4.320 kg/ha	20 ha/day	0.037988	0.007992	790	3800	650
Mechanically pressurized handgun	MLA	0.0096 kg/L	3800 L/day	0.101879	0.068856	290	440	180
Backpack	MLA	0.022 kg/L	150 L/day	0.008822	0.002515	3400	12000	2600
Cut stump application	MLA	0.36 kg/L	150 L/day	0.025471	0.030510	1200	980	540
ROW Sprayer	MLA	0.0096 kg/L	3800 L/day	0.016848	0.003010	1781	9968	1511

M/L = mix/load, A = apply, ATPD = area treated per day, MOE = margin of exposure, ROW = right-of-way

<sup>1</sup> Dermal exposure (mg/kg bw/day) = (dermal unit exposure × ATPD × maximum application rate × 4% dermal absorption)/80 kg body weight

<sup>2</sup> Inhalation exposure (mg/kg bw/day) = (inhalation unit exposure × ATPD × maximum application rate)/80 kg body weight

<sup>3</sup> Based on a NOAEL of 30 mg/kg bw/day, target = 100

<sup>4</sup> Combined MOE = 1/[1/dermal MOE + 1/inhalation MOE]

Fonte: Canadá, 2015, página 111.

Nesta avaliação do Canadá (2015), as margens de exposição (MOE) calculadas das vias dérmica, inalatória, e combinada (exposição total da via cutânea e por inalatória) para fins de misturador/carregadores e aplicadores de glifosato excedeu a MOE-alvo para todos os usos e, portanto, não são motivo de preocupação.

Para a EFSA (2015), o nível de exposição aceitável do operador (AOEL) é de 0.1 mg/kg pc/dia na mesma base como a ADI e ARfD, aplicando-se um fator de correção para contabilizar a absorção oral limitada de 20%. A avaliação anterior UE tinha definido um AOEL de 0.2 mg/kg pc/dia, com base em um NOEL de toxicidade materna (assumido como um NOAEL) de 75 mg/kg pc/dia à partir de um estudo de desenvolvimento de coelhos, com um UF de 100 e 30% absorção oral absorção. Equipamentos de Proteção Individual (EPI) como luvas durante a mistura e as operações de carga têm que ser considerados para garantir que a exposição do operador não exceda o AOEL, de acordo com o modelo alemão (German Model) para aplicações portáteis, enquanto a exposição estimada dos operadores foi abaixo do AOEL para o uso com trator (ou seja, em aplicações montadas mesmo quando os EPIs não são usados).

A exposição do trabalhador sem EPI, espectador e exposição dos residentes de áreas vizinhas à fumegada foram estimados como abaixo do AOEL pela EFSA (2015). O biomonitoramento humano de amostras de urina de várias publicações não apresentou indicações de preocupação para a saúde. O maior valor de concentração da urina, convertido para uma dose sistêmica, foi estimado por representar no máximo 8.4% da AOEL, com o valor médio de amostras representativas de *ca.* 0.1% da AOEL. Valores geralmente menores foram obtidos à partir de amostras de urina assumidos como resultado da ingestão de glifosato, o que representa 0.1-0.66% da IDA. Da mesma forma, quando AMPA foi biomonitorado, seus níveis máximos foram estimados para permanecer abaixo de 0.1% da IDA, porém, nenhuma correlação direta poderia ser estabelecida entre o glifosato e o AMPA, indicando que a presença de AMPA na

urina podem ser provenientes de outras fontes que não à partir do metabolismo do glifosato em plantas.

Em resumo, com base apenas nos documentos mais recentemente publicados pelas agência e governos internacionais sobre a exposição ocupacional e da população em geral, o glifosato como registrado nestes locais, não tem apresentado preocupação com relação aos diferentes usos e nos diferentes cenários de exposição quando utilizados da maneira especificada. Os limites de resíduos máximos permitidos nos alimentos ainda estão sob reavaliação pelas organizações internacionais como JMPR-Codex Alimentarius, US EPA e EFSA e serão divulgados num futuro próximo, no entanto esses valores e definições precisam ser melhor aprofundados e avaliados de acordo com cada produto, impureza e coadjuvante registrados em cada país.

### III. DISCUSSÃO

---

#### 9. DIFERENÇAS NA AVALIAÇÃO DA IARC SOBRE CARCINOGENICIDADE DO GLIFOSATO

Apesar do modelo de avaliação e classificação de agrotóxicos no Brasil basear-se nos guias da agência internacional IARC, houve diferença na base de dados, tipo de avaliação estatística e peso de evidência atribuídos às conclusões dessa Nota Técnica com relação à monografia da IARC sobre a carcinogenicidade do glifosato. O grupo da IARC classificou o herbicida ingrediente ativo e formulações como prováveis cancerígenos para humanos. Já a presente Nota não propõe nenhuma classificação quanto ao aspecto carcinogênico do herbicida e considera pouco provável que o

glifosato ingrediente ativo seja cancerígeno para humanos. Não há conclusão sobre as formulações comercializadas no Brasil, pois estes estudos não foram avaliados na presente Nota Técnica.

A base de dados utilizada pelas duas avaliações foi similar, com a diferença da presente Nota Técnica avaliar efeitos adversos em outros estudos toxicológicos (toxicocinética, ensaios agudos e subcrônicos, e de toxicidade reprodutiva), submetidos nos dossiês para avaliação regulatória. Muitos desses estudos são confidenciais e a IARC não teve acesso, baseando-se apenas na carcinogenicidade, sem uma avaliação completa do perfil toxicológico e que pudesse dar suporte à hipótese do modo de ação da substância. Portanto, além da avaliação dos estudos válidos relevantes publicados na literatura disponível gratuitamente pela internet, a presente Nota Técnica avaliou ao menos mais 3 estudos carcinogênicos em camundongos e 3 em ratos, presentes nos dossiês submetidos também às agências regulatórias internacionais. Os estudos epidemiológicos, no entanto, foram os mesmos usados nos dois documentos.

Além disso, a IARC não tenta diferenciar se os efeitos estavam ligadas ao ingrediente ativo, outros ingredientes (formulantes), ou a combinação de vários ingredientes, mesmo quando evidências sugerem efeitos negativos para o glifosato e efeitos positivos para um produto formulado. A monografia da IARC afirma que produtos formulados contém outros ingredientes, e menciona especificamente alquilamina polietoxilada, um co-formulante considerado de potencial preocupação e que precisa ser avaliado separadamente.

## 10. CONCLUSÃO

Após a avaliação de todos os estudos sobre o glifosato, a evidência para uma associação entre as formulações à base de glifosato e não-Hodgkin linfoma é muito limitada, e a evidência geral é inconclusiva para uma relação associativa causal ou de outra forma convincente entre glifosato e carcinoma em estudos humanos. Não há evidência de carcinogenicidade em ratos ou camundongos, devido à falta de significância estatística em testes de comparação por pares, falta de consistência em múltiplos estudos de animais e ligeiro aumento da incidência apenas em doses iguais ou superiores ao limite de dose tolerada/MTD, além de ausência de lesões pré-neoplásicas e/ou se apresentarem dentro da margem do controle histórico. A significância estatística encontrada na análise de tendência (mas não na comparação por pares) por si ficou equilibrada contra essas considerações acima. Portanto, considerando-se o peso das evidências e levando em conta a qualidade e confiabilidade de todos os dados disponíveis, conclui-se que o glifosato é improvável genotóxico *in vivo*, não exige classificação de perigo em relação à mutagenicidade e não apresenta risco cancerígeno para humanos através de exposição pela dieta. Então, uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0.5 mg/ kg pc. pode ser sugerida para o glifosato e seu metabólito, com base no NOAEL de 50 mg/kg pc./dia, o mais baixo de efeitos na toxicidade materna e no desenvolvimento fetal de coelhos (Estudos XXXIX, 1991 e XL, 1996), e aplicando-se um fator de incerteza de 100 (variação intra- e interespécie). Assim, os efeitos observados para o ingrediente ativo glifosato não se enquadram nas características proibitivas de registro de agrotóxicos no Brasil<sup>3</sup> e o

---

<sup>3</sup>Conforme Art. 31 do Decreto 4.074, de 2002, e item 1.3 da Portaria do Ministério da Saúde n° 03, de 16 de janeiro de 1992, especialmente:

presente documento propõe a manutenção do registro sem alterações (Art. 19 do Decreto nº 4.074, de 2002)<sup>4</sup> com relação ao seu potencial cancerígeno (não carcinogênico para humanos).

---

a) Se há evidências científicas de carcinogenicidade para o homem baseadas em estudos epidemiológicos validados, efetuados com o rigor científico da OMS, em órgãos Regionais e seus Centros especializados ou evidências científicas, baseadas em dados validados, de carcinogenicidade para pelo menos duas espécies de animais de experimentação com incidência aumentada de tumores malignos (Inciso IV, do Art 31, do Decreto nº 4.074, de 2002 e item 1.3.2 da Portaria nº 03, de 1992).

b) Se há evidências científicas de mutagenicidade baseadas em dados validados, com indução de mutações em, no mínimo, dois testes, um deles para detectar mutações gênicas (realizado com e sem ativação metabólica, e com um controle positivo) e o outro para detectar mutações cromossômicas (Inciso V, do Art 31, do Decreto nº 4.074, de 2002 e item 1.3.3 da Portaria nº 03, de 1992).

**4Decreto Nº 4074/2002** - "Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências" - Data da legislação: 04/01/2002 - Publicação DOU, de 08/01/2002.

**Art. 19.** Quando organizações internacionais responsáveis pela saúde, alimentação ou meio ambiente, das quais o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordos e convênios, alertarem para riscos ou desaconselharem o uso de agrotóxicos, seus componentes e afins, caberá aos órgãos federais de agricultura, saúde e meio ambiente, avaliar imediatamente os problemas e as informações apresentadas.

Parágrafo único. O órgão federal registrante, ao adotar as medidas necessárias ao atendimento das exigências decorrentes da avaliação, poderá:

- I - manter o registro sem alterações;
- II - manter o registro, mediante a necessária adequação;
- III - propor a mudança da formulação, dose ou método de aplicação;
- IV - restringir a comercialização;
- V - proibir, suspender ou restringir a produção ou importação;
- VI - proibir, suspender ou restringir o uso; e
- VII - cancelar ou suspender o registro.

## IV. APÊNDICE

Tabelas resumo dos principais estudos de carcinogenicidade *in vitro* e *in vivo* com glifosato ingrediente ativo, principalmente os não publicados e não avaliados pela IARC.

### Resumo dos testes mutagênicos *in vitro* em células de mamíferos ou bactéria.

TESTE	SISTEMA TESTE	REFERÊNCIA	CONCENTRAÇÃO	RESULTADO	COMENTÁRIO
<b>Aberração cromossômica</b>	Linfócitos humanos (danos cromossômicos)	Manãs et al., 2009b	0.2-6.0 mM (34 - 1015 µg/mL) Pureza: 96%	Negativo (-S9); (+S9): não testado	Contagem de apenas 100 células por tratamento. Resultados não reportados separadamente para replicar culturas.
		Fox, 1998	-S9/+S9: 100 - 1250 µg/ml Pureza: 95.6%	Negativo (-/+ S9)	Não avaliado pela IARC
		Van de Waart, 1995	-S9: 33 - 333 µg/mL +S9: 237 - 562 µg/mL Pureza: 96%		
	Células de pulmão de hamster chinês (danos cromossômicos)	Wright, 1996	-S9/+S9: 312.5 - 1250 µg/mL Pureza: 95.3%		
		Kyomu, 1995	-S9: 62.5 - 500 µg/mL +S9: 250 - 1000 µg/mL Pureza: 95.7%		
Linfócitos bovinos (danos cromossômicos)	Lioi et al., 1998b	17 - 170 µM (3 - 30 µg/mL) Pureza: ≥ 98%	Positivo (-S9); (+S9): não testado	P < 0.05 (17 µM) . Teste não BPL. Quantificação de apenas 150 metáfases por concentração, ao invés de 200-300 recomendado pelos guidelines (TG 1997 ou 2014). 81	
<b>Formação de</b>	Linfócitos humanos	Mladinic et al.,	-S9/+S9:	Negativo (-S9);	Não há indicação de codificação independente das

<b>micronúcleo</b>	(danos cromossômicos)	2009a,b	0.5 - 580 µg/mL Pureza: 96%	Positivo (+S9) P <0.01 (580 ug/ml).	lâminas. Resultados não reportados separadamente para replicar culturas (mais informações verificar item 4.3).
	Células ovarianas CHO-K1 de hamster chinês (danos cromossômicos)	Roustan et al., 2014	5 - 100 µg/mL Pureza: não indicada	Negativo (-S9); Positivo (+S9) P ≤ 0.001 (10 µg/mL).	Teste não BPL. Tratamento não contínuo (TG 2014).
<b>Linfoma em camundongos</b>	Células de linfoma de camundongo L5178Y TK+/- (mutação)	Clay, 1996,	+/-S9: 296 - 1000 µg/mL Pureza: 95.6%	Negativo(-/+ S9)	Não avaliado pela IARC
		Jensen, 1991,	-S9: 0.61 - 5.0 mg/mL +S9: 0.52 - 4.2 mg/mL Pureza: 98.6%		
<b>Mutação Hprt</b>	Células ovarianas CHOK1BH4 de hamster chinês	Li e Long, 1988	-S9: 2 - 22.5 mg/mL +S9: 5 - 22.5 ou 25 mg/mL Pureza: 98.7%	Negativo(-/+ S9)	
<b>Mutação reversível</b>	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 (mutação) Escherichia coli WP2 (mutação)		10 - 5000 µg/placa Pureza: 98.4%		

S9, 9000 x g o sobrenadante; HPRT, gene da hipoxantina-guanina-fosforribosil transferase.

### Resumo dos testes genotóxicos *in vitro* em células de mamíferos ou bactéria.

TESTE	SISTEMA TESTE	REFERÊNCIA	CONCENTRAÇÃO	RESULTADO	COMENTÁRIO
Quebra de DNA, ensaio do cometa padrão e hOGG1 modificado	Linfócitos humanos (dano no DNA)	Mladinic et al., 2009a,b	0.5-580 µg/mL Pureza: 98%	Positivo (-/+ S9) P <0.05 (3.5 ug / ml)	Não há indicação de BPL. Com o teste do cometa hOGG1 modificado, +S9, o aumento foi significativo (P <0,01) apenas com a dose mais elevada testada (580 ug / mL). Não há indicação de controle de pH e osmolaridade. Resultados não reportados separadamente para replicar culturas. Autores declararam que não há efeito dose-resposta observado.
Quebra de DNA, ensaio do cometa	Células de fígado Hep-2	Mañas et al., 2009b	3 - 7.5 mM (507.2 - 1268 µg/mL) Pureza: 96%	Positivo (-S9); (+S9): não testado	Não há indicação de BPL. P <0,01 (507,2 ug / ml), dose-resposta. Não há indicação de controle de pH e osmolaridade. Resultados não reportados separadamente para replicar culturas
	Linfócitos humanos (dano no DNA)	Alvarez-Moya et al., 2014,	0.0007-0.7 mM (0.118- 118 µg/mL) Pureza: 96%		Não há indicação de BPL. P ≤ 0,01 (0,0007 mM) Não há indicação de pH ou de controle da pressão osmótica. Resultados não reportados separadamente para replicar culturas. Resposta dose dependente inconsistente e não clara. O teste foi realizado com glifosato isopropilamina.
	Fibroblastos GM	Monroy et al., 2005	4.0-6.5 nM (6.76.10 <sup>-4</sup> –		Não há indicação de BPL. Fibroblastos: P <0,001 (4 nM)

	39 e Fibrosarcoma HT1080 (dano no DNA)		1.1.10 <sup>-3</sup> µg/mL, GM39 cells), 4.5-6.5 nM (7.6.10 <sup>-4</sup> -1.1.10 <sup>-3</sup> µg/mL HT1080) cells) Pureza: não indicada	Fibrossarcoma: P <0,001 (4,75 nM) Não há indicação de pH ou de controle da pressão osmótica. Nenhuma medida concomitante de toxicidade relatada. Não há indicação de codificação independente das lâminas. Resultados não reportados separadamente para replicar culturas. Concentrações usadas parecem muito baixas.
	Fibroblasto GM 5757 (dano no DNA)	Lueken et al., 2004	75 mM (12.7 mg/ml) Pureza: 98.4%	Não há indicação de BPL. Baixa qualidade do estudo. Glifosato só foi testado em conjunto com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	Carcinoma bucal TR146 (dano no DNA)	Koller et al., 2012	10-2000 µg/mL Pureza: 95%	Não há indicação de BPL. $P \leq 0.05$ (20 µg/mL) Não há indicação de controle de pH e osmolaridade. Resultados não reportados separadamente para replicar culturas. Sem claro efeito dose-resposta. Maior atividade da formulação do que do ingrediente ativo.
<b>Troca de cromátides irmãs</b>	Linfócitos humanos (danos cromossômicos)	Bolognesi et al., 1997	0.33 and 6 mg/mL Pureza: 99.9%	Não há indicação de BPL. O estudo é realizado com deficiências metodológicas e descritivas (sem controles positivos incluídos no SCE <i>in vitro</i> ). Os dois experimentos foram de dados agrupados de dois dadores e os valores individuais não foram reportados.

	Linfócitos bovinos (danos cromossômicos)	Lioi et al., 1998,	17-170 µM (2.9-29 µg/ml Pureza: ≥ 98%		P <0,05 (17 µM) Os experimentos foram com dados agrupados de três doadores e os valores individuais não foram reportados. Aumento da SCE não dose relacionado com o grupo de mais elevada dose.
<b>Síntese não programada de DNA ( teste USD)</b>	Hepatócitos de ratos Fischer 344 (dano no DNA)	Li e Long, 1988	1.25.10 <sup>-5</sup> - 1.25.10 <sup>-1</sup> mg/ml Pureza: 98%	Negativo (-S9); (+S9): não testado	Quantificação de apenas 5 a 20 células.
	Hepatócitos de ratos Sprague Dawley (dano no DNA)	Rossberger, 1994,	0.2-111.7 mM (33.8 µg/ml- 18.9 mg/ml) Pureza: > 98%		Não avaliado pela IARC.
<b>Ensaio Rec</b>	B. subtilis H17, M45 (dano/reparo no DNA)	Akanuma, 1995	7.5-240 µg/disco Pureza: 95.7%	Negativo (-S9/+S9)	Não avaliado pela IARC. Ensaio Rec não é o padrão para esse parâmetro de dano e reparo no DNA.

S9, 9000 x g o sobrenadante; HPRT, gene da hipoxantina-guanina-fosforribosil transferase.

### Resumo dos testes mutagênicos de células somáticas em mamíferos, *in vivo*.

TESTE	REFERÊNCIA	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	RESULTADO	COMENTÁRIO
Micronúcleo em medula óssea de camundongos	Jensen, (1991)	Glifosato, 98.6 % oral, 1x 0 ou 5000 mg/kg pc, Coleta amostras após 24, 48 e 72 h. 5 animais por sexo e amostragem de tempo. 2000 PCE contados / animal.	Negativo <i>MN/2000 PCE [média (intervalo)]:</i> Controle: 2.7 (1-4) 24h, 5000 mg/kg: 3.2 (1-5) 48h, 5000 mg/kg: 2.8 (1-6) 72h, 5000 mg/kg: 1.7 (0-4) Controle positivo: 48.2 (32-58) PCE / NCE: nenhum efeito.	Não avaliado pela IARC.
	Estudo XLIX, (1993)	Glifosato, 96.8 % oral, 2x 0, 50, 500 or 5000 mg/kg pc (24 h intervalo). Coleta amostras após 24 h da segunda dose. 5 animais por sexo e dose; controles (10 animais/sexo). 2000 PCE contados / animal.	Negativo <i>% MNPCE [média (intervalo)], macho/fêmea:</i> Controle: 0.69 (0.1-1.6)/0.51 (0.2-1.0) 50 mg/kg: 0.84 (0.2-1.4)/0.28 (0.0-0.5) 500 mg/kg: 0.73 (0.4-1.6)/0.52 (0.2-1.3) 5000 mg/kg: 0.89 (0.7-1.1)/1.05*(0.4-1.6) Controle positivo: 2.33* (1.5-3.2)/2.39* (1.4- 3.4) *p<0.05	Não avaliado pela IARC. A incidência MN em fêmeas na dose de 5000 mg/kg está dentro do intervalo de controles considerando ambos os sexos.
	Estudo XL, (1996)	Glifosato, 95.6 % oral, 1x 0 ou 5000 mg/kg pc. Coleta amostras após 24 e 48h 5 animais por sexo e amostragem de tempo. 2000 PCE contados / animal.	Negativo <i>MN/1000 PCE (média±SD), machos/fêmeas:</i> 24h, Controle: 1.6±0.8/1.4±0.7 24h, 5000 mg/kg: 2.1±1.6/2.1±2.5 24h, Controle positivo: 22.2±6.1*/23.3±4.9* 48h, Controle: 1.7 ±1.3/0.7±0.6	Não avaliado pela IARC

			48h, 5000 mg/kg: 2.1±1.9/0.8±0.8 *p<0.01 PCE / NCE: nenhum efeito.	
Estudo LXI, (2008)	Glifosato, 99.1 % oral, 1x 0, 500, 1000 ou 2000 mg/kg pc, coleta amostras após 24 h 1x 0 or 2000 mg/kg pc, coleta amostras após 48 h 5 animais por sexo e amostragem de tempo. 2000 PCE contados / animal.		<i>Negativo.</i> <i>MN/2000 PCE [média (intervalo)]:</i> 24h, Controle: 1.4 (0-3) 24h, 500 mg/kg: 1.6 (1-2) 24h, 1000 mg/kg: 1.6 (1-2) 24h, 2000 mg/kg: 1.4 (0-2) 24h, Controle positivo: 63.0 (44-92)* 48h, Controle: 1.4 (0-3) 48h, 2000 mg/kg: 1.6 (0-3) *p<0.01 PCE / NCE: nenhum efeito.	Não avaliado pela IARC. Dados de controle histórico de 293 estudos: % <i>MNPCE [média±SD, (intervalo)]: 0.084±0.031 (0.01 – 0.18)</i>
Patel, (2012)	Glifosato, 98.9 % oral, 2x 0 or 2000 mg/kg pc (24 h intervalo), coleta amostras após 24 h da segunda dose. 6 machos/grupo 2000 PCE contados / animal.		<i>Negativo.</i> <i>% MNPCE [média (intervalo)]:</i> Controle: 0.033 (0-0.05) 2000 mg/kg: 0.0 (0-0) Controle positivo: 2.49* (1.1-3.7) *p<0.01	Não avaliado pela IARC. PCE/NCE: sem efeito a 2000 mg/kg, aumento do controle positivo. Dados de controle histórico de 73 estudos: % <i>MNPCE [média±SD, (intervalo)]: 0.02±0.02 (0.0-0.07)</i>
Roth, (2012)	Glifosato, 96.3 % oral, 1x 0 or 2000 mg/kg bw. Coleta amostras após 24 e 48h 7 machos/grupo (controles 5 machos/cada) 2000 PCE contados / animal.		<i>Negativo.</i> <i>MN/2000 PCE [média±SD, (intervalo)]:</i> 24h, Controle: 3.2±3.6 (0-8) 24h, 2000 mg/kg: 2.3±0.5 (2-3) 24h, Control positivo: 40.2±18.2* (16-67) 48h, Controle: 1.4±1.1 (0-3) 48h, 2000 mg/kg: 1.1±1.3 (0-3) *p<0.01	Não avaliado pela IARC. Dados de controle histórico de 219 estudos: % <i>MNPCE [média±SD, (intervalo)]: 0.108±0.039 (0.01-0.25)</i>

			PCE/NCE: sem efeito	
Estudo LXII, (1999)	Glifosato, 95 % i.p., 2x 0, 187.5, 375 ou 562.5 mg/kg pc (24 h intervalo). Coleta amostras após 24 h da segunda dose. 5 animais por sexo e dose. Contagem de 1000 PCE e 1000 NCE por animal	<i>Negativo.</i> <i>MN/1000 PCE [média (intervalo)],</i> <i>macho/fêmea:</i> <i>Control:e 0.4 (0-1)/0.8 (0-2)</i> <i>188 mg/kg: 0.0 (0)/0.6 (0-3)</i> <i>375 mg/kg: 0.6 (0-3)/0.6 (0-2)</i> <i>563 mg/kg: 0.4 (0-2)/0.6 (0-1)</i> <i>Controle positivo: 4.8* (4-7)/4.8* (2-12)</i> <i>*p&lt;0.05</i> PCE/NCE: sem efeito	Não avaliado pela IARC. MN/1000 NCE: sem efeito (exceto controle positivo). LD50i.p.=750 mg/kg	
Estudo LXIII, (2006)	Glifosato, 95.7 % i.p., 1x 0, 150, 300 or 600 mg/kg pc, Coleta amostras após 24 e 48h 7 machos por grupo e tempo de amostra 2000 PCE contados / animal.	<i>Negativo.</i> <i>% MNPCE [média±SD, (intervalo)]:</i> <i>24h, Controle: 0.06±0.06 (0.0-0.15)</i> <i>24h, 150 mg/kg: 0.07±0.04 (0.0-0.10)</i> <i>24h, 300 mg/kg: 0.06±0.05 (0.0-0.15)</i> <i>24h, 600 mg/kg: 0.19±0.07* (0.05-0.25)</i> <i>24h, Controle positivo: 3.03±0.49*** (2.20- 3.35)</i> <i>48h, Controle: 0.1±0.12 (0.0-0.35)</i> <i>48h, 600 mg/kg: 0.09±0.11 (0.0-0.30)</i> <i>*p&lt;0.05, ***p&lt;0.001</i>	Não avaliado pela IARC. <i>Pre-teste: Mortalidade a 800-1000 mg/kg, sinais clínicos a 150 mg/kg e acima</i> PCE/NCE: reduzido a 600 mg/kg (exceto no Controle positivo). Aumento estatisticamente significativo de MNPCE a 600 mg/kg (24 h), dentro do controle histórico <i>Dados do Controle de 60 grupos (24h):</i> <i>0.0-0.9 MN/1000 PCE: 40x (67%)</i> <i>1.0-1.4 MN/1000 PCE: 14x(23%)</i> <i>1.5-2.0 MN/1000 PCE: 3x (5%)</i> <i>2.1-2.5 MN/1000 PCE: 3x (5%)</i>	
Estudo LXIV, (2008)	Glifosato, 98 % i.p., 2x 0, 15.6, 31.3 ou 62.5 mg/kg pc (24 h intervalo). Coleta amostras após 24 h da segunda dose.	<i>Negativo</i> <i>MN/2000 PCE [média (intervalo)],</i> <i>macho/fêmea:</i> <i>Controle: 0.0 (0)/0.0 (0)</i> <i>15.6 mg/kg: 0.0 (0)/0.0 (0)</i>	Não avaliado pela IARC. <i>Pre-teste: Mortalidade a 500-1000 mg/kg, diminuição PCE/NCE a 250 mg/kg e acima</i> Controle histórico: ca. 3 MN/1000 PCE	

		5 animais por sexo e dose. 2000 PCE contados / animal.	31.3 mg/kg: 0.0 (0-1)/0.0 (0) 62.5 mg/kg: 0.6 (0-3)/0.0 (0) Controle positivo: 23.0* (8-30)/12.2* (7-26) *p<0.01 PCE/NCE sem efeito	
	Estudo LXV, (2010)	Glifosato, 98 % i.p., 2x 0, 125, 250 ou 375 mg/kg pc (24 h intervalo), Coleta amostras após 24 h da segunda dose. 5 animais por sexo e dose. 2000 PCE contados / animal.	Negativo MN/2000 PCE [média (intervalo)], macho/fêmea: Controle: 0.4 (0-2)/0.4 (0-1) 125 mg/kg: 0.2 (0-1)/0.0 (0-1) 250 mg/kg: 0.0 (0)/0.0 (0) 375 mg/kg: 0.2 (0-1)/0.0 (0-1) Controle positivo: 8.0* (5-11)/6.4* (5-9) *p<0.01	Não avaliado pela IARC. Sinais clínicos a 125 mg/kg e acima. PCE/NCE: leve aumento a 250 e 375 mg/kg e no controle positivo. Controle histórico: ca. 3 MN/1000 PCE
<b>Micronúcleo em medula óssea de camundongos</b>	Rank et al., (1993)	Glifosato, sal isopropilamina, pureza não especificada, i.p., 1x 0, 100, 150 ou 200 mg/kg pc. Coleta amostras após 24 e 48h. Maioria 5 animais por sexo, dose e amostragem de tempo. 1000 PCE contados / animal.	Negativo % MNPCE (média±SD): 24h, Controle: 0.27±0.11 24h, 100 mg/kg: 0.20±0.13 24h, 150 mg/kg: 0.2±0.13 24h, 200 mg/kg: 0.25±0.10 24h, Controle positivo: 2.53±0.59 48h, 150 mg/kg: 0.13±0.09 48h, 200 mg/kg: 0.12±0.09 PCE/NCE sem efeito	Protocolo consistente com OECD TG 474- original (1983). Lâminas analisadas de forma aleatória
	Bolognesi et al. (1997)	Glifosato, 99.9 %, i.p., 2x 150 mg/kg pc (24 h intervalo),	Positivo. MN/1000 PCE (média±SD): Controle: 0.75±0.46	Desvios do protocolo da OECD 474 (1997): Apenas 3 (4) animais do sexo masculino

		Coleta amostras após 6 ou 24 h da segunda dose. 6 machos nos grupos Controle/positivo. 3000 PCE contados / animal.	<i>6h, 2x 150 mg/kg: 1.4±0.9</i> <i>24h, 2x 150 mg/kg: 2.4±1.5*</i> <i>24h, Controle positivo: 80.0±8.5*</i> <i>* p &lt; 0.05</i> PCE/NCE: 0.73±0.06 no Controle, 0.6±0.05 em 6h, 0.5±0.2 em 24h.	examinado por tempo de amostragem. Tempo de amostragem de controle não indicado. Codificação independente de lâminas não indicado.
	Mañas et al., (2009b)	Glifosato, 96 %, <b>i.p.</b> , 2x 50, 100 or 200 mg/kg pc (24 h intervalo). Coleta amostras após 24 h da segunda dose. 5 animais por dose.	<i>Positivo.</i> <i>MN/1000 Eritrócitos (média±SD):</i> <i>Controle: 3.8 ±0.8</i> <i>2x 50 mg/kg: 3.7±0.5</i> <i>2x 100 mg/kg: 4.2±0.5</i> <i>2x 200 mg/kg: 13.0±3.5*</i> <i>Controle positivo: 19.2±3.9*</i> <i>* P &lt; 0.01</i> <i>PCE/NCE sem efeito</i>	<i>Desvios do protocolo da OECD 474 (1997):</i> Sexo dos animais não descrito. Contagem de 1000 eritrócitos (não PCE) marcados / animal. Codificação independente de lâminas não indicado.
<b>Aberração cromossômica em medula óssea de camundongos</b>	Estudo LXVI, (1994).	Glifosato, 96.8 % <b>oral</b> , 2 x 0-5000 mg/kg pc (24 h intervalo). Coleta amostras após 24 h da segunda dose. 5 animais por sexo. 50 metáfases/animal examinadas.	<i>Negativo.</i> <i>No. de aberrações por 250-250-500 metáfases (macho/fêmea/total):</i> <i>Controle: 12/10/22</i> <i>5000 mg/kg: 10/11/21</i> <i>Controle positivo: 139*/155*/294*</i> <i>*p&lt;0.05</i> <i>Index Mitótico (%)</i> <i>(macho/fêmea/total):</i> <i>Controle: 13.3/17.4/15.3</i> <i>5000 mg/kg: 8.9*/9.5*/9.2*</i> <i>Controle positivo: 14.7/5.5*/10.1*</i>	Não avaliado pela IARC.
<b>Micronúcleo em medula óssea de rato</b>	Estudo LXVII, (2009).	Glifosato, 98.8 % <b>oral</b> , 1x 0, 500, 1000 ou 2000 mg/kg pc. Coleta amostras após 24 e 48h.	<i>Negativo.</i> <i>MN/2000 PCE (média±SD), macho/fêmea:</i> <i>24h, Controle: 1.6±1.1/1.8±0.4</i>	Não avaliado pela IARC. Dados de controle histórico de amostras combinadas de 24, 48 e 72 h: <i>MN/1000 PCE [média e (intervalo):</i>

		5 animais por sexo/ dose e período de tempo. 2000 PCE contagem/ animal.	24h, 500 mg/kg: 1.0±1.2/1.2±1.3 24h, 1000 mg/kg: 0.8±0.4/1.6±0.9 24h, 2000 mg/kg: 1.2±0.8/0.8±0.8 24h, Controle positivo: 30.2±10.5*/24.0±4.9* 48h, Controle: 2.0 ±1.9/2.2 ±1.3 48h, 2000 mg/kg: 1.6±0.9/0.8±0.8 *p<0.05 PCE/NCE: sem efeito	Machos: 1.97 (0.4 – 5.7) Fêmeas: 1.86 (0.4 – 4.7)
--	--	--	--	--

NCE, eritrócitos normocromáticos; MN, micronúcleos; MN PCE%, porcentagem de eritrócitos policromáticos micronucleados; PCE, eritrócitos policromáticos; SD, desvio padrão.

## Resumo outros testes de formação de adutos e quebra de DNA em mamíferos, *in vivo*.

TESTE	REFERÊNCIA	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	RESULTADO	COMENTÁRIO
DNA adutos (8-OHdG por LC/UV), fígado camundongo	Bolognesi et al., 1997	Glifosato, grau analítico (pureza 99.9 %), i.p.; 1 × 300 mg/kg pc; Coleta amostra após 8 e 24 h. 3 machos por grupo, pelo menos 3 repetições experimentais independentes	- (4 h) + (24 h) Controle: aprox. 0.6 moles 8- OHdG/105 moles dG 4 h: aprox. 0.9 moles 8- OHdG/105 moles dG 24 h: aprox. 3.6 moles 8- OHdG/105 moles dG*	Teste não BPL.
DNA adutos (8-OHdG por LC/UV), rim camundongo			- (4 & 24 h) Controle: aprox. 0.6 moles 8- OHdG/105 moles dG 4 h: aprox. 0.5 moles 8- OHdG/105 moles dG 24 h: aprox. 0.4 moles 8- OHdG/105 moles dG*	
DNA adutos ( <sup>32</sup> P-DNA Pós marcação), fígado camundongo	Peluso et al., 1998	Glifosato, sal isopropilamônio, i.p.i. ; 1 × 0, 130 ou 270 mg / kg pc; Coleta amostra após 24 h. 6 animais no grupo controle, 6 em grupo de dose baixa e 3 em dose alta. Sexo dos animais não claramente identificado.	Negativo	
DNA adutos ( <sup>32</sup> P-DNA Pós marcação), rim camundongo				
DNA quebra de fita (ensaio de eluição alcalina), fígado de camundongo	Bolognesi et al., 1997	Glifosato, grau analítico (pureza 99.9 %), i.p.; 1 × 300 mg/kg pc; Coleta amostra após 8 e 24 h. 3 machos por grupo, pelo menos 4 repetições experimentais independentes	- (4 h) + (24 h) Controle: aprox. 15 *10 <sup>3</sup> /mL 4 h: aprox. 47 *10 <sup>3</sup> /mL* 24 h: aprox. 20 *10 <sup>3</sup> /mL	
DNA quebra de fita (ensaio de eluição alcalina), rim de camundongo			- (4 h) + (24 h) Controle: aprox. 17 *10 <sup>3</sup> /mL 4 h: aprox. 55 *10 <sup>3</sup> /mL* 24 h: aprox. 25 *10 <sup>3</sup> /mL	
Ensaio do cometa,	Manas et al.,	Glifosato (96%)	Positivo	

<b>células sanguíneas de camundongo</b>	2013	Água de beber, 14 dias, 0, 40 ou 400 mg/kg pc por dia; coleta amostra final do período experimental.	Tail moment (media ± SEM): Controle: 2.98±1.08 40 mg/kg pc por dia: 8.54***±7.82 400 mg/kg pc por dia: 9.06***±5.15	
<b>Ensaio do cometa, células fígado de camundongo</b>		6 animais por grupo, Sexo dos animais não claramente identificado.	Positivo Tail moment (media ± SEM): Controle: 7.14±3.41 40 mg/kg pc por dia: 7.92*±3.99 400 mg/kg bw pc por dia: 20.59***±15.47	

8-OHdG, -deoxiguanosina 8-hidroxi-2'; dG, desoxiguanosina; SEM, erro padrão da média.

### Resumo testes mutagênicos de células germinativas em mamíferos, *in vivo*.

TESTE	REFERÊNCIA	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	RESULTADO	COMENTÁRIO
<b>Teste letal dominante, camundongo</b>	U.S.EPA, (1980)	Glifosato, 98.7 % oral, 1x 0, 200, 800 ou 2000 mg/kg pc 8 períodos sucessivos de uma semana de acasalamento (1 macho/2 fêmeas).	Negativo. Nenhum aumento na perda pós-implantação em grupos tratados. Controle Positivo: aumento estatisticamente significativo da perda pós-implantação.	Apenas 10 machos por grupo. Perda pós-implantação avaliada após o acasalamento de fêmeas não tratadas com ratos machos tratados com glifosato.
<b>Teste letal dominante, rato</b>	Estudo XVI, (1992)	Glifosato, 96.8 % oral, 1x 0, 200, 800 ou 2000 mg/kg pc 10 períodos sucessivos de uma semana de acasalamento (1 macho/2 fêmeas).		Não avaliado pela IARC. 30 machos por grupo (controle: 10 machos, controle positivo: 2 X 5 machos). Perda pós-implantação avaliada após o acasalamento de fêmeas não tratadas com ratos machos tratados com glifosato.

## Resumo de incidência de tumores selecionados em camundongos machos da linhagem CD-1.

Incidência Controle Histórico		Incidência neoplasias/número de animais examinados (%)																			
Dose (mg/kg pc/dia)	Média (intervalo)	0	0	0	0	0	15	71	100	150	157	165	234	300	810	814	838	1000	1453	4348	4841
Estudo		XXII, 1983	XXVI, 1993	Sugi-moto, 1997	XXIV, 2001	XXVII, 2009	XXIV, 2001	XXVIII, 2009	XXVI, 1993	XXIV, 2001	XXII, 1983	Sugi-moto, 1997	XXVIII, 2009	XXVI, 1993	XXVIII, 2009	XXII, 1983	Sugi-moto, 1997	XXVI, 1993	XXIV, 2001	Sugi-moto, 1997	XXII, 1983
Duração (meses)	(18-24)	24	24	18	18	18	18	18	24	18	24	18	18	24	18	24	18	24	18	18	24
Sobreviventes	(18.3-94%)	20/50 (40%)	26/50 (52%)	26/50 (52%)	22/50 (44%)	39/51 (76%)	20/50 (40%)	41/51 (80%)	25/50 (50%)	22/50 (44%)	16/50 (32%)	34/50 (68%)	39/51 (76%)	29/50 (58%)	35/51 (69%)	17/50 (34%)	27/50 (54%)	25/50 (50%)	27/50 (54%)	29/50 (58%)	26/50 (52%)
Tumor renal*	0.43% (3.43-6.0%)	1/49 (2.0%)	2/50 (4%)	0/50	0/50	0/51	0/50	0/51	2/50 (4%)	1/50 (2%)	0/49	0/50	0/51	0/50	0/51	1/50 (2%)	0/50	0/50	2/50 (4%)	2/50 (4%)	3/50 (6%)
Linfoma maligno	4.09% (1.45-21.7%)	2/48 (4%)	4/50 (8%)	2/50 (4%)	10/50 (20%)	0/51	15/50 (30%)	1/51 (2%)	2/50 (4%)	16/50 (32%)	5/49 (10%)	2/50 (4%)	2/51 (4%)	1/50 (2%)	5/51 (10%)	4/50 (8%)	0/50	6/50 (12%)	19/50 (38%)	6/50 (12%)	2/49 (4%)
Hemangio-sarcoma	1.13% (1.67-12.0%)	0/48	0/50	0/50		0/51		0/51	0/51		0/49	0/50	0/51	0/50	0/51	1/50 (2%)	0/50	4/50 (8%)		2/50 (4%)	0/49

Adaptado de Germany (2015); Tumor renal: combinação de adenoma e carcinoma; Média (% do total); Intervalo (mínimo e máximo em % encontrada). Dados de controle histórico de camundongos Crl: CD-1 a partir de 51 estudos de pelos menos 78 semanas, iniciados entre 1987 e 1996 (Anonym II 2000); Outro estudo de carcinogenicidade conduzido em 2009 e submetido pela Nufarm, com camundongos CD-1 e exposição de 18 meses (glifosato 95.7%; dieta 71/98, 234/299, 810/1081 mg/kg pc/dia em m/f) não reportou resposta carcinogênica relevante.

**Resumo da incidência de Linfoma Maligno em estudos de longa duração com diferentes linhagens de camundongos.**

ESTUDO, LINHAGEM		MACHOS				FÊMEAS			
<b>Estudo XXVIII (2009), Crl:CD-1 (ICR) BR</b>	Dose ppm (mg/kg pc/ dia)	0	500 (71)	1500 (234)	5000 (810)	0	500 (98)	1500 (299)	5000 (1081)
(pureza glifosato 95.7%)	N° animais afetados	0/51	1/51 (2%)	2/51 (4%)	5/51 (10%)	11/51 (22%)	8/51 (16%)	10/51 (20%)	11/51 (22%)
<b>Estudo XXIV (2001), Swiss albino HsdOLA:MF1</b>	Dose ppm (mg/kg pc/ dia)	0	100 (14.5)	1000 (149.7)	10000 (1453)	0	100 (15.0)	1000 (151.2)	10000 (1466.8)
(pureza glifosato >95.14%)	N° animais afetados	10/50 (20%)	15/50 (30%)	16/50 (32%)	19/50* (38%)	18/50 (36%)	20/50 (40%)	19/50 (38%)	25/50* (50%)
<b>Sugimoto (1997), Crl:CD-1 (ICR)</b>	Dose ppm (mg/kg pc/ dia)	0	1600 (165)	8000 (838)	40000 (4348)	0	1600 (153)	8000 (787)	40000 (4116)

(pureza glifosato 94.61%)	N° animais afetados	2/50 (4%)	2/50 (4%)	0/50	6/50 (12%)	6/50 (12%)	4/50 (8%)	8/50 (16%)	7/50 (14%)
<b>Estudo XXVI (1993), CD-1 (sem especificação)</b>	Dose mg/kg pc/ dia	0	100	300	1000	0	100	300	1000
(pureza glifosato 98.6%)	N° animais afetados	4/50 (8%)	2/50 (4%)	1/50 (2%)	6/50 (12%)	14/50 (28%)	12/50 (24%)	9/50 (18%)	13/50 (26%)

Adaptado de Germany (2015); \*Aumento estatisticamente significativo ( $p < 0.05$ ) reportado pelos autores do estudo utilizando Teste Z. Para as fêmeas, utilizou-se a porcentagem e não o número total de animais afetados.

## Resumo de estudos relevantes de carcinogênese em ratos.

REFERÊNCIA	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	RESULTADO (relacionado à carcinogênese)	COMENTÁRIO
<b>Stout e Ruecker, (1990)</b>	Glifosato, 96.5% Estudo toxicidade crônica/ carcinogenicidade; 2 anos; Linhagem Sprague-Dawley; dieta 0, 2000, 8000, 20000 ppm (eq. a 89/113, 362/457, 940/1183 mg/kg pc/d em m/f)	<p><i>Machos:</i> <u>Pâncreas (ilhotas):</u> Adenoma: 1/43 (2%), 8/45 (18%; P = 0.018), 5/49 (10%), 7/48 (15%; P = 0.042) Carcinoma: 1/43 (2%), 0/45 (0%), 0/49 (0%), 0/48 (0%) Adenoma ou carcinoma (combinados): 2/43 (5%), 8/45 (18%), 5/49 (10%), 7/48 (15%)</p> <p><u>Fígado:</u> Adenoma: 2/44 (5%; P para tendência = 0.016), 2/45 (4%), 3/49 (6%), 7/48 (15%) Carcinoma: 3/44 (7%); 2/45 (4%), 1/49 (2%), 2/48 (4%) Adenoma ou carcinoma (combinados): 5/44 (11%), 4/45 (9%), 4/49 (8%), 9/48 (19%)</p> <p><i>Fêmeas:</i> <u>Pâncreas (ilhotas):</u> Adenoma: 5/60 (8%), 1/60 (2%), 4/60 (7%), 0/59 Carcinoma: 0/60, 0/60, 0/60, 0/59 Adenoma ou carcinoma (combinados): 5/60 (8%), 1/60 (2%), 4/60 (7%), 0/59</p> <p><u>Tireóide:</u> Adenoma células C: 2/60 (3%), 2/60 (3%), 6/60 (10%), 6/60 (10%)</p>	Sem significativo aumento na incidência de neoplasia em qualquer um dos grupos de animais tratados. Diferente da avaliação da IARC pelo método estatístico utilizado.
<b>Estudo XXV, (1981)</b>	Glifosato, 96.5% Estudo toxicidade crônica/ carcinogenicidade; 26	<p><i>Machos:</i> <u>Pâncreas (ilhotas):</u> Adenoma: 0/50 (0%), 5/49* (10%), 2/50 (4%), 2/50 (4%)</p>	Sem significativo aumento na incidência de neoplasia em qualquer um dos grupos de

	meses; Linhagem Sprague-Dawley; dieta 0, 3 / 3,4, 10,3 / 11,2, 31,5 / 34 mg / kg pc/d em m/f (níveis dietéticos ajustados de acordo com os valores medidos na 1ª semana)	Carcinoma: 0/50 (0%), 0/49 (0%), 0/50 (0%), 1/50 (2%) Adenoma ou carcinoma (combinados): 0/50 (0%), 5/49 (10%), 2/50 (4%), 3/50 (6%) <u>Fêmeas:</u> <u>Pâncreas (ilhotas):</u> Adenoma: 2/50 (4%), 1/50 (2%), 1/50 (2%), 0/50 (0%) Carcinoma: 0/50 (0%), 1/50 (2%), 1/50 (2%), 1/50 (2%) Adenoma ou carcinoma (combinados): 2/50 (10%), 2/50 (2%), 2/50 (74%), 1/50 (2%)	animais tratados. Discordância com a IARC na interpretação do aumento significativo da adenoma de células da ilhota pancreática no grupo de dose mais baixa em machos
<b>Estudo XVII, (1993)</b>	Glifosato, 98.9% Estudo toxicidade crônica/carcinogenicidade; 2 anos; Linhagem Sprague-Dawley; dieta 0, 10, 100, 300, 1000 mg/kg pc/d	Sem resposta cancerígena relevante relatada	
<b>Estudo XLVIII, (1996)</b>	Glifosato, 96.8% Estudo toxicidade crônica/carcinogenicidade; 2 anos; Linhagem Wistar, dieta 0, 100, 1000, 10000 ppm (6.3/8.6, 59.4/88.5, 595.2/886 mg/kg pc/d em m/f)		Não avaliado pela IARC
<b>Estudo XXX, (2009)</b>	Glifosato, 95.7% Estudo toxicidade crônica/carcinogenicidade; 2 anos; Linhagem Wistar, dieta 0, 71, 234, 810 300, 1000 mg/kg pc/d		Não avaliado pela IARC
<b>Estudo XXXI, (2001)</b>	Glifosato, 95.7% Estudo toxicidade crônica/carcinogenicidade; 2 anos;		

		Linhagem Wistar, dieta 0, 2000, 6000, 20000 ppm (eq a 121/145, 361/437, 1214/1498 mg/kg pc/d em m/f)	
<b>Estudo XVIII, (1997)</b>		Glifosato, 97.6% Estudo toxicidade crônica/ carcinogenicidade; 2 anos; Linhagem Sprague-Dawley; dieta 0, 3000, 10000, 30000 ppm (eq a 104/115, 354/393, 1127/1247 mg/kg pc/d em m/f)	Não avaliado pela IARC
<b>Estudo XLVII, (1996)</b>		Glifosato, 95.6% Estudo toxicidade crônica; 12 meses; Linhagem derivada Wistar, dieta 0, 2000, 8000, 20000 ppm (eq. a 141/167, 560/671, 1409/1664 mg/kg pc/d em m/f)	

## V. REFERÊNCIAS

---

Acquavella JF, Alexander BH, Mandel JS, Gustin C, Baker B, Chapman P, et al. (2004) Glyphosate monitoring for farmers and their families: results from the farm family exposure study. *Environ Health Perspect* 112; 321-326.

Alavanja, M. C. R.; Bonner, M. R. (2012). Occupational pesticide exposures and cancer risk: a review. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 2012, 15:238–263.

Alavanja, M.C., Samanic, C., Dosemeci, M., et al. (2003). Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort. *Am J Epidemiol*, 2003,157 (9): 800-814.

Alavanja, M.C.R.; Sandler, D.P.; McMaster, S.B. et al. (1996). The agricultural health study. *Environmental Health Perspectives*, 1996, 104 (4): 362-369. doi: 10.1289/ehp.96104362.

Alvarez-Moya, C., Reynoso Silva, M., Valdez Ramírez, C., et al.(2014). Comparison of the in vivo and in vitro genotoxicity of glyphosate isopropylamine salt in three different organisms. *Genetics and molecular biology*, 2014, 37(1), 105-110.

Andreotti, G., Freeman, L.E.B., Hou, L. et al. (2009). Agricultural pesticide use and pancreatic cancer risk in the Agricultural Health Study Cohort. *International Journal of Cancer*, 2009, 124: 2495-2500.

Anonym I (2015). Lesion-related incidence data. Não publicado. Submetido por "*Registry of Industrial Toxicology Animal-data*" (RITA) database (Fraunhofer ITEM Institute, Hannover, Germany; <http://reni.item.fraunhofer.de/reni>), ao consórcio de registrantes de glifosato da Europa, a "Glyphosate Task Force, (GTF)".

Anonym II (2000). Historical control data for Crl:CD-1 (ICR)BR mice. Não publicado. Submetido por "*Registry of Industrial Toxicology Animal-data*" (RITA) database (Fraunhofer ITEM Institute, Hannover, Germany; <http://reni.item.fraunhofer.de/reni>), ao consórcio de registrantes de glifosato da Europa, a "Glyphosate Task Force, (GTF)".

Akanuma, M. (1995). HR-001: DNA Repair Test (Rec-Assay). Não publicado. Submetido pela empresa Alschu-Chemie GmbH.

Astiz, M., de Alaniz, M.J.T., Marra, C.A. (2009). Antioxidant defense system in rats simultaneously intoxicated with agrochemicals. *Environmental Toxicology and Pharmacology* vol.28, 3 (2009) 465-473.

Autrália (2013). A review of the earth open source (eos) report “roundup and birth defects: is the public being kept in the dark?”. This Report was prepared for the Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA) by Scitox Assessment Services, Canberra, ACT, Australia, July, 2013, 98pp.

Auletta, C. S. (1983). A Dermal Sensitization Study in Guinea Pigs—Test Material: Glyphosate. Não publicado. Bio/Dynamics Inc., East Millstone, NJ.

Bababunmi, E.A.; Olorunsogo, O.O.; Bassir, O. (1979). The uncoupling effect of N-(phosphonomethyl)glycine on isolated rat liver mitochondria. *Biochem Pharmacol.* 1979. 28(6):925-7.

Blakley, B.R. (1997). Effect of Roundup and Tordon 202C herbicides on antibody production in mice. *Vet Hum Toxicol*, 1997, 39(4):204–6.

Bakke, J. P. (1991). Evaluation of the Potential of AMPA to Induce Unscheduled DNA Synthesis in the in Vitro Hepatocyte DNA Repair Assay Using the Male F344 Rat. Não publicado, de SRI International, Menlo Park, CA.

Band, P.R., Abanto, Z., Bert, J. et al. (2011). Prostate Cancer Risk and Exposure to Pesticides in British Columbia Farmers. *Prostate*, 2011, 71 (2): 168-183.

Benachour, N., Seralini, G.E. (2009). Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. *Chem Res Toxicol* 22, 97-105.

Benachour, N., Sipahutar, H., Moslerni, S. et al. (2007). Time- and dose-dependent effects of roundup on human embryonic and placental cells. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 53: 126-133.

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung - The Federal Institute for Risk Assessment, Germany) (2010). Guidance Document for Health Assessments. BfR, Unit Clearing, EFSA Focal Point and Committees, 2010, 32pp. [http://www.bfr.bund.de/cm/364/guidance\\_document\\_for\\_health\\_assessments.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/364/guidance_document_for_health_assessments.pdf).

Brewster, D.W., Warren, J., Hopkins, W.E., (1991). Metabolism of glyphosate in Sprague-Dawley Rats: Tissue Distribution, identification and Quantitation of Glyphosate-Derived Material following a single Oral Dose - *Fundamental and Applied toxicology*, Volume 17, Pages 43 to 51,.

Blair, A.; Freeman, L.B. (2009). Epidemiologic Studies in Agricultural Populations: Observations and Future Directions, *Journal of Agromedicine*, 14, 125-131.

Bodden, R. M. (1988). Metabolism Study of Synthetic <sup>13</sup>C/<sup>14</sup>C-Labeled Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Laying Hens. Não publicado, Hazleton Laboratories America, Inc., Madison, WI.

Bolognesi, C., Bonatti, S., Degan, P., et al. (1997). Genotoxic activity of glyphosate and its technical formulation Roundup. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 1957–1962.

Bolognesi, C.; Bonatti, S.; Degan, P. et al. (1997). Genotoxic activity of Glyphosate and its technical formulation Roundup. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 1957-1962.

Brammer, A. (1996). Glyphosate Acid: 1 Year Dietary Toxicity Study in Dogs. Report No.: CTL/P/5079. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

BRASIL (1989). Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos das embalagens, o registro, a

classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 12 de julho de 1989.

BRASIL (1992). Portaria nº 3, 16 de janeiro de 1992. Ratifica os termos das "diretrizes e orientações referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins - nº 1, de 09/12/1991". Diário Oficial da União, Brasília, 04 de fevereiro de 1992.

BRASIL (2002). Decreto nº 4074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 8 de janeiro de 2002.

BRASIL. Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 20 de junho de 2008. Dispõe sobre o estabelecimento das impurezas toxicológica e ambientalmente relevantes a serem pesquisadas nos estudos de cinco bateladas dos produtos técnicos a base dos ingredientes ativos. Diário Oficial da União, nº 120, Brasília, 25 de junho de 2008.

Brewster, D., Warren, J., and Hopkins, W., II (1991). Metabolism of glyphosate in Sprague–Dawley rats: Tissue distribution, identification, and quantification of glyphosate-derived materials following a single oral dose. *Fundam. Appl. Toxicol.* **17**, 43–51.

Brown, L.M.; Blair, A.; Gibson, R. et al. (1990). Pesticide exposures and other agricultural risk factors for leukemia among men in Iowa and Minnesota. *Cancer research*, 1990, 6586-6591.

Callander, R.D. 1988 Aminomethyl Phosphonic Acid: An Evaluation of Mutagenic Potential Using *S. Typhimurium* and *E. Coli*. ICI Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, UK. Submetido pela empresa Syngenta.

Camargo, J.L.V. (2009). Identificação do Potencial Cancerígeno, Capítulo V. In: Bases Científicas para a Avaliação da Toxicidade de Agrotóxicos. Guidance for Pesticides Toxicity Evaluation. Eds: Corrêa, C.L. et al. São Paulo: ILSI Brasil - International Life Science Institute, 2009, 140p, 255pp.

Cantor, K.P.; Blair, A.; Everett, G. et al. (1992). Pesticides and Other Agricultural Risk Factors for Non-Hodgkin's Lymphoma among Men in Iowa and Minnesota. *Cancer Research*, 1992, 52: 2447-2455.

Carreon, T., Butler, M.A., Ruder, A.M. et al. (2005). Gliomas and farm pesticide exposure in women: The Upper Midwest Health Study. *Environmental Health Perspectives*, 2005, vol.113, 5: 546-551.

Chaufan, G.; Coalova, I.; Molina, M. (2014). Glyphosate commercial formulation causes cytotoxicity, oxidative effects, and apoptosis on human cells: Differences with its active ingredient. *International Journal of Toxicology* 2014, Vol. 33(1) 29-38.

Chruscielska, K., Brzezinski J., Kalthorn, D., Lewandowska U. (2000). Glyphosate: Evaluation of chronic activity and possible far - reaching effects - Part 3. Prenatal toxicity. *Pestycydy*, 2000, (3-4): 27-31.

Clay, P. (1996). Glyphosate acid: L5178 TK+/- mouse lymphoma gene mutation assay. CTL/P/4991. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Clements, C., Ralph, S., e Petras, M. (1997). Genotoxicity of select herbicides in *Rana catesbeiana* tadpoles using the alkaline singlecell gel DNA electrophoresis (Comet) assay. *Environ. Mol. Mutagen.* **29**, 277-288.

Coalova, I.; Ríos de Molina, M. C.; Chaufan, G. (2014). Influence of the spray adjuvant on the toxicity effects of a Glyphosate formulation *Toxicology in Vitro* 28 (2014) 1306-1311.

Cocco, P.; Satta, G. (2014). Lymphoma risk and occupational exposure to pesticides: results of the Epilymph study. *Occup Environ Med* 2014;0:1-7.

Coles, L.J., Thomas, O.N., Bartlett, A.J., Brooks, P.N. (1996). Technical Glyphosate: Ninety Day Sub-Chronic Oral (Dietary) Toxicity Study In The Rat. Project No.: 434/016. Não publicado.

Colvin, L. B., e Miller, J. A. (1973). *Residue and Metabolism— The Gross Distribution of N-Phosphonylmethylglycine-14C in rabbits*. Submetido pela empresa Monsanto.

Colvin, L. B., Moran, S. J., and Miller, J. A. (1973). The Metabolism of Aminomethylphosphonic Acid-14C in the Laboratory Rat. Submetido pela empresa Monsanto.

Culbreth, M. E.; Harrill, J. A.; Freudenrich, T. M. et al. (2012). Comparison of chemical-induced changes in proliferation and apoptosis in human and mouse neuroprogenitor cells. *NeuroToxicology* 33 (2012) 1499–1510.

Dallegrave, E. Mantese, F. D. Coelho, R. S. et al.. (2003): The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup® in Wistar rats. *Toxicology letters*, 2003, 142, 45-52.

Dallegrave, E. Mantese, F. D. Oliveira, R. T. Andrade, A. J. M. et al. (2007): Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Archives of Toxicology*, 2007, 81, 665-673.

Davies, D.J. (1996). Glyphosate acid: Excretion and tissue retention of a single oral dose (10 mg/kg) in the rat. Não publicado, Report No CLT/P/4940. Submetido pela empresa Syngenta.

De Marco, A., De Simone, C., Raglione, M., et al.. (1992). Importance of the type of soil for the induction of micronuclei and the growth of primary roots of *Vicia faba* treated with the herbicides atrazine, glyphosate and maleic hydrazide. *Mutat. Res.* **279**, 9–13.

De Roos A. J., Zahm S. H., Cantor K. P et al. (2003). Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. *Occupational and Environmental Medicine*, 2003,.60, (9): E11.

De Roos A. J., Blair A., Rusiecki J. A., et al., (2005a). Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the agricultural health study. *Environmental Health Perspectives*, 2005, 113 (1): 49-54.

De Roos, A.J.; Svec, M.A.; Blair, A. et al. (2005b). Glyphosate results revisited: De Roos et al. respond. *Environ Health Perspect*, 2005, 113(6):A366–7. doi:10.1289/ehp.113-a366.

Dennis, L.K.; Lynch, C.F.; Sandler, D.P.; Alavanja, M.C. (2010). Pesticide use and cutaneous melanoma in pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect*, 2010, 118(6):812–7.

Dimitrov, B.D., Gadeva, P.G., Benova, D.K., Bineva, M.V. (2006). Comparative genotoxicity of the herbicides Roundup, Stomp and Reglone in plant and mammalian test systems. *Mutagenesis*, 2006, 21, 375-382.

ECHA (European Chemicals Agency), 2013. Guidance on the Application of the CLP Criteria. Guidance to Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging (CLP) of substances and mixtures. Version 4.0. ECHA-13-G-10- EN. Helsinki.

ECHA (European Chemicals Agency), 2015. Guidance on the Application of the CLP Criteria. Guidance to Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging (CLP) of substances and mixtures. Version 4.1. ECHA-15-G-05- EN. Helsinki.

Edler, L., Hart, A., Greaves, P. et al. (2014). Selection of appropriate tumour data sets for Benchmark Dose Modelling (BMD) and derivation of a Margin of Exposure (MoE) for substances that are genotoxic and carcinogenic: considerations of biological relevance of tumour type, data quality and uncertainty assessment. *Food Chem Toxicol*. 2014, 70:264-89.

EFSA (European Food Safety Authority), 2010. Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making. *EFSA Journal* 2010; 8(6):1637. [http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/1637.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/1637.pdf) .

EFSA (European Food Safety Authority), 2011. Submission of scientific peer reviewed open literature for the approval of pesticide active substances under Regulation (EC) No 1107/2009 (OJ L 309, 24.11.2009, p. 1-50). EFSA Journal 2011;9(2):2092, 49 pp.. doi:10.2903/j.efsa.2011.2092.

EFSA (European Food Safety Authority), 2015a. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate. EFSA Journal 2015;13(issue):NNNN, 35 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.NNNN

EFSA (European Food Safety Authority), 2015b. EFSA explains the carcinogenicity assessment of glyphosate. Available at [http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/4302\\_glyphosate\\_complementary.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/4302_glyphosate_complementary.pdf).

EFSA (European Food Safety Authority), 2015c. Dewhurst, I., Koshy, L., Samuels, S., Shillaker, D. Retrospective analysis of the immunotoxic effects of plant protection products as reported in the Draft Assessment Reports for their peer review at EU level. EFSA supporting publication, 2015:EN-782, 104 pp.

Elie-Caille, C., Heu, C., Guyon, C., Nicod, L (2010). Morphological damages of a glyphosate-treated human keratinocyte cell line revealed by a micro- to nanoscale microscopic investigation. Cell Biol Toxicol vol.26, 4 (2010) 331-339.

El-Zaemey, S.; Heyworth, J. (2013). Noticing pesticide spray drift from agricultural pesticide application areas and breast cancer: a case-control study. Aust NZ J Public Health. 2013, 37(6):547-55.

Engel, L.S., Hill, D.A., Hoppin, J.A. et al. (2005). Pesticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the agricultural health study. American Journal of Epidemiology, 2005, vol.161, 2: 121-135.

Eriksson, M.; Hardell, L.; Carlberg, M.; Akerman, M. (2008). Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis, Int J Cancer, 123, 1657- 1663.

Estes, F. L. (1979). 90-Day Subacute Rat Toxicity Study. Não publicado. Submetido por International Research and Development Corporation, Mattawan, Michigan.

Estudo I (1987). 90-day study of glyphosate administered in feed to Sprague-Dawley rats. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto.

Estudo II (1991). Glyphosate: 13-week dietary toxicity study in rats. Não publicado. Submetido pela empresa Cheminova.

Estudo III (1993). 90 day range finding study of glyphosate in rats. Não publicado. Submetido pela empresa Alkaloida Europe

Estudo IV (1995). HR-001: 13-week Subchronic Oral Toxicity Study in Rats. Report No.: 94-0138. Não publicado. Submetido pela empresa Arysta LifeScience.

Estudo V (1995), HR-001: 13-week Subchronic Oral Toxicity Study in Mice. Report No.: 94-0136. Não publicado. Submetido pela empresa Arysta LifeScience.

Estudo VI (1996). First Revision To Glyphosate Acid: 90 Day Feeding Study In Rats. Report No.: CTL/P/1599. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Estudo VII (1990). Glyphosate: 52-week oral toxicity study in dogs. Não publicado. Submetido pela empresa Cheminova/ Monsanto.

Estudo VIII (1996). HR-001: 13-week Subchronic Oral Toxicity Study in Dogs. Report No.: 94-0158. Não publicado. Submetido pela empresa Arysta LifeScience.

Estudo IX (1996). First Revision To Glyphosate Acid: 90 Day Oral Toxicity Study in Dogs. Report No.: /P/1802. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Estudo X (1997). HR-001: 12-Month Oral Chronic Toxicity Study in Dogs. Study No.: IET 94-0157. Não publicado. Submetido pela empresa Arysta LifeScience.

Estudo XI (1999). Subchronic (90 Day) Oral Toxicity Study With Glyphosate Technical In Beagle Dogs AND Test compound stability in experimental diet (dog feed). Study No.: 1816 AND 1817-R.FST. Não publicado. Submetido pela empresa ADAMA.

Estudo XII (2007). Glyphosate Technical: 13-Week Toxicity Study By Oral Route (Capsule) In Beagle Dogs. Study No.: 29646 TCC. Não publicado. Submetido pela empresa Nufarm GmbH & Co. KG.

Estudo XIII (2007). Glyphosate technical: 52-week Toxicity Study by Oral Route (Capsule)in Beagle Dogs. Study No.: 29647 TCC. Não publicado. Submetido pela empresa Nufarm GmbH & Co. KG.

Estudo XIV (1994). GGlyphosate technical (Alkaloida, Tiszavasvári): Repeated dose twenty-eight- Day dermal toxicity study in rabbits. Não publicado. Submetido pela empresa Montedison (Deutschland) Chemie Handels GmbH.

Estudo XV (1987). Estudo de toxicocinética do glifosato em ratos Sprague- Dawley por via oral (10 mg/kg pc/dia) e intraperitoneal (1150 mg/kg).. Não publicado. Dossiê de registro submetido à ANVISA pela empresa FMC QUÍMICA DO BRASIL LTDA.

Estudo XVI (1992). Glyphosate technical (FSG 03090 H/05, March 1990): Dominant lethal test in wistar rats. Não publicado. Submetido pela empresa ADAMA Agan Ltd.

Estudo XVII (1993). Glyphosate: 104 week combined chronic feeding/oncogenicity study in rats with 52 week interim kill (results after 104 weeks). Não publicado. Submetido pela empresa Cheminova.

Estudo XVIII (1997). HR-001: 24-Month Oral Chronic Toxicity and Oncogenicity Study in Rats, Vol. 1 (Seite 1- 500). Não publicado. Submetido pela empresa Alschu-Chemie GmbH.

Estudo XIX (1997). HR-001: 24-Month Oral Chronic Toxicity and Oncogenicity Study in Rats, Vol. 2 (Seite 501- 1000). Não publicado. Submetido pela empresa Alschu-Chemie GmbH.

Estudo XX (1997). HR-001: 24-Month Oral Chronic Toxicity and Oncogenicity Study in Rats, Vol. 3 (Seite 1001- 1500). Não publicado. Submetido pela empresa Alschu-Chemie GmbH.

Estudo XXI (1997). HR-001: 24-Month Oral Chronic Toxicity and Oncogenicity Study in Rats, Vol. 4 (Seite 1501- 2051). Não publicado. Submetido pela empresa Alschu-Chemie GmbH.

Estudo XXII (1983). A chronic feeding study of glyphosate (Roundup technical) in mice. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Agricultural Company, St. Louis, Missouri, USA.

Estudo XXIII (1997). HR-001: 18-Month Oral Oncogenicity Study in Mice. Study No.: 94-0151. Não publicado. Submetido pela empresa Arysta LifeScience.

Estudo XXIV (2001). Carcinogenicity Study with Glyphosate Technical in Swiss Albino Mice. Study No.: TOXI: 1559. Não publicado. Submetido pela empresa ADAMA Agan Ltd.

Estudo XXV (1981). A Lifetime Feeding Study of Glyphosate (ROUNDUP Technical) in Rats. Study/Project No.: 77-2062. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Agricultural Company, St. Louis, Missouri, USA.

Estudo XXVI (1993). Glyphosate: 104 week dietary carcinogenicity study in mice. Não publicado. Submetido pela empresa Cheminova.

Estudo XXVII (1990). Chronic study of Glyphosate administered in feed to albino rats. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Agricultural Company, St. Louis, Missouri, USA.

Estudo XXVIII (2009). Glyphosate Technical: Dietary carcinogenicity study in the mouse. Não publicado. Submetido pela empresa Nufarm GmbH & Co. KG.

Estudo XXX (2009). Glyphosate Technical: Dietary combined chronic toxicity / carcinogenicity study in the rat. Não publicado. Submetido pela empresa Nufarm GmbH & Co. KG.

Estudo XXXI (2001). Glyphosate Acid: Two Year Dietary Toxicity and Oncogenicity Study in Rats. Study No.: CTL/PR1111. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Estudo XXXII (1982). Acute inhalation toxicity of Roundup formulation to male and female Sprague-Dawley rats - incl. Amendment No. 1. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Agricultural Company, St. Louis, Missouri, USA.

Estudo XXXIII (1983). Four-week study of 33-1/3% use-dilution of Roundup in water administered to male and female Sprague-Dawley rats by inhalation. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Agricultural Company, St. Louis, Missouri, USA.

Estudo XXXIV (1997). HR-001: A two-generation reproduction study in rats. Não publicado. Submetido pela empresa Alschu-Chemie GmbH.

Estudo XXXV (2000). Glyphosate acid: Multigeneration reproduction toxicity study in rats. CTL/P/6332. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta, Monsanto.

Estudo XXXVI (2007). Glyphosate technical: Dietary Two Generation Reproduction Study in the Rat. Não publicado. Submetido pela empresa Nufarm GmbH & Co. KG.

Estudo XXXVII (1991). The effect of glyphosate on pregnancy of the rat (incorporates preliminary investigation). Não publicado. Submetido pela empresa Cheminova.

Estudo XXXVIII (1995). HR-001: Teratogenicity Study in Rats. Não publicado. Submetido pela empresa Alschu-Chemie GmbH.

Estudo XXXIX (1991). The Effect of Glyphosate on Pregnancy of the Rabbit. Study/Project No.: CHV 45 & 39 & 40/901303. Não publicado. Submetido pela empresa Cheminova.

Estudo XL (1996). Glyphosate technical: Oral gavage teratology study in the rabbit. Não publicado. Submetido pela empresa Nufarm GmbH & Co. KG.

Estudo XLI (1993). Teratogenicity study in rabbits - Tests compound: Glyphosate technical. Não publicado. Submetido pela empresa ADAMA Agan Ltda.

Estudo XLII (1996). Glyphosate acid: Developmental toxicity study in the rabbit. CTL/P/5009. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Estudo XLIII (1980). Technical Glyphosate: Teratology study in rabbits. Report No.: IR-79-016. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Agricultural Company, St. Louis, Missouri, USA.

Estudo XLIV (1980). Technical Glyphosate: Teratology study in rabbits. Report No.: IR-79-018. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Agricultural Company, St. Louis, Missouri, USA.

Estudo XLV (1991). Glyphosate techn. (FSG 03090 H/05 March 1990): Teratogenicity study in Wistar rats. Não publicado. Submetido pela empresa ADAMA Agan Ltda.

Estudo XLVI (1995). HR-001: A Teratogenicity Study in Rabbits. Não publicado. Submetido pela empresa Alschu-Chemie GmbH.

Estudo XLVII (1996). Glyphosate acid: One year dietary toxicity study in rats. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Estudo XLVIII (1996). Combined chronic toxicity and carcinogenicity study with Glyphosate technical in Wistar rats. Não publicado. Submetido pela empresa ADAMA.

Estudo XLIX (1993). Glyphosate technical (FSG 03090 H/05 March 1990): Mutagenicity-micronucleus test in swiss albino mice. Não publicado. Submetido pela empresa ADAMA.

Estudo LX (1996). Glyphosate Acid: Mouse Bone Marrow Micronucleus Test. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Estudo LXI (2008). Glyphosate Technical - Micronucleus Assay in Bone Marrow Cells of the Mouse. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Estudo LXII (1999). A micronucleus study in mice for glyphosate technical. Não publicado. Submetido pela empresa Nufarm GmbH & Co. KG..

Estudo LXIII (2006). Glyphosate Technical: Micronucleus Test In The Mouse. Não publicado. Submetido pela empresa Nufarm.

Estudo LXIV (2008). Evaluation of the mutagenic potential of Glyphosate technical by micronucleus assay in mice. Não publicado. Submetido pela empresa HAG/ Jingma Chemicals, Longyou Zhejiang, China .

Estudo LXV (2010). Amendment No. 1 to report: Evaluation of the mutagenic potential of Glyphosate technical by micronucleus assay in mice. Não publicado. Submetido pela Bioagril Laboratorios Ltda.

Estudo LXVI (1994). Glyphosate technical (FSG 03090 H/05 March 1990): Genetic toxicology - *In vivo* mammalian bone marrow cytogenetic test. Não publicado. Submetido pela empresa ADAMA.

Estudo LXVII (2009). Micronucleus Test of Glyphosate TC in Bone Marrow Cells of the CD Rat by oral administration. Não publicado. Submetido pela empresa Helm.

Estudo LXVIII (1993). Mutagenicity test: Ames salmonella test with AMPA, batch 286-JRJ-73-4. Não publicado. Submetido pela empresa Cheminova.

Estudo LXIX (1993). Mutagenicity test: Micronucleus test with AMPA, batch 286-JRJ-73-4. Não publicado. Submetido pela empresa Cheminova.

Estudo LXX (2010). An 8-Week Oral (Diet and Gavage) Toxicity Study of Citric Acid in Male Rats. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Agricultural Company, St. Louis, Missouri, USA.

European Union (2008). Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending regulation (EC) no 1907/2006. Official Journal of the European Union, L 353/1.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization) (1958). Procedures for the Testing of Intentional Food Additives to Establish Their Safety for Use: Second Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee

on Food *Additives*, FAO Nutrition. Meeting Report Series No. 17, WHO Technical Report Series No. 144. World Health Organization, Geneva, 1958.

Flower, K.B., Hoppin, J.A., Lynch, C.F. et al. (2004). Cancer risk and parental pesticide application in children of agricultural health study participants. *Environmental Health Perspectives*, 2004, vol.112, 5: 361-635.

Forgacs, A.L., Ding, Q., Jaremba, R.G., et al. (2012). BLTK1 Murine Leydig Cells: A Novel Steroidogenic Model for Evaluating the Effects of Reproductive and Developmental Toxicants. *Toxicol Sci.* 2012;127(2):391-402.

Fox, V. (1998). Glyphosate acid: *In vitro* cytogenetic assay in human lymphocytes. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Freeman, L.B. (2009). Evaluation of agricultural exposures: the agricultural health study and the agricultural cohort consortium. *Reviews on Environmental Health*, 2009, 24: 311-318.

Fritschi, L., Benke, G., Hughes, A.M. (2005). Occupational exposure to pesticides and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *American Journal of Epidemiology*, 2005, 162: 849-857.

Gasnier, C., Benachour, N., Clair, E., et al. (2010). Dig1 protects against cell death provoked by glyphosate-based herbicides in human liver cell lines. *J Occup Med Toxicol* (2010) Oct 27;5:29. doi: 10.1186/1745-6673-5-29.

Gasnier, C., Dumont, C., Benachour, N., et al. (2009). Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology* 262, 184-191.

Gehin, A., Guillaume, Y.C., Millet, J., et al. (2005). Vitamins C and E reverse effect of herbicide-induced toxicity on human epidermal cells HaCaT: a biochemometric approach. *International Journal of Pharmaceutics* vol.288, 2 (2005) 219-226.

George, J.; Prasad, S.; Mahmood, Z.; Shukla, Y. (2010). Studies on glyphosate-induced carcinogenicity in mouse skin: A proteomic approach. *Journal of Proteomics*, vol.: 73 (2010): 951-964.

George, J.; Shukla, Y.; (2013). Emptying of intracellular calcium pool and oxidative stress imbalance are associated with the Glyphosate-induced proliferation in human skin keratinocytes HaCaT cells. Hindawi Publishing Corporation. ISRN Dermatology. Vol. 2013, Article ID 825180, 12 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/825180>.

Germany, 2015. Final Addendum to the renewal assessment report on glyphosate, compiled by EFSA, October 2015. Available at <http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/outputLoader?output=ON-4302>

Giknis, M. L. A.; Clifford, C. B.; (2010). Spontaneous neoplastic lesions in the CrI:CD1. (ICR) mouse in control groups from 18 month to 2 year studies. Não publicado. Submetido por "Registry of Industrial Toxicology Animal-data" (RITA) database (Fraunhofer ITEM Institute, Hannover, Germany; <http://reni.item.fraunhofer.de/reni>), ao consórcio de registrantes de glifosato da Europa, a "Glyphosate Task Force, (GTF)".

Greaves, P. (2012). Lymphoreticular neoplasms, Histopathology of Preclinical Toxicity Studies: Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation. Academic Press/Elsevier, Amsterdam, pp. 128–141.

Greim, H., Saltmiras, D., Mostert, V., Strupp, C. (2015). Evaluation of carcinogenic potential of the herbicide glyphosate, drawing on tumor incidence data from fourteen chronic/carcinogenicity rodent studies. *Crit Rev Toxicol*, 2015; 45(3): 185–208.

Grisolia, C. K. (2002). A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. *Mutat Res*, 2002, 518 (2): 145-50.

Guilherme, S.; Santos, M. A.; Barroso, C.; et al. (2012). Differential genotoxicity of Roundup formulation and its constituents in blood cells of fish (*Anguilla anguilla*): considerations on chemical interactions and DNA damaging mechanisms. *Ecotoxicology*, 2012, 21:1381–1390.

Guyton, K.Z.; Loomis, D.; Grosse, Y.; et al. (2015). Carcinogenicity of Tetrachlorvinphos, Parathion, Malathion, Diazinon, and Glyphosate. *Lancet Oncol*. 2015, 16(5):490-1.

Hadfield, N .(2011). Glyphosate 360 IPA Salt (CA2273): *In Vitro* Absorption through Human Epidermis using [14C]-glyphosate. Submetido pela empresa Nufarma.

Hardell, L. e Eriksson, M. (1999). A case-control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. *Cancer*, 1999, 85: 1353-1360.

Hardell, L., Eriksson, M., Nordstrom, M. (2002). Exposure to pesticides as risk factor for non- Hodgkin's lymphoma and hairy cell leukemia: Pooled analysis of two Swedish case-control studies. *Leukemia & Lymphoma*, 2002, 43: 1043-1049.

Hardell, L.; Eriksson, M. (1999). A case-control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides, *Cancer*, 85, 1353-1360.

Hardell, L.; Eriksson, M.; Nordstrom, M. (2002). Exposure to pesticides as risk factor for non- Hodgkin's lymphoma and hairy cell leukemia: Pooled analysis of two Swedish case-control studies, *Leukemia & Lymphoma*, 43, 1043-1049.

Heydens, W.F., Healy, C.E., Hotz, K.J., Kier, et al. (2008). Genotoxic potential of glyphosate formulations: Mode-of-action investigation.s *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1517-1523.

Canadá (2015). Glyphosate, Proposed Re-evaluation Decision PRVD2015-01. Pest Management Regulatory Agency, Ottawa, Ontario, 13 April 2015, 330pp.

Hecker, M., Hollert, H., Cooper, R., et al. (2010). The OECD validation program of the H295R steroidogenesis assay: Phase 3. Final interlaboratory validation study. *Environmental Science and Pollution Research*, 2010, 18, 503-515.

Howe, R.K.; Chott, R.C.; McCLanahan, R.H. (1988).Metabolism of glyphosate in Sprague-Dawley rats. II. Identification, Characterization, and Quantitation of Glyphosate and its metabolites following intravenous and oral administration. Submetido pela empresa Monsanto

IARC (International Agency for Research on Cancer), (2006). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. World Health Organization - WHO. Preamble, Lyon, 2006.

IARC (International Agency for Research on Cancer), (2006). Formaldehyde, 2-butoxyethanol and. 1-tert-butoxypropan-2-ol. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: v.88. 2006. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol88/volume88.pdf>.

IARC (International Agency for Research on Cancer), 2015. Monographs, Volume 112: Some organophosphate insecticides and herbicides: tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon and glyphosate. IARC Working Group. Lyon; 3–10 March 2015. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum.

IPCS (International Program on Chemical Safety) (2007). Part 1: IPCS framework for analysing the relevance of a cancer mode of action for humans and case-studies. Part 2: IPCS framework for analysing the relevance of a non-cancer mode of action for humans. Harmonization Project Document No. 4. World Health Organization, 2007, 129pp. <http://www.inchem.org/documents/harmproj/harmproj/harmproj4.pdf>.

Jensen, J. C. (1991). Mutagenicity test: *In vitro* mammalian cell gene mutation test with glyphosate, batch 206- JaK-25-1. Report: 12325. Não publicado. Submetido pela empresa Cheminova.

JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues) 2004. Pesticide residues in food – 2004. EVALUATIONS 2004 Part II—Toxicological. WHO/PCS/06.1. WHO, Malta, 466pp. <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v2004pr01.pdf>

JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues) 2016. Summary Report, Geneva, 9–13 May 2016. <http://www.who.int/foodsafety/jmprsummary2016.pdf?ua=1>

Kachuri, L.; Demers, P. A.; Blair, A. et al. (2013). Multiple pesticide exposures and the risk of multiple myeloma in Canadian men. *Int. J. Cancer*, 2013,133: 1846–1858.

Karunanayake, C.P., Spinelli, J.J., McLaughlin, J.R. et al. (2011). Hodgkin Lymphoma and Pesticides Exposure in Men: A Canadian Case-Control Study. *Journal of Agromedicine* 2011, 17: 30-39.

Karunanayake, C.P., Spinelli, J.J., McLaughlin, J.R., et al. (2011). Hodgkin Lymphoma and Pesticides Exposure in Men: A Canadian Case-Control Study. *Journal of Agromedicine*, 2011, 17(1): 30-39.

Kier, L. D., Stegeman, S. D., Dudek, S., et al. (1997). Genotoxicity studies of glyphosate, alachlor and butachlor herbicide formulations. *Fundam. Appl. Toxicol.* 36 (No. 1, Part 2), 305.

Kier, L. D.;Kirkland, D. J. (2013). Review of genotoxicity studies of Glyphosate and Glyphosate-based formulations. *Crit Rev Toxicol*, 2013; 43(4): 283–315.

Kitazawa, T. (2013). IET historical control data on malignant lymphoma incidence in control ICR (Crj:CD-1) mice HR-001: Carcinogenicity study in mice. Não publicado. Submetido por laboratório japonês membro do consórcio de registrantes de glifosato da Europa, a "Glyphosate Task Force,(GTF)".

Klimisch, H-J., Andreae, M., Tillmann, U. (1997): A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 1997, 25, pp. 1-5

Koller, V. J.; Fürhacker, M.; Nersesyan, A. et al. (2012). Cytotoxic and DNA-damaging properties of Glyphosate and Roundup in human-derived buccal epithelial cells. *Arch Toxicol*, 2012, 86:805–813.

Koutros, S.; Andreotti, G.; Berndt, S. I. et al. (2011). Xenobiotic-metabolizing gene variants, pesticide use, and the risk of prostate cancer. *Pharmacogenetics and Genomics* 2011, 21 (10): 615-623.

Kumar, S.; Khodoun, M.; Kettleson, E.M. et al., (2014). Glyphosate-rich air samples induce IL-33, TSLP and generate IL-13 dependent airway inflammation. *Toxicology*, 325 (2014) 42–51.

Kwiatkowska, M.; Huras, B.; Bukowska, B. (2014). The effect of metabolites and impurities of Glyphosate on human erythrocytes (in vitro). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 109 (2014) 34–43.

Kyomu, M. (1995). HR-001: *In vitro* cytogenetics test. Nao publicado. Submetido pela empresa Alschu-Chemie GmbH.

Landgren, O., Kyle, R.A., Hoppin, J.A. et al. (2009). Pesticide exposure and risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance in the Agricultural Health Study. *Blood*, 2009, 113: 6386-6391.

Lee, W.J., Colt, J.S., Heineman, E.F., et al. (2005). Agricultural pesticide use and risk of glioma in Nebraska, United States. *Occupational and Environmental Medicine*, 2005, 62: 786-792.

Lee, W.J., Lijinsky, W., Heineman, E.F. et al. (2004a). Agricultural pesticide use and adenocarcinomas of the stomach and oesophagus. *Occupational and Environmental Medicine*, 2004, 61 (9):743-749.

Lee, W.J.; Cantor, K.P.; Berzofsky, J.A.; et al. (2004b). Non-Hodgkin's lymphoma among asthmatics exposed to pesticides . *Int. J. Cancer*, 2004, 111: 298–302.

Levine, S.L., Han, Z., Liu, J. et al. (2007): Disrupting mitochondrial function with surfactants inhibits MA-10 Leydig cell steroidogenesis. *Birds Cell Biol Toxicol.*, 2007, 23/6: 385-400.

Li, A. P. (1983). CHO/HGPRT gene mutation assay with glyphosate, Report ML-83-155. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto.

Li, A. P., e Long, T. J. (1988). An evaluation of the genotoxic potential of glyphosate. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1988, 10: 537–546.

Li, Q., Lambrechts, M.J., Zhang, Q. et al., (2013). Glyphosate and AMPA inhibit cell growth through inhibiting intracellular glycine synthesis. *Drug Des Devel Ther.* 2013, 24;7:635-43.

Lijinsky, W. et al. (1974). Carcinogenic N-nitroso compounds. Proc. of the VI International Cancer Congress. Florence, Italy, October 20-26.

Lioi, M. B., Scarfi, M. R., Santoro, A., et al. (1998a). Cytogenetic damage and induction of pro-oxidant state in human lymphocytes exposed in vitro to glyphosate, vinclozolin, atrazine, and DPX-E9636. *Environ. Mol. Mutagen.* 1998, 32, 39–46.

Lioi, M. B., Scarfi, M. R., Santoro, A., et al. (1998b). Genotoxicity and oxidative stress induced by pesticide exposure in bovine lymphocyte cultures in vitro. *Mutat. Res.* 1998, 403, 13–20.

Lueken, A., Juhl-Strauss, U., Krieger, G., Witte, I. (2004). Synergistic DNA damage by oxidative stress (induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and nongenotoxic environmental chemicals in human fibroblasts. *Toxicology Letters* vol.147, 1 (2004) 35-43.

Lund-høie, K.; Friestad, H. O. (1986). Photodegradation of the herbicide glyphosate in water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1986, 36: 723-729.

Maibach, H. I. (1986). Irritation, sensitization, photoirritation, and photosensitization assays with a glyphosate herbicide. *Contact Dermatitis* 15, 152–156.

Mañas, F., Peralta, L., Raviolo, J., et al. (2009a). Genotoxicity of AMPA, the environmental metabolite of glyphosate, assessed by the Comet assay and cytogenetic tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety* vol.72, 3 (2009) 834-837.

Mañas, F., Peralta, L., Raviolo, J., et al. (2009b). Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2009 ;28(1):37-41.

Mañas, F.; Peralta, L.; Ugnia, L. et al. (2013). Oxidative stress and comet assay in tissues of mice administered Glyphosate and Ampa in drinking water for 14 days *Journal of Basic & Applied Genetics*, , vol. 24, 2 (2013), Article 7.

McDuffie, H.H.; Pahwa, P.; McLaughlin, et al. (2001). Non-Hodgkin's lymphoma and specific pesticide exposures in men: cross-Canada study of pesticides and health, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 10, 1155-1163.

McQueen H, Callan AC & Hinwood AL (2012) Estimating maternal and prenatal exposure to glyphosate in the community setting. *Int J Hyg Environ Health*, 17 January 2012 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.12.002>

Menkes, D. B., Temple, W. A., and Edwards, I. R. (1991). Intentional self-poisoning with glyphosate-containing herbicides. *Hum. Exp. Toxicol.* **10**, 103–107.

Mesnager, R., Bernay, B., Séralini, G.E. (2013). Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. *Toxicology*, 2013, 16;313(2-3):122-8.

Mesnager, R., Defarge, N., de Vendôme, J. S., Séralini, G.E. (2014). Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles Hindawi Publishing Corporation. *BioMed Research International*, 2014, vol 2014, Article ID179691, 8 pp.

Mink, P. J.; Mandel, J. S.; Scurman, B. K. et al. (2012). Epidemiologic studies of Glyphosate and cancer: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2012, 63: 440–452.

Mink, P.J., Mandel, J.S., Lundin, J.I., Scurman, B.K. (2011). Epidemiologic studies of glyphosate and noncancer health outcomes: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2011, 61: 172-184.

Mladinic, M., Berend, S., Vrdoljak, A.L.; et al. (2009a). Evaluation of genome damage and its relation to oxidative stress induced by glyphosate in human lymphocytes in vitro. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2009, 50 (9): 800-807.

Mladinic, M., Perkovic, P., Zeljezic, D. (2009b). Characterization of chromatin instabilities induced by glyphosate, terbuthylazine and carbofuran using cytome FISH assay. *Toxicol Lett*, 189: 130-137.

Monge, P., Wesseling, C., Guardado, J., et al. (2007). Parental occupational exposure to pesticides and the risk of childhood leukemia in Costa Rica. *Scandinavian Journal of Work Environment & Health*, 2007, vol.33, 4: 293-303.

Monroy, C.; Cortes, A.; Sicard, D. et al. (2005). Cytotoxicity and genotoxicity of human cells exposed in vitro to glyphosate. *Environ Health Perspec*, 2005, 27:113–124.

Multigner, L., Ndong, J.R., Oliva, A., Blanchet, P. (2008). Environmental pollutants and prostate cancer: epidemiological data. *Gynecol Obstet Fertil*, 2008, 36: 848-856.

Ndong, J.R., Blanchet, P., Multigner, L. (2009). Pesticides and prostate cancer: epidemiological data. *Bulletin Du Cancer*, 2009, 96: 171-180.

Nesslany, F. 2002 Measurement of unscheduled DNA synthesis (UDS) in rat hepatocytes *in vitro* procedure with AMPA (Amino methyl phosphonic acid). The Institute of Environmental Toxicology, Tokyo, Japan. Não publicado. Submetido pela empresa Arysta LifeScience.

Nordström M., Hardell L., Magnuson A., Hagberg H., Rask- Andersen A. (1998). Occupational exposures, animal exposure and smoking as risk factors for hairy cell leukaemia evaluated in a case-control study. Page: 2048-2052. *British Journal of Cancer*, 1998, 77(11): 2048-2052.

NRC (National Research Council) (1983). Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health, Commission on Life Sciences, Natl. Acad. Press, Washington, DC.

NTP (National Toxicology Program) (1992) Technical Report on Toxicity Studies of Glyphosate (CAS No. 1071-83-6) Administered in Dosed Feed to F344/N Rats and B6C3F1 Mice, Toxicity Report Series Number 16, NIH Publication 92-3135, July 1992. U.S. Department of Health and Human Services, Research Triangle Park, NC.

NTP (National Toxicology Program) (2015). Handbook for conducting a literature-based health assessment using OHAT approach for systematic review and evidence integration. NTP, National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS), Office of Health Assessment and Translation (OHAT), 2015, 98 pp. [http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/ohat/pubs/handbookjan2015\\_508.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/ohat/pubs/handbookjan2015_508.pdf).

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (1983). OECD TG 474- Original - Guideline for the testing of chemicals. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. Adopted:1983, 21pp.

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (1997). OECD 474 Guideline for the testing of chemicals. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. Adopted:21st July 1997, 10pp.

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2002). Guidance notes for analysis and evaluation of chronic toxicity and carcinogenicity studies OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 35 and Series on Pesticides No. 14. ENV/JM/MONO (2002).

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2012). Guidance document 116 on the conduct and design of chronic toxicity and carcinogenicity studies, supporting test guidelines 451, 452 and 453 2nd edition ENV/JM/MONO(2011)47.

Orsi, L., Delabre, L., Monnereau, A. et al. (2009). Occupational exposure to pesticides and lymphoid neoplasms among men: results of a French case-control study. *Occupational and Environmental Medicine*, 2009, 66, (5) : 291-298.

Paganelli, A., Gnazzo, V., Acosta, H., et al. (2010). Glyphosate-Based Herbicides Produce Teratogenic Effects on Vertebrates by Impairing Retinoic Acid Signaling. *Chem Res Toxicol*, 2010, 23: 1586-1595.

Pahwa, P., Karunanayake, C.P., Dosman, J.A. et al. (2011). Multiple Myeloma and Exposure to Pesticides: A Canadian Case-Control Study. *Journal of Agromedicine*, 2011, 17: 40-50.

Patel, N. N. (2012) Micronucleus test of Glyphosate TGA1 in mice. Não publicado. Submetido pela empresa Dow Agrosience.

Paz-Y-Miño, C. Sanchez, M. E. Arevalo, M. et al. (2007). Evaluation of DNA damage in an Ecuadorian population exposed to glyphosate. *Genetics and Molecular Biology*, 2007, 30 (2): 456-460.

Paz-Y-Miño, Muñoz, M. J., Maldonado, A. et al. (2011). Baseline determination in social, health, and genetic areas in communities affected by glyphosate aerial spraying on the northeastern Ecuadorian border. *Rev Environ Health*. 2011;26(1):45-51.

Prasad, S., Srivastava, S., Singh, M., Shukla, Y. (2009). Clastogenic effects of glyphosate in bone marrow cells of swiss albino mice. *J Toxicol*, 2009, Article ID 308985, 6 pp. <http://dx.doi.org/10.1155/2009/308985>

Peixoto, F. (2005). Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. *Chemosphere* vol.61, 8 (2005) 1115-1122.

Peluso, M., Munnia, A., Bolognesi, C., e Parodi, S. (1998). 32Ppostlabeling detection of DNA adducts in mice treated with the herbicide Roundup. *Environ. Mol. Mutagen.* **31**, 55–59.

Piesova, E. (2005). The effect of glyphosate on the frequency of micronuclei in bovine lymphocytes in vitro. *Acta Veterinaria-Beograd*, 55, 101-109.

Pinto (1996). 1996 Glyphosate Acid: 21 Day Dermal Toxicity Study In Rats. Report No.: /P/4985. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Quassinti, L., Maccari, E., Murri, O., Bramucci, M. (2009): Effects of paraquat and glyphosate on steroidogenesis in gonads of the frog *Rana esculenta* in vitro. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2009, 93/2: 91-95.

Randerath, E., Zhou, G.-D., e Randerath, K. (1997a). Organ specific oxidative DNA damage associated with normal birth in rats. *Carcinogenesis* **18**, 859–866.

Randerath, K., Zhou, G.-D., Monk, S. A., e Randerath, E. (1997b). Enhanced levels in neonatal rat liver of 7,8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-hydroxydideoxyguanosine), a major mutagenic oxidative DNA lesion. *Carcinogenesis* 18, 1419–1421.

Rank, J., Jensen, A-G., Skov, B., et al. (1993). Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, Salmonella mutagenicity test, and allium anaphase–telophase test. *Mutat. Res.* **300**, 29–36.

Reyna, M. S., and Ruecker, F. A. (1985). *Twelve Month Study of Glyphosate Administered by Gelatin Capsule to Beagle Dogs*. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Environmental Health Laboratory, St. Louis, MO.

Richard, S.; Moslemi, S.; Sipahutar, H.; et al. (2005). Differential effects of Glyphosate and Roundup on human placental cells and aromatase. [Environ Health Perspect.](#) 2005, 113(6):716-20.

Ridley, W.P. & Mirly, K. (1988). The metabolism of glyphosate in Sprague-Dawley rats. Part 1. Excretion and tissue distribution of glyphosate and its metabolites following intravenous and oral administration. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto, St Louis, MO,.

Robbins, S.L. & Contran, R. S. (2005). Aster, J.C. Doenças de Leucócitos, Linfonodos, Baço e Timo. Capítulo 14. In: Patologia - Bases Patológicas das Doenças/ editores: Kumar, Abbas, Fausto; tradução da 7ª edição: Maria da Conceição Zacharias et al.- Rio de Janeiro: 2005 il, p.695-746.

Roth, M. (2012). Glyphosate technical - Micronucleus assay in bone marrow cells of the mouse. Não publicado. Submetido pela empresa Syngenta.

Riede, S.; Schafft, H.; Lahrssen- Wiederholt, M.; Breves, G. (2014). Effects of a glyphosate-based herbicide on in vitro ruminal fermentation and microbial community with special attention to clostridia. Proc. Soc. Nutr. Physiol. ; Vol 23 (2014); 23; 34. Gesellschaft fur Ernährungsphysiologie Conference; 68th, Gesellschaft.

Roe, F. J. C.; Tucker, M. J.;(1974). Recent developments in the design of carcinogenicity tests on laboratory animals Proc. Europ. Soc. Stud. Drug Tox. 1974,15:171-177.

Rossberger, S. (1994). Glyphosate: DNA repair test with primary rat hepatocytes, Report: 931564. Não publicado. Submetido pela empresa ADAMA.

Roustan, A.; Aye, M.; De Meo, M.; Di Giorgio, C. (2014). Genotoxicity of mixtures of glyphosate and atrazine and their environmental transformation products before and after photoactivation. Chemosphere 108 (2014) 93–100.

Ruder, A.M.; Waters, M.A.; Butler, M.A. et al. (2010). Gliomas and farm pesticide exposure in men: The upper midwest health study. Archives of Environmental Health: An International Journal, 2010, 59:12, 650- 657.

Sawada, Y., Nagai, Y., Ueyama, M., and Yamamoto, I. (1988). Probable toxicity of surface-active agent in commercial herbicide containing glyphosate. *Lancet* 8580, 299. [Letter]

Schinasi L., Leon M. E., (2014). Non-Hodgkin lymphoma and occupational exposure to agricultural pesticide chemical groups and active ingredients: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2014, 11: 4449-4527 .

Sher, S. P. (1974). Review article - Tumors in control mice: Literature tabulation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1974, 30: 337-359.

Sittig, M. (ed.). 1980. Priority toxic pollutants: Health impacts and allowable limits. Park Ridge, NJ: Noyes Data Corporation, pgs. 289-290.

Sivikova, K., Dianovsky, J. (2006). Cytogenetic effect of technical glyphosate on cultivated bovine peripheral lymphocytes. *Int J Hyg Environ Health*, 2006, 209, 15-20.

Son, W.-C.; Gopinath, C. (2004). Early occurrence of spontaneous tumors in CD-1 mice and Sprague–Dawley rats *Toxicologic Pathology* 2004, 32:371–374.

Sorahan, T. (2015). Multiple myeloma and Glyphosate use: A re-analysis of US Agricultural Health Study (AHS) data. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2015, 12: 1548-1559. doi:10.3390/ijerph120201548.

Stout L. D., and Ruecker, F. A. (1990). Chronic study of glyphosate administered in feed to Albino rats. Project No.: ML-87-148. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Agricultural Company, St. Louis, Missouri, USA.

Stout, L. D., and Johnson, C. W. (1987). *90-Day Study of Glyphosate Administered in Feed to Sprague–Dawley Rats*. Não publicado. Submetido pela empresa Monsanto Environmental Health Laboratory, St. Louis, MO.

Sugimoto, K (1997). HR-001: 18-Month Oral Oncogenicity Study in Mice. Não publicado. Submetido pela empresa Arysta LifeScience.

Taddesse-Heath, L.; Chattopadhyay, S. K.; Dillehay, D. L.; et al. (2000). Lymphomas and high-level expression of murine leukemia viruses in CFW mice *J. Virol.* 74, 2000, 15:6832-6837.

Talbot, A. R., Shiaw, M.-H., Huang, J.-S., et al. (1991). Acute poisoning with a glyphosate-surfactant herbicide ('Round-up'): A review of 93 cases. *Hum. Exp. Toxicol.*, 1991, 10: 1–8.

Tasker, E. J. (1980). Teratology Study in Rats. Não publicado. Submetido por International Research and Development Corporation, Mattawan, MI.

Temple, W. A., and Smith, N. A. (1992). Glyphosate herbicide poisoning experience in New Zealand. *N. Zeal. Med. J.*, 1992, 105: 173–174.

Thongprakaisang, S., Thiantanawat, A., Rangkadilok, N.; et al. (2013). Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 59: 129–136.

Tierney, W. J. (1979). A Three Month Feeding Study of Glyphosate (Roundup Technical) in Mice. Não publicado. Submetido pela empresa Bio/Dynamics, Inc., East Millstone, NJ.

Tominack, R. L., Yang, G.-Y., Tsai, W.-J., Chung, H.-M., and Deng, J.-F. (1991). Taiwan National Poison Center survey of glyphosatesurfactant herbicide ingestions. *Clin. Toxicol.* 29, 91–109.

Tompkins, E. C. (1991). 90-Day Oral (Capsule) Toxicity Study in Dogs With AMPA. Unpublished report, WIL Research Laboratories, Inc., Ashland, OH.

Tucker, M. J. (1979). The effect of long-term food restriction on tumours in rodents. *Int. J. Cancer* 1979, 23: 803-807.

US EPA (U. S. Environmental Protection Agency) (1980). Glyphosate; Submission of rat teratology, rabbit teratology, dominant lethal mutagenicity assay in mice. EPA 1980a/103601/103601-090/661A Washington (DC): United States Environmental Protection Agency, Office of Toxic substances.;

[www.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/clearedreviews/reviews/.pdf](http://www.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/clearedreviews/reviews/.pdf)  
(1980) 1-6.

US EPA (Environmental Protection Agency), 1986. Glyphosate; EPA Registration No. 524-308; Roundup; additional histopathological evaluations of kidneys in the chronic feeding study of glyphosate in mice. Document No. 005590. Washington (DC): Office of Pesticides and Toxic Substances.

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency) - EDSP (Endocrine Screening Program) (2015). EDSP: Weight Of Evidence Analysis Of Potential Interaction With The Estrogen, Androgen Or Thyroid Pathways. Chemical: Glyphosate. Office Of Science Coordination And Policy, USEPA, 2015, 70pp. [http://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/glyphosate-417300\\_2015-06-29\\_txr0057175.pdf](http://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/glyphosate-417300_2015-06-29_txr0057175.pdf).

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency) (1993). Glyphosate Reregistration Eligibility Decision (RED). Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, USEPA, 1993, 291pp. [http://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/reg\\_actions/reregistration/red\\_PC-417300\\_1-Sep-93.pdf](http://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/red_PC-417300_1-Sep-93.pdf).

US EPA (U.S. Environmental Protection Agency) (2013). US EPA 2013. A retrospective analysis of immunotoxicity studies (OCSP Test Guideline NO. 870.7800). Office of Pesticides Program, 2013, 26pp. <http://www.epa.gov/sites/production/files/documents/immunotoxicity-retro-analysis.pdf>.

Van de Waart, E.J. (1995). Evaluation of the ability of glyphosate to induce chromosome aberrations in cultured peripheral human lymphocytes (with independent repeat). Report: 141918. Nao publicado. Submetido pela empresa Agrichem.

Vigfusson, N.V., Vyse, E.R. (1980). The effect of the pesticides Dexon, Captan and Roundup on sister chromatid exchanges in human lymphocytes *in vitro*. Mutation Research, 1980, 79, 53-57.

Walsh, L.P., McCormick, C., Martin, C., Stocco, D.M. (2000). Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environmental Health Perspectives*, 2000, 108: 769-776.

Ward, R.J. (2010) .450 g/L Glyphosate SL Formulation (MON 79545) - *In vitro* absorption of glyphosate through human epidermis. Submetido pela empresa Monsanto.

Weichenthal, S., Moase, C., Chan, P. (2010). A review of pesticide exposure and cancer incidence in the Agricultural Health Study cohort. *Environ Health Perspect* , 2010, 118: 1117-1125.

WHO (World Health Organisation) 1994. Glyphosate. Environmental Health Criteria No. 159. World Health Organization, Geneva, 1994.

Williams, G.M., Kroes, R., Munro, I.C. (2000). Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* vol.31, 2 (2006) 117-165.

Wright, N. P. (1996). Technical glyphosate: Chromosome aberration test in CHL cells *in vitro*. Nao publicado. Submetido pela empresa Nufarm.

Wood, E. (2010). Historical Incidence of Malignant lymphoma in CD-1 Mouse. Não publicado. Submetido por laboratório membro do consórcio de registrantes de glifosato da Europa, a "Glyphosate Task Force, (GTF)".

Young, S.S., Gries, C.L., (1984). Exploration of the negative correlation between proliferative hepatocellular lesions and lymphoma in rats and mice— establishment and implications. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1984, 4: 632–640.