

SONIA APARECIDA VIANA CAMARA

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AOS INSETICIDAS ANTICOLINESTERÁSICOS  
NOS AGENTES DE CONTROLE DE ENDEMIAS NO ESTADO DE MATO GROSSO  
DO SUL**

CAMPO GRANDE

2014

SONIA APARECIDA VIANA CAMARA

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AOS INSETICIDAS ANTICOLINESTERÁSICOS  
NOS AGENTES DE CONTROLE DE ENDEMIAS NO ESTADO DE MATO GROSSO  
DO SUL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste  
da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,  
para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Iandara Schettert Silva

CAMPO GRANDE

2014

Câmara, Sonia Aparecida Viana

Avaliação da exposição aos inseticidas anticolinesterásicos nos agentes de controle de endemias no estado de Mato Grosso do Sul. 145p.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. 2014.

Evaluation of anticholinesterase pesticides exposure in the endemic control agents, in the Mato Grosso do Sul state.

1 Exposição ocupacional 2 acetilcolinesterase 3 butirilcolinesterase  
4 controle de vetores 5 inseticidas

SONIA APARECIDA VIANA CAMARA

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AOS INSETICIDAS ANTICOLINESTERÁSICOS  
NOS AGENTES DE CONTROLE DE ENDEMIAS NO ESTADO DE MATO GROSSO  
DO SUL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste  
da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,  
para obtenção do título de Doutor.

Resultado: Aprovado

Campo Grande (MS), 21 de março de 2014.

**BANCA EXAMINADORA**

Orientadora: \_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Iandara Schettert Silva  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Elenir Rose Jardim Cury Pontes  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Dario Xavier Pires  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jefferson José Oliveira-Silva  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Alexandra Maria Almeida Carvalho  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS.

\_\_\_\_\_  
Suplente - Prof. Dr. Ricardo Dutra Aydos  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

## DEDICATÓRIA

Aos meus **amigos: Dr. Antonio Marcos Jacques Barbosa e Sandra Lúcia de Carvalho** pela amizade, parceria, companheirismo e compromisso, que me permitiram a execução deste projeto.

## AGRADECIMENTOS

- À Deus e Nossa Senhora Aparecida por terem me dado forças para concluir esta jornada.
  
- À minha orientadora, **Profa. Dra. Iandara Schettert Silva**, pela orientação, contribuição e a oportunidade de realizar este sonho. Minha gratidão para sempre.
  
- À **Profa. Dra. Elenir Rose Jardim Cury Pontes**, pela orientação e tratamento estatístico dos dados, o qual foi imprescindível na interpretação dos resultados. Muito Obrigada.
  
- Ao colega **Dr. Antonio Marcos Jacques Barbosa**, pela validação e execução da metodologia analítica, sem a qual seria impossível realizar o projeto. Minha gratidão eterna.
  
- À colega **Sandra Lúcia de Carvalho**, técnica de laboratório, pela parceria na realização das análises e organização laboratorial.
  
- Ao **Programa de Pós-graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste**, com seus professores e funcionários, pela contribuição na minha evolução científica.
  
- Aos **Coordenadores de controle de Vetores do Estado, do município de Campo Grande, macrorregião de Dourados e Três Lagoas**, pela contribuição com informações e organização da logística para coleta das amostras biológicas.
  
- Aos **Agentes de controle de endemias** que participaram desta pesquisa.

- Ao **Prof. Dr. Jefferson José Oliveira-Silva - UNIRIO**, pela disponibilidade, atenção, e orientação durante o treinamento e implantação da metodologia analítica no LACEN.

- Ao **Dr. Sergio R. Alves**, pela realização do treinamento na metodologia analítica para determinação das enzimas, no Centro de Estudo de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro.

- À **Faculdade Estácio de Sá**, pelo incentivo e estímulo para realização desta Pós-graduação.

-Ao **Laboratório Central de Saúde Pública Estadual**, pela permissão para realização dos exames.

- À **minha família**, pelo incentivo e compreensão pela ausência em vários momentos familiares.

- A **todos**, que ajudaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

Oh! Bendito o que semeia  
Livros à mão cheia  
E manda o povo pensar!  
O livro, caindo n'alma  
É germe – que faz a palma,  
É chuva – que faz o mar!

Castro Alves

## RESUMO

**Sonia AVC. Avaliação da exposição aos inseticidas anticolinesterásicos nos agentes de controle de endemias no estado de Mato Grosso do Sul.** Campo Grande; 2013. [Tese - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

No Brasil, o controle de vetores na saúde pública é realizado através da aplicação de inseticidas pertencentes aos grupos químicos organofosforados e carbamatos, inibidores das colinesterases. O objetivo deste estudo epidemiológico transversal foi avaliar a exposição aos inseticidas anticolinesterásicos, em 800 agentes de controle de endemias, do estado de Mato Grosso do Sul. Foi aplicado um questionário e realizada a dosagem das enzimas BChE e AChE através do método de Ellman et al. (1961) modificado por Oliveira-Silva et al. (2000). Para o grupo controle foram estabelecidos valores de referência 0,18  $\mu$ moles/min/mg de proteína, e 6,98  $\mu$ moles/min/mL de plasma para AChE e BChE, respectivamente. Os agentes de controle de endemias em MS são jovens, 35,13% na faixa de 20 a 30 anos, do sexo masculino (68,25%), com 48,00% acima de 12 anos de estudo, estado civil casado (52,88%), predomínio da raça branca (61,75%). Apresentaram tempo de exposição de 1 a 5 anos (40,37%), com 11 a 20 aplicações de inseticidas por mês, 75,12% declararam que usam EPI e 78% receberam treinamento sobre aplicação de inseticidas. Os sintomas predominantes foram: cansaço nas pernas (30,63%), cefaléia (29,38%), irritação ocular (27,50%), irritação da pele (24,62%), e irritação nasal (21,75%). Os inseticidas manipulados foram: temefós (70,88%), deltametrina (24,00%), cipermetrina (18,00%), bendiocarbe (10,75%) e malathion (10,38%). A média da BChE ( $7,22 \pm 2,08$   $\mu$ moles/min/mL de plasma), e AChE ( $0,24 \pm 0,25$   $\mu$ moles/min/mg de proteína) foram significativamente menor ( $p < 0,001$ , teste Mann Whitney) que a média do grupo controle ( $8,53 \pm 2,26$   $\mu$ moles/min/mL de plasma e  $0,29 \pm 0,14$   $\mu$ moles/min/mg de proteína, respectivamente). O índice de inibição foi de 18,38 % e 17,50%, para BChE e AChE, respectivamente. Não houve associação entre presença de sintomas e redução das enzimas AChE e BChE ( $p = 0,786$  e  $0,191$ , respectivamente, teste Qui-quadrado). A prevalência de intoxicação aguda foi de 8,12%, para exposição crônica. Há necessidade dos gestores municipais se conscientizarem da importância do monitoramento periódico, para garantir a saúde do trabalhador da Saúde Pública.

Palavras-chave: Exposição ocupacional, acetilcolinesterase, butirilcolinesterase, controle de vetores, inseticidas.

## ABSTRACT

**Sonia AVC.** Evaluation of exposure to anticholinesterase pesticides in the endemic control agents, Mato Grosso do Sul state. Campo Grande, 2014. [Thesis – School of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul].

In Brazil, the vector control in public health is accomplished through the pesticides application belonging to the chemical groups organophosphates and carbamates, which are cholinesterase inhibitors. The aim of this epidemiological study was to assess the anticholinesterase pesticides exposure in 800 endemic control agents, in the Mato Grosso do Sul state. A questionnaire was applied and made the measurement of AChE and BChE enzymes by the method of Ellman et al., (1961) modified by Oliveira-Silva et al., (2000). Through a control group was established AChE and BChE reference values 0.18  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  of protein, 6.98  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mL}$  of plasma, respectively. The endemic control agents in MS were young, 35.13 % were between 20-30 years old, 68.25 % were male, 48.00% had above 12 years or more of education, 52.88 % were married, 61.75% were caucasians. Showed exposure time 1-5 years (40.37%), with 11-20 pesticides applications per month, 75.12 % used PPE, and 78 % received training. The most frequent symptoms were fatigue leg (30.63%), headache (29.38%), eye irritation (27.50%), skin irritation (24.62%), and nasal irritation (21.75%). The manipulated pesticides were: temephos (70.88 %), deltamethrin (24.00 %), cypermethrin (18.00%), bendiocarb (10.75%) and malathion (10.38 %). The BChE average ( $7.22 \pm 2.08$   $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mL}$  de plasma), and AChE average ( $0.24 \pm 0.25$   $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de proteína) were significantly lower ( $p < 0.001$ , Mann Whitney test) than the average of the control group ( $8.53 \pm 2.26$   $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mL}$  of plasma and  $0.29 \pm 0.14$   $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  of protein, respectively). The inhibition rate was 18.38% and 17.50 % for AChE and BChE, respectively. There wasn't association between symptoms presence and AChE and BChE enzymes reduction ( $p = 0.786$  and  $0.191$ , respectively, Chi-Square test). The prevalence of acute pesticide poisoning was 8.12% for chronic exposure. It's necessary that municipal managers become aware about periodic monitoring importance to ensure health of public health worker.

Keywords: Occupational exposure, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, vector control, pesticides.

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 –	Distribuição do número de agentes de controle de endemias participantes do estudo e municípios que não fizeram parte da pesquisa, de acordo com a macro e microrregião, Mato Grosso do Sul, 2011 a 2012.....	48
Tabela 2 –	Valores da atividade mediana e primeiro quartil de AChE e BChE do grupo controle, Mato Grosso do Sul 2011 .....	60
Tabela 3 –	Índice de inibição (%) e prevalência de intoxicação (%) dos agentes de controle de endemias, do programa de combate a Leishmaniose, município de Campo Grande, MS, 2011.....	61
Tabela 4 –	Prevalência de intoxicação de exposição aguda e crônica em Mato Grosso do Sul e respectivas macrorregiões, 2011-2012.....	64
Tabela 5 –	Distribuição dos agentes de endemias segundo a inibição das enzimas butirilcolinesterase e acetilcolinesterase, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012.....	66
Tabela 6 –	Distribuição dos agentes de controle de endemias segundo perfil epidemiológico, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões – 2011-2012...	67
Tabela 7 –	Distribuição dos agentes de endemia segundo características do trabalho de controle de vetores, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012.....	69
Tabela 8 –	Distribuição dos agentes de endemias segundo sintomas auto-referidos, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012.....	72
Tabela 9 –	Estatística descritiva dos valores da BCHE e ACHE dos agentes de controle de endemias, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012.....	73

Tabela 10 – Percentual dos agentes de controle de endemias segundo o pesticida utilizado e sua classificação toxicológica, Mato Grosso do Sul - 2011 a 2012 (n=800).....	74
Tabela 11 – Média das enzimas e da idade do grupo controle e dos ACE, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012.....	76
Tabela 12 – Número e porcentagem de agentes de controle de endemias segundo a ocorrência de sintomas de intoxicação e a inibição das colinesterases eritrocitária (AChE) e plasmática (BChE), Mato Grosso do Sul - 2011 a 2012 (n=800).....	77

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fórmula estrutural do temefós.....	25
Figura 2 –	Fórmula estrutural do fenitrothion.....	26
Figura 3 –	Fórmula estrutural do malathion .....	26
Figura 4 –	Formula estrutural do bendiocarbe.....	27
Figura 5 –	Fórmula estrutural do carbaril.....	28
Figura 6 –	Fórmula estrutural do inseticida deltametrina.....	29
Figura 7 –	Formula estrutural da cipermetrina.....	30
Figura 8 –	Tratamento focal .....	43
Figura 9 –	Tratamento UBV portátil .....	43
Figura 10 –	UBV motorizado.....	44
Figura 11 –	Pulverização no combate ao vetor da Leishmaniose.....	44
Figura 12 –	Distribuição das 11 microrregiões de MS.....	46
Figura 13 –	Distribuição dos municípios de MS em 4 Macrorregiões.....	47
Figura 14 –	Curva de Albumina.....	55
Figura 15 –	Curva da L- cisteína.....	56
Figura 16 –	Distribuição das leituras do controle da BChE durante o estudo.....	57
Figura 17 –	Distribuição das leituras do controle da AChE durante o estudo.....	58
Figura 18 –	Prevalência de intoxicação aguda nas macrorregiões e MS.....	65

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Classificação dos pesticidas por critério de riscos.....	22
Quadro 2 –	Relação dos inseticidas inibidores da colinesterase, grupo químico, uso, e programas, padronizados pelo Ministério da Saúde.....	23
Quadro 3 –	Classificação de risco toxicológico dos inseticidas utilizados nos programas de controle de vetores, em MS.....	24
Quadro 4 –	Concentrações de deltametrina usadas nas campanhas de Saúde Pública.....	29
Quadro 5 –	Quadro clínico desenvolvido por inseticidas anticolinesterásicos...	39
Quadro 6 –	Parâmetros sugeridos de rendimento médio preconizados para atividades de controle de vetores.....	41
Quadro 7 –	Relação dos inseticidas inibidores da colinesterase sanguínea e periodicidade de monitoramento.....	42
Quadro 8 –	Preparo das diluições para construção da curva padrão de albumina.....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	Ácido Desoxiribonucléico
DL50	Dose Letal 50
G	Granulado
GT	Grau Técnico
CE	Concentrado Emulsionável
PM	Pó Molhável
OS	Pó Seco
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
IDA	Ingestão Diária Aceitável
WHO	World Health Organization
AChE	Acetilcolinesterase
MCV	Momento da Cauda Verde
MC	Momento da Cauda
BChE	Butirilcolinesterase
SNC	Sistema Nervoso Central
DTNB	Ácido Ditionitrobenzóico
DO	Densidade Ótica
MCG	Macrorregião de Campo Grande
MD	Macrorregião de Dourados
MTL	Macrorregião de Três Lagoas
MC	Macrorregião de Corumbá
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
ACE	Agente de Controle de Endemias

EPI	Equipamento de Proteção Individual
PR	Paraná
RJ	Rio de Janeiro
RN	Rio Grande do Norte
RS	Rio Grande do Sul
MS	Mato Grosso do Sul
SUS	Sistema Único de Saúde
PEAa	Plano de Erradicação do <i>Aedes aegypti</i>
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
UBV	Ultra Baixo Volume
CGLAB	Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
SES	Secretaria de Estado de Saúde

## LISTA DE SÍMBOLOS

mg/Kg p.c.	miligrama por quilograma de peso corporal
p/p	peso/peso
%	percentual
pH	potencial hidrogeniônico
mL	Mililitro
M	Molar
Nm	nanômetro
μL	microlitro
NaOH	Hidróxido de sódio
HCl	Ácido clorídrico
mM	milimolar
°C	graus celcius
λ	lâmbida - comprimento de onda
Rpm	rotação por minuto
mg/mL	miligrama por mililitro
μmol/min/mL	micromol/minuto/mililitro
μmol/min/mg	micromol/minuto/miligrama
DP	Desvio Padrão
CV	Coefficiente de Variação
RP	Razão de Prevalência
IC	Intervalo de Confiança
UI/L	Unidade Internacional/Litro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
<b>2.1 Organofosforados.....</b>	<b>24</b>
<b>2.2 Carbamatos.....</b>	<b>27</b>
<b>2.3 Piretróides.....</b>	<b>28</b>
<b>2.4 Mecanismo de ação dos organosforados e carbamatos.....</b>	<b>30</b>
<b>2.5 Carcinogênese e mutação genética .....</b>	<b>32</b>
<b>2.6 Reprodução.....</b>	<b>35</b>
<b>2.7 Colinesterase.....</b>	<b>36</b>
<b>2.8 Manifestações clínicas .....</b>	<b>38</b>
<b>2.9 Agentes de controle de endemias.....</b>	<b>40</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>45</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 Tipo de estudo.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Grupo Populacional estudado.....</b>	<b>46</b>
<b>4.3 Delineamento do estudo.....</b>	<b>48</b>
<b>4.4 Coleta e processamento das amostras .....</b>	<b>50</b>
<b>4.5 Procedimento para determinação das atividades de AChE eBChE.....</b>	<b>50</b>
<b>4.6 Análises estatísticas.....</b>	<b>58</b>

<b>4.7 Aspectos éticos.....</b>	<b>59</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>79</b>
<b>7 RECOMENDAÇÃO.....</b>	<b>81</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>82</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>101</b>
<b>APÊNDICE A – Questionário.....</b>	<b>102</b>
<b>APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....</b>	<b>103</b>
<b>APÊNDICE C – Procedimento para coleta .....</b>	<b>106</b>
<b>APÊNDICE D - Carta de Aprovação do Comitê de Ética/UFMS.....</b>	<b>107</b>
<b>APÊNDICE E - Artigo Publicado - Avaliação de exposição a agrotóxicos: determinação dos valores de referência para colinesterase plasmática e eritrocitária.....</b>	<b>108</b>
<b>APÊNDICE F- Carta de submissão do artigo à Revista Ciência e Saúde Coletiva: Intoxicação por carbamatos: níveis de colinesterase nos agentes de saúde do programa da leishmaniose.....</b>	<b>116</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>142</b>
<b>ANEXO A - Composição das macrorregiões de Mato Grosso do Sul .....</b>	<b>143</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o controle de vetores pelos órgãos públicos, para evitar a propagação de epidemias, como dengue, doença de Chagas, leishmaniose e malária, é realizado pela aplicação de inseticidas pertencentes aos grupos químicos organofosforados, carbamatos e piretróides (DOMINGUES et al., 2004; BRASIL, 2008).

Durante as campanhas antivetoriais os agentes de controle de endemias (ACE) são os indivíduos mais expostos aos inseticidas. A exposição se dá desde o preparo da calda até a aplicação nas áreas intra e peridomiciliares, porém, no Brasil, e, em vários países os estudos da relação entre exposição e efeitos na saúde são bastante investigados entre os trabalhadores rurais (OLIVEIRA-SILVA et al., 2001; REEVES; SCHAFER, 2003; DELGADO; PAUMGARTTEN, 2004; PIRES et al., 2005; FARIA et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2005; QUANDT et al., 2006; ARAUJO et al., 2007; JOSHAGHANI et al., 2007; DEL PRADO LU, 2007; SOOMRO et al., 2008; QUANDT et al., 2010; ARAOUD et al., 2010; MOHEBBI et al., 2011; FIGUEIREDO et al., 2011; SOUZA et al., 2011; ZHANG et al., 2011; TAHIR; TAHIR, 2012; PASIANI et al., 2012; CURVO et al., 2013).

A exposição ocupacional pode acontecer pelas seguintes vias dérmica, respiratória e oral (OPAS, 1997; THUNDIYIL et al., 2008). A pele é o órgão mais exposto durante as pulverizações, e o contato também pode ocorrer durante o transporte, armazenamento, preparo das caldas, manuseio e limpeza do equipamento de pulverização (DOMINGUES et al., 2004).

Os efeitos da exposição a inseticidas sobre a saúde humana podem ser agudos e crônicos. Intoxicação aguda por pesticidas resulta da exposição recente a concentrações de um ou mais agentes tóxicos capazes de causarem danos efetivos à saúde em um período de até 48 horas. Os efeitos adversos na saúde podem ser locais (dérmico, respiratório e ocular), e ou sistêmico. Os efeitos sistêmicos que podem ser envolvidos são: respiratório, neurológicos, cardiovascular, endócrino, gastrointestinal, e reações alérgicas (REEVES; SCHAFER, 2003; KAMEL et al., 2007; THUNDIYIL et al., 2008).

Entretanto, os efeitos de uma exposição crônica são caracterizados pela exposição à baixa concentração de um contaminante químico durante longos períodos e pode levar efeitos tardios sobre a saúde humana. Podem aparecer após meses, anos ou até mesmo gerações

depois do período de uso ou contato com os inseticidas, dificultando onexo-causal (PERES et al., 2003; BALDI et al., 2011).

Os efeitos crônicos nocivos do uso de pesticidas para a saúde humana tem sido objeto de diversos estudos, apontando a possibilidade de ocorrência de anomalias congênitas (GOMES et al., 2008; SILVA et al., 2011), disfunções na reprodutibilidade humana (GIBSON; KOIFMAN, 2008; OZLEM, 2013), câncer (IARC, 1991; FELZENSZWALB, 2005; SILVA, 2007; PEREZ, 2009; INCA, 2010; IARC, 2010; KOUTROS et al., 2010; BLAIR et al., 2011; CURVO et al., 2013; CHAGAS et al., 2013), Doença de Parkinson (DHILLON et al., 2008; HATCHER et al., 2008; TANNER et al., 2009; WANG et al., 2011), Doença de Alzheimer (DOSUNMU, et al., 2007; BALDI et al., 2011; AISHWARYA et al., 2012), e danos genéticos (KEHDY et al., 2007; ERGENE et al., 2007; GOMES et al., 2008; SINGH et al., 2011; SILVA et al., 2011; KHAYAT et al., 2013).

A avaliação da exposição pode ser feita com marcadores biológicos ou indicadores de efeito, que é uma avaliação indireta que qualifica e quantifica a exposição de indivíduos através de amostras biológicas. A identificação de alterações biológicas precoces decorrentes da exposição à inseticida dos grupos carbamatos e organofosforados pode ser realizada através da dosagem da atividade enzimática das colinesterases, pois, sua variação é proporcional à intensidade e duração da exposição aos agentes anticolinesterásicos (COCKER et al., 2002; FELZENSZWALB, 2005; RIBEIRO; MELLA, 2007; ARAOUD et al., 2010; DHARARJAYAN et al., 2012).

Este grupo profissional apresenta riscos de contaminação, pois, a exposição ocorre com produtos de média e alta toxicidade, durante o procedimento de armazenamento, preparo, aplicação, limpeza e manutenção dos equipamentos de borrifação e, é contínua durante muitos anos. Além disso, tem contato com múltiplos grupos químicos e princípios ativos, devido à resistência adquirida pelos vetores, como o *Aedes aegypti*, exigindo mudança frequente dos inseticidas, o que pode causar sérios prejuízos à saúde destes trabalhadores.

No Brasil, especificamente em Mato Grosso do Sul, os ACE estão expostos aos inseticidas, e desde o ano de 2000, quando iniciou o processo de descentralização das ações de controle de vetores da FUNASA para as Secretarias de Saúde do Estado e municípios, até 2008, quando o Ministério da Saúde estabeleceu os parâmetros para avaliação da exposição ocupacional desta categoria profissional. Ficaram com controle semestral da exposição ocupacional através do monitoramento da atividade das enzimas colinesterases, (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).

Este trabalho teve como finalidade avaliar a exposição ocupacional dos ACE da saúde pública que atuam no controle de vetores no estado de Mato Grosso do Sul, identificar o perfil dos trabalhadores e a prevalência para intoxicação aguda.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Pesticidas são substâncias ou mistura de substâncias utilizadas para prevenir, destruir ou controlar alguma praga. Também podem ser denominados de agrotóxicos, praguicidas ou defensivos agrícolas (FAO, 2003). Neste estudo será utilizada a denominação de inseticida, obedecendo a Nota Técnica n°. 165/2008/Ministério da Saúde.

Podem ser classificados quanto à toxicidade, organismo alvo e grupo químico. Quanto ao organismo alvo são denominados de inseticidas, herbicidas e fungicidas. E, para o grupo químico organofosforados, organoclorados, carbamatos e piretróides. A classificação quanto à toxicidade é baseada na Dose Letal 50 (DL50) por via oral, representada por miligramas do produto por quilo de peso vivo, necessárias para matar 50% de ratos e outros animais testes.

A classificação toxicológica realizada pela Organização Mundial da Saúde baseada na exposição oral (DL50), bem como a definição da cor dos rótulos, está apresentada no Quadro 1 (OPAS, 1997; WHO, 2009).

Quadro 1 - Classificação dos pesticidas por critério de riscos e cor da faixa do rótulo

<b>Classificação</b>	<b>DL 50 mg/Kg</b>	<b>Cor da faixa do rótulo</b>
I Extremamente tóxico	$\leq 5$	Vermelho
II Altamente tóxico	5 – 50	Amarela
III Mediamente tóxico	50-500	Azul
IV Pouco tóxico	500-5000	Verde

Fonte: OPAS, 1997; WHO, 2009.

Na saúde humana, o uso destes produtos sem a proteção necessária, pode causar alterações genéticas e possível desenvolvimento de alguns tipos de neoplasias (BHALLI et al., 2006).

A utilização de inseticidas também tem sido associada com a indução de má-formação congênita e redução de fertilidade em mulheres (HOUGAARD et al., 2008), aumento de aborto espontâneo, maturidade da placenta e baixo peso ao nascer (ACOSTA-MALDONADO et al., 2009), e, efeitos reprodutivos no homem (KOIFMAN; KOIFMAN,

2003; YUCRA et al., 2006; PERRY, 2008; RECIO-VEGA et al., 2008; CHOUDHARY et al., 2008). E recentemente, uso de inseticidas também tem sido associado ao aparecimento de doenças neurodegenerativas como Parkinson (JENNER, 2001; BHALLI et al., 2006; DHILLON et al., 2008) e Alzheimer (GAUTHIER et al., 2001; DOSUNMU et al., 2007; AISHWARYA, 2012).

Os inseticidas inibidores das enzimas colinesterases usados nos programas de combate a vetores estão listados no Quadro 2, conforme preconizado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2008).

Quadro 2 - Relação dos inseticidas inibidores da colinesterase, grupo químico, uso e programa padronizados pelo Ministério da Saúde – 2008

<b>Inseticida/formulação</b>	<b>Grupo Químico</b>	<b>Atividade</b>	<b>Programa</b>
Temefós G	Organofosforado	Uso como larvicida	Dengue
Malathion GT	Organofosforado	Uso como adulticida espacial (UBV)	Dengue/ Malária
Fenitrothion GT e PM	Organofosforado	Uso como adulticida residual e espacial (UBV)	Dengue/ Malária
Pirimifós metil CE	Organofosforado	Uso como adulticida espacial (UBV)	Dengue
Bendiocarb Carbaril Propoxur (PS/PM)	Carbamato	Uso em polvilhamento e pulverização	Leishmaniose Peste bubônica

Fonte: MS, 2008.

G= Granulado, GT = Grau Técnico, CE = Concentrado Emulsionável, PM = Pó Molhável, PS = Pó Seco.

Considerando a padronização de risco realizada pela Organização Mundial de Saúde, os inseticidas usados pelos programas de controle de vetores apresentam a classificação de risco conforme listada no Quadro 3.

Quadro 3 - Classificação de risco toxicológico dos inseticidas utilizados nos programas de controle de vetores, em Mato Grosso do Sul.

<b>Grupo químico</b>	<b>Inseticida/ Formulação</b>	<b>Classificação de risco</b>
Organofosforados	Temefós	III
	Malathion	III
	Fenitrothion	II
	Primidifósmetil	II
Carbamatos	Bendiocarb	II
	Carbaril	II
	Propoxur	II
Piretróides	Cipermetrina	II
	Deltametrina	III

Fonte: OPAS, 1997; WHO, 2009.

## 2.1 Organofosforados

Os compostos organofosforados são ésteres ou tiois derivados de ácidos fosfóricos, fosfônico, fosfínico ou fosforamídico, obtidos por diversos métodos de preparação. São utilizados largamente como inseticidas por apresentar as seguintes propriedades: forte atividade biológica associada a biodegradabilidade, com uma meia vida em plantas em torno de 2 a 10 dias, baixo custo, síntese fácil, baixa ação residual. Alguns compostos, como a ciclofosfamida e seus derivados podem ser utilizados na medicina oncológica como agentes antineoplásicos (SANTOS et al., 2007).

Devido a solubilidade destes compostos no tecido humano, os sinais clínicos da intoxicação podem ser desenvolvidos imediatamente ou tardiamente. Por exemplo, por inalação de vapores do produto, os primeiros sintomas aparecem em poucos minutos, enquanto que pela ingestão oral ou exposição dérmica pode haver um aparecimento tardio dos sintomas em até 48 horas. A exposição prolongada em doses baixas também pode levar a uma intoxicação aguda. As intoxicações ocupacionais são causadas pela via dérmica e respiratória (CALDAS, 2000; SANTOS et al., 2007; THUNDIYIL et al., 2008).

A toxicidade dos organofosforados está diretamente ligada com a sua biotransformação, devido a dessulfuração que é caracterizada pela transformação da ligação

P=S em P=O, substituição do enxofre pelo oxigênio, o que resulta num aumento acentuado da toxicidade do inseticida (CALDAS, 2000; SANTOS et al., 2007).

Os inseticidas utilizados no controle de vetores em Mato Grosso do Sul, pertencentes ao grupo organofosforados são: temefós, malathion e fenitrothion. A seguir serão listadas algumas características de cada um deles com a monografia (ANVISA, 2013).

### 2.1.1 Temefós

Nome químico: O,O,O',O'-tetrametil O,O'-tiodi -p-fenileno bis(fosforotioato) ou O,O,O',O'-tetrametil O,O'-tiodi-p-fenileno difosforotioato

Fórmula bruta: C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>P<sub>2</sub>S<sub>3</sub>

Classe: Inseticida, larvicida.

Classificação toxicológica: Classe III

Uso em campanhas de saúde pública: larvicida no tratamento focal da dengue

Granulado.....1,0% p/p

Concentrado emulsionável.....50,0% p/v

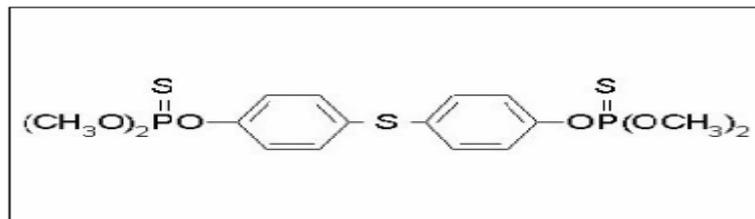


Figura 1 - Fórmula estrutural do temefós

Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>

### 2.1.2 Fenitrothion

Ingrediente ativo ou nome comum: FENITROTIONA (fenitrition)

Nome químico: O,O-dimetil O-(3-metil-4-nitrofenil fosforotionato)

Fórmula bruta: C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>5</sub>P

Classe: Inseticida

Classificação toxicológica: Classe II

Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,005 mg/kg p.c.

Uso em campanhas de saúde pública: aduicida em UBV espacial no controle do vetor da dengue.

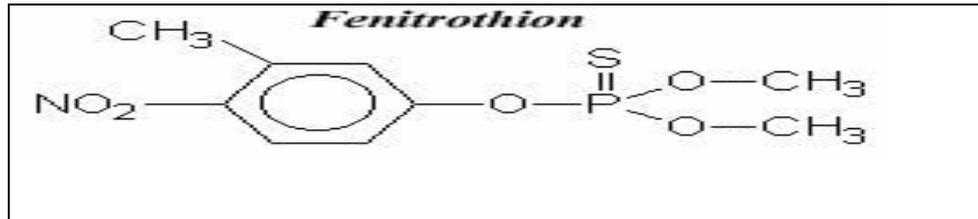


Figura 2 - Fórmula estrutural do fenitrothion

Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>

### 2.1.3 Malathion

Sinonímia: Carbofos; Mercaptothion; Maldison

Nome químico: dietil (dimetoxitiofosforiltiosuccinato)

Fórmula bruta:  $C_{10}H_{19}O_6PS_2$

Classe: Inseticida

Classificação toxicológica: III

Uso em campanhas de saúde pública: aduicida em UBV espacial no controle do vetor da dengue.

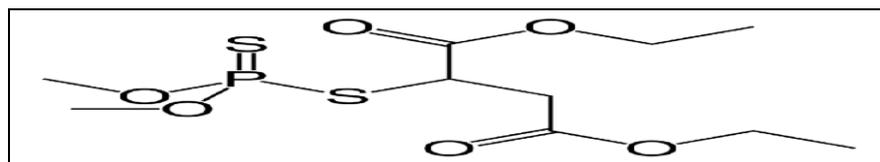


Figura 3 - Fórmula estrutural do malathion

Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>

## 2.2. Carbamatos

Os carbamatos fazem parte de um grande grupo de inseticidas sintéticos, derivados de ésteres do ácido carbâmico ( $\text{CH}_3\text{NO}_2$ ). São tóxicos aos seres humanos e aos animais, são bem absorvidos por inalação e via oral, e pouco absorvidos pela pele. Podem causar efeitos adversos ao sistema nervoso central e periférico, além de ações imunodepressoras e cancerígenas (WHO, 2008).

A fisiopatologia da intoxicação por carbamatos difere dos organofosforados em importantes aspectos. Os carbamatos inativam a acetilcolinesterase temporariamente, a enzima carbamida é instável e a regeneração da acetilcolinesterase é relativamente rápida quando comparada com a enzima fosforilada, portanto, causa uma inibição reversível. Porém, a exposição dérmica pode ser crítica em ambientes com temperaturas elevadas (BLACK; READ, 2013).

Os pesticidas do grupo carbamatos utilizados nos programas de saúde pública são: bendiocarbe e carbaril, especificados a seguir.

### 2.2.1 Bendiocarbe

Nome químico: 2,3-isopropilidenodioxifenil metilcarbamato

Fórmula bruta:  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_4$

Classificação toxicológica: II

Dosagem de emprego: 0,5 g de princípio ativo/m<sup>2</sup>

Uso em campanhas de saúde pública: pulverização de residências no combate a leishmaniose.

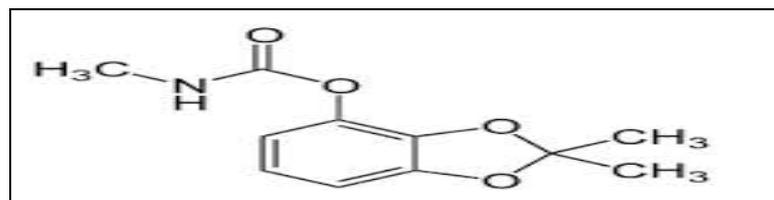


Figura 4 - Fórmula estrutural do bendiocarbe

Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>

### 2.2.2 Carbaril

Nome químico: 1-naftil metilcarbamato

Fórmula bruta:  $C_{12}H_{11}NO_2$

Classificação toxicológica: Classe II

Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,003 mg/kg p.c

Uso em campanhas de saúde pública: pulverização de residências no combate a leishmaniose

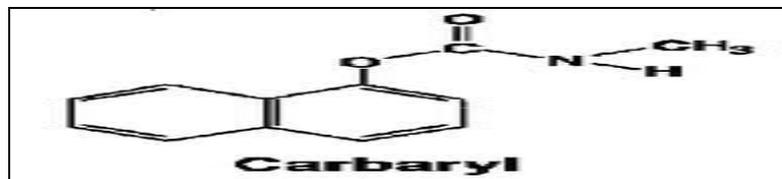


Figura 5 - Fórmula estrutural do carbaril.

Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>

### 2.3. Piretróides

Piretróides são compostos sintéticos que apresentam estruturas químicas semelhantes à piretrina, substância existente nas flores do crisântemo (*Pyrethrum*), atua sobre as membranas dos neurônios, alterando a condução dos impulsos nervosos. Sua molécula é biodegradável, não causando problemas de contaminação ambiental (USEPA, 1989, 2006).

Geralmente, a exposição aguda em humanos é resultante do procedimento de manipulação inadequado com contaminação da pele, agindo nos receptores dos canais de sódio das membranas das células nervosas, com consequente hiperexcitabilidade das mesmas. São metabolizados no fígado, e, seus metabólitos excretados lentamente pela bile e urina. Podem causar uma resposta alérgica na pele, câncer, e efeitos sobre o sistema reprodutivo e endócrino (GILBERT, 2012).

As manifestações clínicas são caracterizadas por reações alérgicas e cutâneas com os seguintes sintomas: dermatite, asma, rinite alérgica, eritema, prurido, pápulas e vesículas (CALDAS, 2000; THUNDIYIL et al., 2008).

Os piretróides usados no controle de vetores na saúde pública são a deltametrina e a cipermetrina, cujas características foram estabelecidas pela ANVISA e Organização Mundial de Saúde (WHO, 1989; WHO, 1990).

### 2.3.1 Deltametrina (WHO, 1990)

Nome químico: (S)- $\alpha$ -ciano-3-fenoxibenzil (1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)- 2,2-dimetilciclopropanecarboxilato

Fórmula bruta: C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>

Classe: inseticida

Classificação toxicológica: Classe III

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

Uso em campanhas de saúde pública: inseticida no combate a dengue.

Quadro 4 – Concentrações de deltametrina usadas nas campanhas de Saúde Pública.

Líquidos	10,0% p/p
Pós	0,2% p/p
Premido	0,5% p/p
Sólido e granulado	0,5 % p/p
Pronto uso	2,0% p/p
UBV	2,0% p/p

Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>

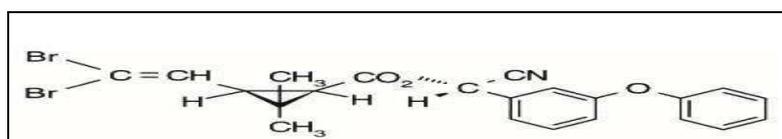


Figura 6 - Fórmula estrutural do inseticida deltametrina

Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>

### 2.3.2 Cipermetrina

Nome químico: (RS)- $\alpha$ -ciano-3-fenoxibenzil (1RS,3RS; 1RS,3SR)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato

Fórmula bruta:  $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$

Classificação toxicológica: Classe II

Classe: inseticida

Ingestão Diária Aceitável (IDA) = 0,05 mg/kg p.c.

Uso em campanhas de saúde pública: inseticida no combate a dengue.

Emprego autorizado na campanha de Saúde Pública: pó molhável, líquido ou solução, na concentração máxima permitida de 40% p/p e 30% p/v, respectivamente.

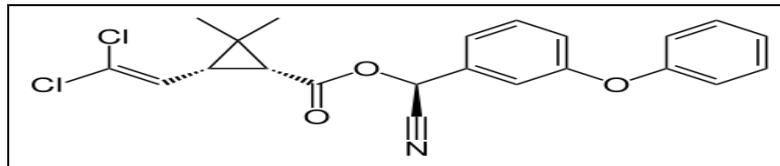


Figura 7 – Fórmula estrutural da cipermetrina

Fonte: <http://www.anvisa.gov.br>

### 2.4. Mecanismo de ação dos organofosforados e carbamatos

O mecanismo de ação dos organofosforados se caracteriza pela inibição irreversível da enzima acetilcolinesterase (AChE). Esta enzima tem a função de inativar rapidamente o neurotransmissor acetilcolina, promovendo sua hidrólise catalítica em acetato e colina. A acetilcolina é um neurotransmissor principal da placa motora do músculo esquelético, nas sinapses nervosas do sistema nervoso autônomo, nas sinapses pós-ganglionares dos neurônios parassimpáticos, e no sistema nervoso central (DHANANJAYAN et al., 2012; CASIDA et al., 2013).

A hidrólise da acetilcolina pela AChE ocorre pela transferência do grupo acetil para hidroxil serina. Os inseticidas organofosforados tem o mesmo mecanismo, fosforilando a

hidroxil serina; a enzima fosforilada regenera de maneira extremamente lenta, com uma meia vida de horas a dias, tornando a inibição irreversível diante da exposição constante (BLACK; READ, 2013).

Porém, a fisiopatologia da intoxicação por carbamatos difere dos organofosforados em um importante aspecto, os carbamatos inativam a colinesterase temporariamente, a enzima carbamilada é instável e a regeneração é relativamente rápida quando comparada com a enzima fosforilada pelos organofosforados, portanto, causa uma inibição reversível (BLACK; READ, 2013). Esta diferença na inibição das enzimas carbamilada e fosforilada foi definida por evidências cinéticas através de uma constante matemática, sem comprovação experimental *in vitro* (O'BRIEN et al., 1966; ORDENTLICH et al., 1996; OLIVEIRA-SILVA, 2003).

O mecanismo de inibição das colinesterases pelos inseticidas organofosforados e carbamatos envolve vários alvos. O primário é a inibição da atividade das colinesterases. Considerando que os efeitos inibidores colinérgicos podem variar entre os organismos e, em diferentes partes do cérebro, originando os alvos secundários. Os alvos secundários são não colinérgicos, representados pela inibição da BCHE e dos receptores da acetilcolina muscarínicos, caracterizando redução da pseudocolinesterase com ausência de sintomas muscarínicos (CASIDA; QUISTAD, 2004; FALUGI et al., 2011).

Uma terceira classe de substâncias colinérgicas são os inseticidas nicotinóides, que tem ação sobre o sistema neuromuscular, causando paralisia e posterior morte dos insetos (FALUGI et al., 2011).

A inibição da AChE provoca um acúmulo de acetilcolina nas sinapses nervosas, resultando numa super estimulação dos receptores colinérgicos, caracterizada pelo aparecimento dos seguintes sintomas: hipersalivação, excessiva secreção nasal, gastrointestinal e dos brônquios, miose, broncoconstrição, fasciculações musculares, tremores, paralisia neuromuscular e convulsões. A morte pode ocorrer por falhas na respiração que pode ser causada pela paralisia do diafragma e dos músculos intercostais. Estes sintomas podem ocorrer dentro de minutos quando a exposição for inalação moderada, porém, exposição cutânea pode levar várias horas (PEREIRA et al., 2009; GARBELLINI et al., 2011; BLACK; READ, 2013).

Entretanto, exposição repetida em baixas doses de pesticidas organofosforados e carbamatos, sob longo período de tempo, pode inibir a atividade das colinesterases, sem necessariamente, induzir o aparecimento de sintomas (KWONG, 2002).

A acetilcolina está envolvida em processos essenciais como psicológicos, cardiovascular, gastrointestinal, respiratório, neuromuscular, termorregulador, e, comportamental (GUYTON; HALL, 2006).

Evidências laboratoriais de estudos em animais têm mostrado que quando há inibição irreversível da AChE no cérebro, a toxicidade dos organofosforados também pode causar morte progressiva de célula neuronal, perda neural e degeneração axonal. Estes danos cerebrais desencadeiam déficits neuropsiquiátricos e neurológicos, caracterizando uma fase crônica, que pode ser iniciada após meses de exposição e persistir ao longo de vários anos (JOOSEN et al., 2009; CHEN, 2012).

## **2.5 Carcinogênese e mutação genética**

Os carcinógenos químicos são compostos eletrofílicos que atacam o núcleo de carga negativa do DNA, podendo causar mutações que, por sua vez, aparentemente iniciam uma cadeia de eventos que leva ao câncer. Para que uma célula cancerosa se produza, é necessária uma longa série de eventos capazes de agredir continuamente o DNA celular. Portanto, a exposição a agrotóxicos é uma condição potencialmente associada ao desenvolvimento do câncer, por sua possível capacidade de alterar o DNA de uma célula ou estimular a célula alterada a se dividir (KOIFMAN et al., 2003).

A presença de resíduos de pesticidas organofosforados no organismo humano pode resultar no desenvolvimento de câncer, devido à capacidade destes produtos induzirem mutações, alterações cromossômicas e lesões ao DNA. A ocorrência destas lesões pode ser devido a dois mecanismos de ação, a ocorrência da quebra das fitas simples e dupla, e, ligações cruzadas DNA-DNA e DNA-proteína (adutos). Estes adutos são provenientes da ligação covalente das moléculas eletrofílicas, no caso os organofosforados, ao DNA, podendo ocasionar mutações genéticas e carcinogênese (GARBELLINI et al., 2011; MOHANTY et al., 2011).

O outro mecanismo é a indução do estresse oxidativo, pois, inibem ou diminui as enzimas de defesa antioxidante presentes no organismo, com conseqüente aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio causando lesões no DNA (GARBELLINI et al., 2011).

Considerando que os efeitos genotóxicos decorrentes da exposição a pesticidas são fatores primários para carcinogênese, seu monitoramento torna-se de grande utilidade para avaliação de populações expostas (BOLOGNESI et al., 2011; PAIVA et al., 2011; KHAYAT et al., 2013).

Para avaliação dos efeitos genotóxicos em trabalhadores ocupacionalmente expostos a pesticidas, usa-se biomarcadores genéticos, tais como: ensaios de micronúcleos (MN) em células do epitélio oral, e teste cometa em sangue periférico, para avaliar os danos no DNA, que são medidos através do comprimento da cauda, com cálculo de percentuais da cauda (% DNA), do momento da cauda verde (MCV) e do momento da cauda (MC) do DNA (BHALLI et al., 2006; REMOR et al., 2009; BORTOLI et al., 2009; GOMEZ-ARROYO et al., 2011; KHAYAT et al., 2013).

Micronúcleos são fragmentos do cromossoma ou cromossomas inteiros acêntricos deixados para trás durante a divisão celular, e aparecem no citoplasma das células como pequenos núcleos adicionais (REMOR et al., 2009).

Vários estudos tem validado estes testes para avaliação de danos genéticos, tanto em modelos animais como em seres humanos. Khayat et al. (2013) avaliaram os danos no DNA em trabalhadores da região de Goiás, ocupacionalmente expostos a pesticidas e encontraram os MN e células binucleadas aumentados em 8 vezes ( $p < 0,05$ ) em relação a um grupo controle. No teste cometa houve diferença significativa nos três parâmetros (% DNA, MCV e MC), indicando que os trabalhadores rurais apresentaram altos níveis de danos do genoma.

No Rio Grande do Sul, Remor et al. (2009) encontraram alto índice ( $p \leq 0,001$ ) e frequência ( $p \leq 0,05$ ) de danos no DNA pelo teste de cometa, e, nenhuma alteração de MN, em trabalhadores rurais expostos a vários tipos de pesticidas, nos municípios de Erechim e Ijuí.

No Rio Grande do Norte, município de Touros, Nagen (2013) encontrou frequência aumentada de micronúcleos e anormalidades nucleares em 54 agricultores comparados com um grupo controle.

Em Belo Horizonte, MG, Kehdy et al. (2007), em estudo sobre efeitos citogenéticos em agentes de controle de endemias, concluíram que a exposição ocupacional a inseticidas desenvolveu efeitos citogenéticos e genotóxicos nestes trabalhadores da saúde pública.

Em Costa Rica, Cuenca e Ramirez (2004) realizaram um estudo de caso e controle em mulheres trabalhadoras em plantas empacotadoras de banana, para avaliar a frequência de aberrações cromossômicas em linfócitos. Encontraram as seguintes alterações: fragmentos

acêntricos, cromossomos dicêntricos, anéis e fraturas cromossômicas, com diferenças significativas entre as trabalhadoras expostas (16% de 1000 células) e não expostas (6% de 1000 células). Concluindo que a exposição ocupacional a pesticidas causam danos ao material genético.

Gentile et al. (2012), em um estudo de caso controle de exposição ocupacional a pesticidas, com uma amostra de trabalhadores rurais, em Córdoba, encontraram diferenças estatisticamente significativa ( $p < 0,005$ , teste  $t$  Student) na frequência de micronúcleos entre os dois grupos:  $7,20 \pm 1,55$  e  $15,15 \pm 5,10$  para o grupo referência e exposto, respectivamente. Concluíram que o ensaio de micronúcleos é um biomarcador de genotoxicidade, que permite uma detecção precoce na população exposta a risco de ter danos genéticos, permitindo implementação de estratégias de prevenção.

Rambabu e Kaiser (2007) concluíram em seu estudo que a exposição ocupacional a misturas de pesticidas dos grupos organofosforados, carbamatos e piretróides, resultam em um significativo aumento nos níveis de danos do DNA.

Estes danos genéticos podem ser reversíveis, e, tem sido comprovado através de vários estudos experimentais em diferentes espécies de peixes (*Tilapia rendalli*, *Labeo rohita*), demonstrando que os danos no DNA causado por pesticidas do grupo organofosforados, podem ser recuperados quando transportados para águas livres destes poluentes (LEMOS et al., 2005; MOHANTY et al., 2011).

Estudos epidemiológicos para associação entre a exposição aos agrotóxicos e os efeitos teratogênicos com comprometimento dos sistemas nervoso, musculoesquelético, geniturinário, gastrointestinal e cardíaco tem sido realizados em várias regiões do mundo, porém não são conclusivos (LACASAÑA et al., 2006; RULL et al., 2006; CASTRO et al., 2006; FEAR et al., 2007; WESELAK et al., 2008; BRENDER et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2010).

Diversos estudos epidemiológicos realizados no Brasil e no mundo mostram associações entre a exposição a agentes químicos, inclusive pesticidas, e o desenvolvimento de câncer em diferentes localizações anatômicas e faixas etárias, sobretudo em populações expostas (KOIFMAN et al., 2003; JAMIL et al., 2006; INCA, 2010; CHAGAS et al., 2013).

No Brasil, em Petrolina, no Vale do São Francisco, foi realizado um estudo de caso-controle, que encontrou associação entre defeitos congênitos nos filhos com a moradia nas proximidades do cultivo e a atividade ocupacional de pelo menos um dos genitores na agricultura (SILVA et al., 2011).

Há poucos estudos relatando efeitos adversos de pesticidas em testes com anfíbios. Bachetta et al. (2008) demonstraram que carbaril é teratogênico para embriões de *Xenopus laevis* (sapo), cujo alvo foi a flexibilidade anormal da calda.

Tumores hematológicos e, sobretudo, os linfomas não-Hodgkin tem sido umas das principais neoplasias descritas na literatura com associação à exposição ocupacional prolongada a agrotóxicos em diversos países como a Itália (CONSTANTINI et al., 2001), Estados Unidos (FLEMING et al., 2003), na França (ORSI et al., 2009), no Brasil (BOCCOLINI, 2010; MOREIRA et al., 2010), entre outros.

Silva et al. (2007), em um estudo epidemiológico de caso-controle, composto por 149 casos e 162 controles, concluíram que os trabalhadores que declararam ter tido exposição a agrotóxicos apresentaram um risco de quase quatro vezes maior para o desenvolvimento de cânceres hematológicos, como linfomas, leucemias e mieloma múltiplo, em relação àqueles que não declararam exposição.

O câncer provocado por exposições ocupacionais geralmente atinge regiões do corpo que estão em contato direto com as substâncias cancerígenas, seja durante a fase de absorção (pele, aparelho respiratório) ou de excreção (aparelho urinário). O que explica a maior frequência de câncer de pulmão, pele e bexiga nesse tipo de exposição (BEANE FREEMAN et al., 2005; RUSIECKI et al., 2009; INCA, 2010).

Dentre os inseticidas usados na saúde pública, estudos com resultados positivos para genotoxicidade foram observados para permetrina *in vitro* (UNDEGER; BASARAN, 2005), metamidafós *in vivo* (KARABAY; OGUZ, 2005), deltametrina *in vitro e in vivo* (CHAUHAN et al., 2007), cipermetrina *in vivo* (MAÑAS et al., 2009), temefós e malation em estudo de caso controle com agentes de controle de endemias (SINGH et al., 2011).

## 2.6 Reprodução

Estudos com pesticidas organofosforados tem mostrado um efeito prejudicial sobre a saúde reprodutiva dos seres humanos e animais selvagens. Esses compostos tem demonstrado que são capazes de interferir na síntese e na ação de hormônios naturais, atuando como desreguladores endócrinos afetando os sistemas reprodutivos (LACASAÑA et al., 2006; GIBSON; KOIFMAN, 2008; DUCOLOMB et al., 2009).

Ducolomb et al. (2009) avaliaram a viabilidade de oocistos, fertilização e desenvolvimento de embriões de suínos com diferentes concentrações de malation e diazinon. Os resultados mostraram que o malation apresentou maior toxicidade que o diazinon, produzindo deficiências na fertilização *in vitro* e no desenvolvimento do embrião.

Os inseticidas organofosforados também atravessam a barreira placentária. Bonilla et al. (2008) comprovaram a alteração da expressão genética durante a oogênese de fetos de ratos *in vitro*.

Chitra et al. (2011) demonstraram os efeitos adversos do carbaril sobre o declínio da contagem de esperma em ratos. Cakici e Akat (2012) relataram que carbaril causou significativas alterações histopatológicas no tecido testicular em lagarto (*Ophisops elegans*).

Luana et al. (2009) relataram que o paraquat inibe a produção de testosterona e 17- $\beta$  estradiol em gônadas de anfíbios. Hayes et al. (2010) afirmaram que os anfíbios machos expostos à atrazina desenvolveu problemas em seu sistema reprodutivo, transformando anfíbios masculino em totalmente feminizado quando chegam na idade adulta.

Ozlem (2013) estudou os efeitos de diferentes concentrações de carbaril sobre tecidos testiculares e elucidou o possível efeito adverso sobre espermatogênese e fertilidade masculina em *Pelophylax bedriagae* (*sapo*).

## 2.7 Colinesterase

Colinesterase é um grupo de enzimas responsáveis pela hidrólise da acetilcolina, presente nas sinapses, com a função de mediadora química da transmissão de impulsos nervosos através de fibras pré-ganglionares parassimpáticas e pós-ganglionares simpáticas (TAYLOR, 2003; PERES et al., 2003).

A colinesterase se classifica em dois tipos com diferentes propriedades bioquímicas, acetilcolinesterase e pseudocolinesterase. A acetilcolinesterase (AChE), também chamada de colinesterase verdadeira, é produzida durante a hematopoese, no tecido nervoso e nos músculos estriados e exerce maior importância na destruição da acetilcolina nas sinapses nervosas. A pseudocolinesterase inespecífica ou butirilcolinesterase (BChE) é uma  $\beta$ -glicoproteína que está presente em vários órgãos, principalmente no fígado, no plasma, pâncreas e no intestino delgado e em menor concentração no sistema nervoso central e

periférico. Tem baixa afinidade pela acetilcolina e não é inibida por altas concentrações de acetilcolina (DIMOV et al., 2012; SANTARPIA et al., 2013).

A BChE pode apresentar a atividade aumentada em indivíduos que apresentam: obesidade, diabetes, hipertireoidismo, uremia e hiperlipidemia (SANTARPIA et al., 2013). E pode ser diminuída por mutações genéticas existentes em alguns indivíduos. Estas alterações no gene determinam enzimas com ausência de atividade ou atividade menor que 10% do nível médio, caracterizando fenótipo silencioso. Estudos relatam que existem em torno de setenta diferentes mutações do gene da BChE, porém, muitos deles são raros.

Estudos mostram que indivíduos que apresentam os genes da BChE anormal são mais sensíveis aos efeitos tóxicos dos organofosforados, logo, não devem ter atividade com exposição a estes compostos (TIMOTHY et al., 2010; DIMOV et al., 2012).

Mikami et al. (2008) identificaram 5 novas ocorrências de mutações do gene da BChE e frequência de 12 alelos da butirilcolinesterase, em amostras de 366 doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia, Curitiba, PR .

Baixos níveis de BChE também são encontrados em patologias do fígado, tais como hepatites, cirrose, metástases; na desnutrição, stress e nas inflamações agudas e crônicas (VENKATA et al., 2011; LAMPÓN et al., 2012; SANTARPIA et al., 2013). Também são incluídos como fatores interferentes para redução desta enzima, a gravidez e algumas drogas como atropina, cafeína, codeína, estrogênios, sulfato de morfina, neostigmina, anticoncepcionais orais, fenotiazinas, teofilina, quinidina, esteróides e vitamina K (RIBEIRO; MELLA, 2007).

Essas duas enzimas apresentam meias-vidas diferentes, ou seja, três meses para a AChE e cerca de uma semana para a BChE. Baseada, nesta diferença, é possível identificar temporalmente as intoxicações agudas por inseticidas dos grupos carbamatos e organofosforados, em exposição recente e crônica (RIBEIRO; MELLA, 2007).

Os inseticidas do grupo carbamatos e organofosforados são inibidores das colinesterases, sendo a plasmática (BChE) um biomarcador de exposição recente e a acetilcolinesterase eritrocitária (AChE) um biomarcador de exposição crônica a esses inseticidas (LOTTI, 2001). Porém, há diferenças entre estes dois grupos, os inseticidas organofosforados provocam uma inibição irreversível, atuando no sítio ativo da acetilcolina, e deixam resíduos no ambiente; já, os carbamatos provocam uma inibição reversível, pois, competem com o substrato da acetilcolina, e, deixam pequenas moléculas inorgânicas no ambiente (FISCHEL, 2008).

## 2.8 Manifestações Clínicas

Exposição a pesticidas inibidores das colinesterases leva ao acúmulo de acetilcolina nas sinapses, causando excessiva estimulação dos receptores muscarínicos e nicotínicos com produção dos seguintes sintomas: náuseas, broncoconstrição, sialorréia, hipertensão e tremores, afetando o sistema nervoso central (STEFANIDOU et al., 2009; JINTANA et al., 2009).

Estas manifestações clínicas podem variar de acordo com o grupo químico do inseticida usado, a via de exposição, o tempo de exposição, e com a idade e estado de saúde do indivíduo exposto (CHEN, 2012).

Vários estudos, em grupos expostos ocupacionalmente a pesticidas dos grupos organofosforados, carbamatos e piretróides, têm mostrado efeitos adversos à saúde, agudos e crônicos. Efeitos agudos como irritação dos olhos, dificuldade na digestão, dor de cabeça, cansaço, dor de estômago, hipertensão arterial, sonolência, falta de apetite, irritação, tonturas, e sangramento nasal foram descritos por Rambabu e Kaiser (2007), nos agricultores expostos a mistura destes três grupos de pesticidas na Índia.

Estudo de caso em uma mulher com exposição esporádica a uma variedade de organofosforados, de 1 a 2 vezes por ano, ao longo de 30 anos, usando macacão branco e luvas de borracha como proteção individual, desenvolveu ataxia sensorial e apresentava o fenótipo anormal da BChE caracterizando efeitos crônicos associados a doses baixas (LITTLE et al., 2010).

Sintomas respiratórios tais como tosse crônica, coriza nasal, dor no peito, bronquite, sinusite, asma e alergia respiratória, têm sido relatados em trabalhadores rurais expostos a organofosforados e carbamatos, na Índia (CHAKRABORTY et al., 2009; PATHAK et al., 2013) na Espanha (HERNANDEZ et al., 2008).

Intoxicações por pesticidas podem provocar diminuição das defesas imunológicas, anemia, impotência sexual, cefaléia, insônia, alterações de pressão arterial, distúrbios de comportamento, e, dependendo do grau de severidade pode levar a depressão e suicídio (PIRES et al., 2005; SOUZA et al., 2011).

A intoxicação por inibidores da colinesterase tem um quadro clínico característico de hiperestimulação colinérgica, afetando vários sistemas e órgãos, conforme relacionado por Caldas (2000), e Thundiyil et al. (2008), no Quadro 5.

Quadro 5 – Quadro clínico desenvolvido por inseticidas anticolinesterásicos.

<b>Tecidos nervosos e receptores afetados</b>	<b>Locais afetados</b>	<b>Manifestações</b>
Fibras nervosas pós-ganglionares parassimpáticas (Receptores Muscarínicos)	Glândulas Exócrinas  Olhos  Trato Gastrointestinal  Trato Respiratório  Sistema Cardiovascular Bexiga	Sialorréia, lacrimejamento, sudorese  Miose, ptose palpebral, borramento de visão, hiperemia conjuntival.  Náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, tenesmo, constipação  Hipersecreção brônquica, rinorréia, broncoespasmo, dispnéia, tosse, cianose.  Bradycardia, hipotensão.  Incontinência urinária
Fibras pré-ganglionares simpáticas e parassimpáticas (Receptores Nicotínicos I)	Sistema cardiovascular	Taquicardia, hipertensão, palidez, hipotensão, dor no peito.
Nervos motores somáticos (Receptores Nicotínicos II)	Músculos esqueléticos	Fasciculações, câimbras, diminuição de reflexos tendinosos, fraqueza muscular generalizada, paralisia, tremores.
Cérebro (Receptores de Acetilcolina)	Sistema Nervoso Central - S.N.C.	Sonolência, letargia, fadiga, labilidade emocional, confusão mental, perda de concentração, cefaléia, coma com ausência de reflexos, ataxia, tremores, respiração Cheyne-Stokes, dispnéia, convulsões, depressão dos centros respiratório e cardiovascular

Fonte: Caldas, 2000; Thundiyil et al., 2008.

## 2.9 Agentes de controle de endemias

O agente de controle de endemias (ACE) tem como atribuição o exercício de atividades de vigilância, prevenção, controle de doenças e promoção da saúde, desenvolvidas em conformidade com as diretrizes do SUS e sob supervisão do gestor de cada ente federado (BRASIL, 2006).

No Brasil, até o ano de 2000, a atividade de controle de vetores era executada pela FUNASA com equipes de ACE específicas para cada doença, com gestão centralizada. Com a criação do Plano de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa), em 1996 incorporou-se novas práticas e conceitos da erradicação e também princípios do SUS, como a descentralização da política e das ações de controle do vetor para Estados e Municípios (FUNASA, 2001).

Através da Instrução Normativa nº 3, de 17 de julho de 2000/FUNASA, o Ministério da Saúde estabelece os procedimentos para cedência dos servidores que executavam as atividades relacionadas às ações de controle de doenças transmitidas por vetores aos Estados, Distrito Federal e Municípios (BRASIL, 2000).

Os ACE são servidores municipais que atuam no controle de vetores nos programas de combate a dengue, leishmaniose, malária, e febre amarela. No programa da Dengue, os ACE são responsáveis por uma zona fixa de 800 a 1.000 imóveis, visitados em ciclos bimensais nos municípios infestados por *Aedes aegypti*. Eles têm como obrigação básica de descobrir focos, destruir e evitar a formação de criadouros, impedir reprodução de focos e orientar a comunidade com ações educativas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

Os ACE devem visitar 20 a 25 imóveis por dia, em uma carga horária de 8 horas. Durante estas inspeções residenciais, o combate ao vetor da dengue pode ser com aplicação de inseticidas, através do tratamento focal (FIGURA 8), perifocal (FIGURA 9), e da aspersão aeroespacial (FIGURA 10) de inseticidas em ultra baixo volume (UBV). Tratamento focal consiste na aplicação do larvicida nos depósitos positivos que não for possível eliminar mecanicamente; usa-se o temefós granulado a 1%. O tratamento perifocal consiste na aplicação do inseticida por meio de aspersor manual, sendo indicado para localidades recém infestadas, como medida complementar do tratamento focal, ex: depósito de sucatas, pneus, ferro velho. Os inseticidas utilizados são os do grupo Piretróides, cipermetrina, e deltametrina. E o tratamento UBV consiste na aplicação espacial de inseticidas a baixíssimo volume, com uso restrito no combate a epidemia, para promover uma rápida interrupção da transmissão; pode ser portátil ou motorizado; os inseticidas utilizados são do grupo organofosforados:

temefós, malathion e fenitrothion para o combate ao vetor da dengue, e, carbamatos para o vetor da leishmaniose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

De acordo com o manual de normas técnicas da FUNASA (2001), as atividades de controle de vetores dos ACE são padronizadas conforme Quadro 6.

QUADRO 6 – Parâmetros sugeridos de rendimento médio preconizado para atividades de controle de vetores.

<b>ATIVIDADES - COMBATE A DENGUE</b>	<b>RENDIMENTO MÉDIO</b>
Levantamento de índice	20 a 25 imóveis/agente/dia
Tratamento focal	20 a 25 imóveis/agente/dia
Delimitação de foco	15 imóveis/agente/dia
Pesquisa em pontos estratégicos	15 pontos estratégicos/agente/dia
Pesquisa em armadilhas	30 armadilhas/agente/dia
UBV – equipamento acoplado em veículo	80 a 160 quarteirões/máquina/dia
UBV – portátil extradomiciliar	25 quarteirões/dupla de agentes/dia
UBV – intradomiciliar e peridomiciliar	70 imóveis/agente/dia

Fonte: FUNASA/MS, 2001.

O combate ao vetor da leishmaniose é realizado em duas etapas: de exposição que ocorre no período de janeiro a junho, e, ausência de exposição, quando os ACE realizam vacinação e coleta de sangue dos cães, no período de julho a dezembro.

A meta para pulverização é de 100 casas por mês, com borrifamento na parede interna e teto das residências através de bomba de pressão, carregada no ombro (FIGURA 11). A região do município para realizar o combate ao vetor da leishmaniose é definida por critérios epidemiológicos, de acordo com o número de casos humanos nos últimos três anos.

Em Mato Grosso do Sul, os municípios considerados endêmicos para Leishmaniose são: Campo Grande, Três Lagoas e Corumbá.

Diante da atividade anticolinesterásica que os inseticidas carbamatos e organofosforados apresentam, é obrigatória a dosagem periódica das enzimas colinesterases nos ACE. A periodicidade deste monitoramento foi estabelecida pelo Ministério da Saúde

através da Nota Técnica nº. 165, de 23 de junho de 2008/CGLAB/SVS/Ministério da Saúde (QUADRO 7), logo, os ACE em Mato Grosso do Sul, na maioria dos municípios, ficaram com uma avaliação periódica semestral, desde a migração da atividade de controle de vetores da FUNASA em 2000 até 2008. Esta dosagem era uma análise de campo, realizada por técnicos de nível médio da FUNASA, que se deslocavam para os municípios no estado.

Quadro 7 – Relação dos inseticidas inibidores da colinesterase sanguínea e periodicidade de monitoramento.

<b>Inseticida/formulação</b>	<b>Atividade</b>	<b>Periodicidade</b>
Temefós G	Uso como larvicida	Quatro meses
Malathion GT	Uso como adulticida espacial (UBV)	UBV – 30 dias
Fenitrothion GT e PM	Uso como adulticida residual e espacial (UBV)	UBV – 30 dias Residual: 60 dias
Pirimifós metil CE	Uso como adulticida espacial (UBV)	UBV – 30 dias
Bendiocarb Carbaril Propoxur (PS/PM)	Uso em polvilhamento e pulverização	60 dias

Fonte: MS, 2008.

G= Granulado, GT = Grau Técnico, CE = Concentrado Emulsionável, PM = Pó Molhável, PS = Pó Seco.

Contribuindo para o aumento da exposição, em 2011 e 2012 a incidência da dengue em MS foi alta, com 652,6 e 666,2 casos por 100.000 habitantes, teve 15.689, e, 15.506 casos notificados, respectivamente e foram estabelecidos vinte municípios prioritários para o combate do vetor da dengue: Anastácio, Aquidauana, Bataguassu, Bonito, Campo Grande, Cassilândia, Corumbá, Coxim, Dourados, Ivinhema, Jardim, Naviraí, Nova Alvorada do Sul, Nova Andradina, Paranaíba, Ponta Porã, Rio Verde de Mato Grosso, São Gabriel do Oeste, Sidrolândia e Três Lagoas (SES/MS, 2011, 2012).

Diante do risco que esta atividade oferece na preparação do inseticida e pulverização, é preconizado o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), para proteger o contato

com a pele e olhos, e, devem ser fornecidos pela instituição responsável pela operação. Os EPI recomendados são: uniforme com mangas longas, máscara com filtro, óculos, capacete, luvas e botas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).



Figura 8 - Tratamento focal  
Fonte: [www.campograndenews.com.br](http://www.campograndenews.com.br)



Figura 9 – Tratamento UBV portátil  
Fonte: [www.campograndenews.com.br](http://www.campograndenews.com.br)



Figura 10 – UBV motorizado  
Fonte: [www.capital.ms.gov.br](http://www.capital.ms.gov.br)



Figura 11 – Pulverização no combate ao vetor da Leishmaniose.  
Fonte: FUNASA, 2000.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar a exposição ocupacional a inseticidas anticolinesterásicos nos agentes de controle de endemias que atuam na Saúde Pública, do Estado de Mato Grosso do Sul.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Traçar o perfil epidemiológico dos agentes de controle de endemias no Estado de Mato Grosso do Sul.
- Estabelecer valores de referência para AChE e BChE, através de um grupo controle com ausência de exposição.
- Avaliar a exposição dos agentes de controle de endemias do município de Campo Grande, que atuam no programa da leishmaniose, através da determinação da atividade inicial.
- Estimar a prevalência de intoxicação aguda por exposição a inseticidas, através da dosagem da atividade das enzimas colinesterase plasmática e eritrocitária, nos agentes de controle de endemias de MS, com a utilização da matriz para definição de caso padronizada pela OMS.
- Quantificar o tempo de exposição dos agentes de controle de endemia aos inseticidas anticolinesterásicos.
- Verificar a utilização de equipamentos de proteção individual durante aplicação dos inseticidas.

## 4 MATERIAS E MÉTODO

### 4.1 Tipo de estudo

Estudo Epidemiológico Transversal Analítico, com o objetivo de avaliar a exposição ocupacional a inseticidas, dos agentes de controle de endemias do Estado de Mato Grosso do Sul, no período de 2011 e 2012.

### 4.2 Grupos populacionais estudados

O estado de Mato Grosso do Sul atualmente é constituído por 79 municípios que estão classificados em 11 microrregiões (FIGURA 12), e, estas agrupadas em quatro macrorregiões (FIGURA 13).

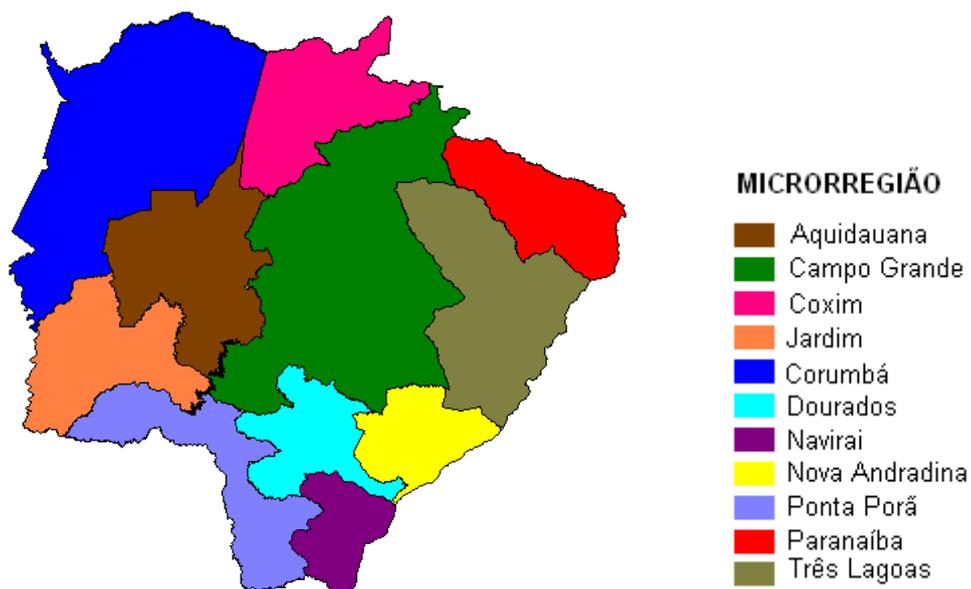


Figura 12 - Distribuição das 11 microrregiões

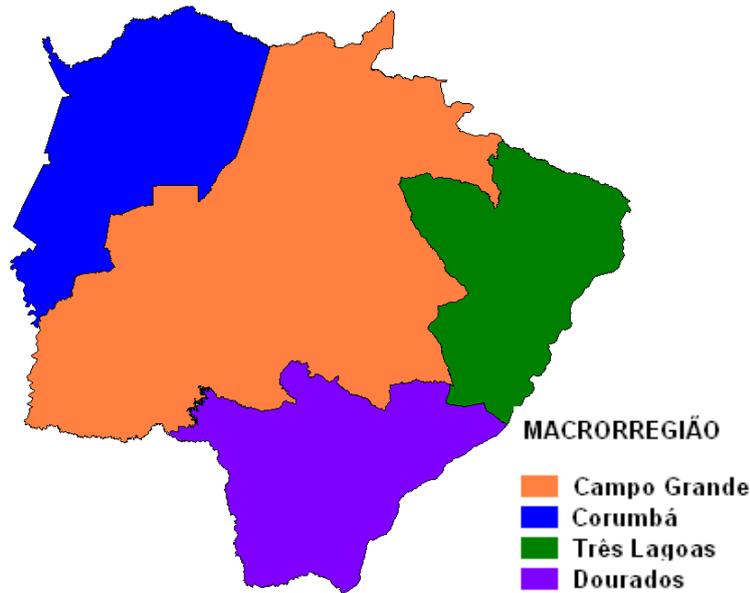


Figura 13 – Distribuição dos municípios de MS em quatro Macrorregiões.

Durante o período da realização da pesquisa (2011-2012) o estado tinha 78 municípios, dos quais, apenas 67 (85,90%) participaram do estudo, e o total de ACE no controle de vetores eram 900, e 88,89% (800) fizeram parte da pesquisa.

A distribuição das onze microrregiões com seus respectivos número de ACE atuantes no controle e combate de vetores, estão demonstrados na Tabela 1, verificou-se que 11 municípios (14,10%) não participaram do estudo.

Para avaliação da exposição dos agentes de controle de endemias (ACE) do estado foi estabelecido um valor de referência a partir de um grupo controle composto por uma amostra não probabilística por cotas, com 93 agentes, calculada a partir da população de 800 ACE, pelo programa Surveysystem, com prevalência de 10%, margem de erro de 4%, intervalo de confiança de 95%, selecionada a partir dos seguintes critérios de inclusão: ser agente de controle de endemias dos programas de controle de vetores das secretarias municipais de Saúde, manipular inseticidas do grupo químico organofosforados (temefós) e carbamatos (bendiocarb), apresentar ausência de exposição aos inseticidas anticolinesterásicos com no mínimo de 90 dias ou estar no processo admissional, ser funcionário com vínculo temporário ou permanente. Não participaram deste grupo os ACE que manipulavam inseticidas do grupo piretróide (deltametrina), e, não apresentavam o período de ausência de exposição.

Tabela 1 – Distribuição do número de agentes de controle de endemias participantes do estudo e municípios que não fizeram parte da pesquisa, de acordo com macro e microrregião, Mato Grosso do Sul - 2011 a 2012

<b>Macrorregião</b>	<b>Microrregião</b>	<b>Nº total de agentes</b>	<b>Municípios que não participaram</b>
Corumbá	Corumbá	45	–
Três Lagoas	Paranaíba	62	–
	Três Lagoas	115	Selvília
Dourados	Ponta Porã	64	–
	Nova Andradina	33	Novo Horizonte do Sul
	Naviraí	59	Nova Andradina
	Dourados	88	Japorã
Campo Grande	Aquidauana	69	Jateí
	Coxim	45	–
	Jardim	47	–
	Campo Grande	173	Caracol
			Corguinho, Costa Rica, Rochedo, Figueirão, Rio Negro
<b>Total</b>		<b>800</b>	<b>11 municípios</b>

#### 4.3 Delineamento do estudo

A avaliação da exposição dos ACE foi realizada pela aplicação de um questionário, elaboração do valor de referência através de um grupo controle, determinação da atividade inicial dos ACE do programa da leishmaniose, no município de Campo Grande, determinação da colinesterase plasmática e eritrocitária, determinação do índice de inibição, e da prevalência de intoxicação aguda.

O questionário foi construído de acordo com as orientações do Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos, OPAS/OMS, 1997, e avaliou as seguintes variáveis (APÊNDICE A):

- Sócio demográfico: idade, sexo, escolaridade, estado civil, município de atuação.

- De exposição: formas de contato com agrotóxicos de acordo com a função, tempo de exposição, número de aplicações por mês, uso de equipamentos de proteção individual (EPI).
- Relacionadas ao agrotóxico: nome do produto, princípio ativo, concentração do produto aplicado e classificação segundo grupo químico.
- Relacionadas com as manifestações clínicas: tipo de manifestações clínicas e percepção da relação entre os sintomas e aplicação do agrotóxico.

A participação do grupo exposto no estudo obedeceu aos seguintes critérios de inclusão: ser ACE dos programas de combate ao vetor da dengue e da leishmaniose do estado; manipular inseticidas dos grupos organofosforados, carbamatos e piretróide; realizar tratamento focal, pulverização intradomiciliar e peridomiciliar, e UBV espacial motorizada; ser cedido da FUNASA ou contratado pelo município; pertencer tanto ao sexo masculino e feminino. Foram excluídos do estudo os ACE que não aceitaram fazer parte do estudo.

O percentual de inibição foi avaliado de acordo com os critérios estabelecidos pela Nota Técnica nº 165/2008/ Ministério da Saúde, a qual define que o percentual de inibição  $\leq$  a 25% é aceitável, e resultados alterados ( $>25\%$ ) deverão ser repetidos. Confirmada a alteração, o trabalhador deve ser afastado da atividade de aplicação de inseticidas por 15 dias. O ACE somente retornará nas suas atividades anteriores quando obtiver um resultado normal (BRASIL, 2008).

Para determinação da prevalência de intoxicação aguda foram utilizados os critérios estabelecidos pela matriz de definição de caso padronizada pela Organização Mundial de Saúde. Esta matriz é dividida em 3 categorias, de exposição, efeitos na saúde e causalidade. Para definição de um provável caso, é necessário encontrar pelo menos um critério em cada categoria. Neste estudo foram estabelecidos os seguintes critérios, combinação da inibição das enzimas colinesterases acima de 25%, com a presença de 3 ou mais sintomas compatíveis com exposição a inseticidas e conhecimento da exposição a inseticidas anticolinesterásicos (THUNDIYIL et al., 2008).

O padrão ouro para avaliação da exposição a pesticidas anticolinesterásicos deve ser realizado pela determinação da atividade inicial de cada trabalhador. Nos ACE do programa de combate à leishmaniose, no município de Campo Grande, foi realizada a determinação da atividade inicial individual, pois, estes ACE têm suas atividades divididas em duas fases, exposição caracterizada pela pulverização do inseticida, e ausência de exposição quando

atuam na coleta de sangue e vacinação de cães. Portanto, as dosagens de acetilcolinesterase eritrocitária e butirilcolinesterase plasmática foram realizadas nestes dois momentos, sendo que a determinação do valor da atividade inicial de cada ACE foi realizada após um período de ausência de exposição ao inseticida de 150 dias.

#### **4.4 Coleta e processamento das amostras**

À coordenação de controle de vetores de cada município foi enviado um ofício com o cronograma de coleta mensal, anexado o questionário, o termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE B), o procedimento sobre a coleta da amostra (APÊNDICE C) e os tubos contendo solução de fosfato 0,02M, pH 7,6.

A coleta de amostras de sangue para análise toxicológica dos níveis de atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária foi realizada pelos laboratórios públicos municipais, em tubo de vacutainer heparinizado e centrifugada para a separação do plasma e hemácias. Em um tubo contendo 4,5 mL de tampão fosfato de lise (0,02M, pH 7,6) foi adicionado 0,5 mL de hemácia e congelado imediatamente a - 20°C. O transporte do plasma e solução tampão de hemácias congelados foi realizado em caixa isotérmica com gelox, para o Laboratório Central de Saúde Pública Estadual, localizado em Campo Grande, MS, onde foi realizada a dosagem das enzimas em duplicata, no prazo máximo de 3 dias após a coleta, pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Ellman et al. (1961), modificado por Oliveira-Silva et al. (2000), utilizando o equipamento Cary 50, marca Varian, leitura no comprimento de onda de 412 nm. Os resultados dos ACE que apresentaram as atividades das enzimas diminuídas foram confirmados através da solicitação de uma nova amostra.

#### **4.5 Procedimento para determinação das atividades de AChE e BChE**

Princípio do Método de Ellman et al.(1961) - consiste na determinação da taxa de produção de tiocolina. Os substratos iodeto de acetilcolina e butirilcolina são hidrolisados pelas enzimas (AChE e BChE), liberando tiocolina e acetato. Quantifica a atividade da AChE

e BChE através da formação de um composto colorido formado pelo ácido ditionitrobenzóico (DTNB), ligado ao enxofre livre da tiocolina liberado após hidrólise pelas enzimas.

#### 4.5.1 Material

- Tubos de ensaio
- Micropipetas automáticas de 200, 1000 e 5000  $\mu\text{L}$
- Ponteiras para as micropipetas

#### 4.5.2 Equipamentos

- Espectrofotômetro modelo Cary 50, marca Varian
- Agitador tipo vortex
- Centrífuga refrigerada.
- Sistema de ultrapurificação de água, marca Miliqui

#### 4.5.3 Reagentes e soluções

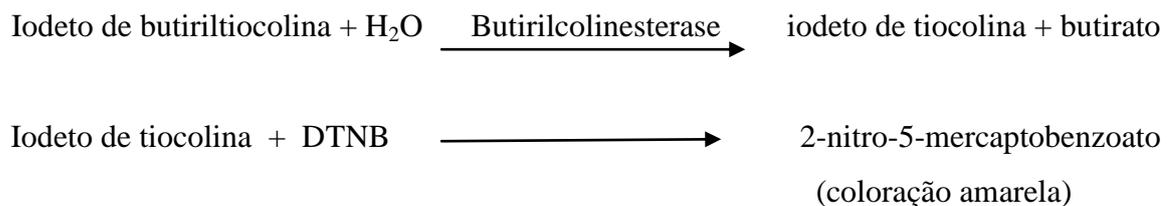
- Solução tampão de fosfato monobásico ou dibásico de sódio (0,02M) em pH 7,6 para lise das hemácias. O ajuste do pH deve ser feito com NaOH 0,1N ou HCl 0,1N.
- Solução tampão de fosfato monobásico ou dibásico de sódio (0,12M) em pH 7,6 para análise. O ajuste do pH deve ser feito com NaOH 0,1N ou HCl 0,1N (Marca Merck).
- Solução de DTNB (ácido ditionitrobenzóico) a 2mM (Marca Sigma). Esta solução deverá ser preparada no tampão de análise (0,12M) em pH 7,6.
- Solução de iodeto de butirilcolina a 9,0 mM (Marca Sigma) preparada em água reagente tipo I. Conservar em congelador a  $-10^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ , armazenada em frascos âmbar protegidos da luz. Solução de NaOH a 25% - utilizada somente na dosagem de proteína da amostra “ghost”
- Reagente Folin (Marca Merck).

- Solução de albumina bovina a 1mg/mL. Conservar em congelador a  $-10^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ . (Marca Merck).

#### 4.5.4 Dosagem de BChE

##### 4.5.4.1 Princípio de Ellman et al. (1961).

A butirilcolinesterase catalisa a hidrólise de iodeto de butirilcolina em iodeto de tiocolina e butirato. O iodeto de tiocolina reage com o 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) presente no sistema formando o ácido 5-mercaptop-2-nitro-benzóico, um composto amarelo, cuja intensidade é proporcional à atividade enzimática presente na amostra.



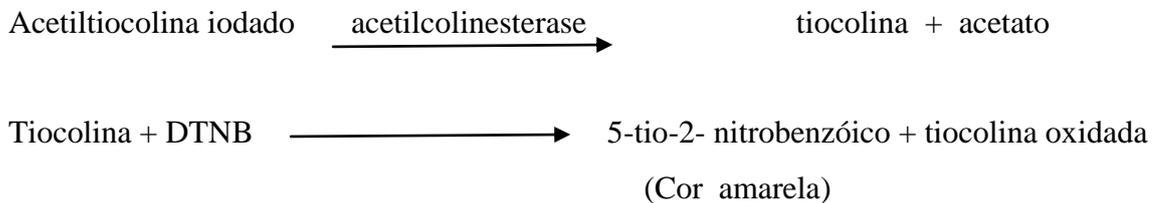
##### 4.5.4.2 Procedimento de dosagem:

- Descongelar o plasma (pode ser mantido congelado por um período de 1 a 3 dias /  $-10^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ).
- Em cada tubo vazio, colocar 4 mL de tampão de análise (0,12M) e 1 mL de DTNB.
- Programar o espectrofotômetro para leitura no modo cinético, no  $\lambda$  de 412 nm.
- Fazer a zeragem do aparelho com o branco do teste (Densidade Ótica de referência).
- No momento da leitura adicionar 50 $\mu\text{L}$  de plasma e 1 mL da solução de butiriltiocolina.
- Agitar em vortex por cerca de 3 segundos.
- Colocar a amostra imediatamente no espectrofotômetro,
- Realizar a leitura da amostra em 120 segundos com fase lag de 30seg.
- O resultado será expresso em DO/minuto, que deve ser multiplicada por 1000 (sendo a média de 2 minutos).

#### 4.5.5 Dosagem da AChE

##### 4.5.5.1 Princípio de Ellman et al. (1961)

A acetilcolinesterase catalisa a hidrólise da acetiltiocolina para tiocolina. A taxa de produção de tiocolina é medida através da reação da tiocolina com o 5,5'ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB), formando o ácido 5-tio-2-nitrobenzóico (coloração amarela), cuja concentração é medida no espectrofotômetro no comprimento de onda de 412 nm.



##### 4.5.5.2 Preparo do “*ghost*” (Lavagem das hemácias)

- Descongelar a solução de hemácias com tampão fosfato de Lise (0,02M), após 24 horas de congelamento para completar a lise das hemácias;
- Homogeneizar por inversão do tubo
- Centrifugar a 5.760 rpm  $\pm$  100 rpm por cerca de 15 minutos em centrífuga refrigerada a 8° C  $\pm$  1° C;
- Desprezar o sobrenadante cuidadosamente com uma micropipeta;
- Ressuspender o sedimento em 4,5 ml de tampão de Lise (0,02M);
- Homogeneizar em vortex por cerca de 5 segundos;
- Centrifugar a amostra a 5.760 rpm  $\pm$  100 rpm por cerca de 15 minutos em centrífuga refrigerada a 8° C  $\pm$  1° C;
- Repetir o processo anterior por mais 2 vezes;
- Adicionar ao sedimento 0,5 ml (500  $\mu$ L) de tampão fosfato de análise (0,12M);
- Homogeneizar em vortex.
- Esta solução final é denominada “*ghost*”.

#### 4.5.5.3 Dosagem de proteína do “ghost”

- Colocar em um tubo 50 $\mu$ L da amostra do “ghost”
- Acrescentar 4,45 mL de água ultrapurificada pelo sistema Miliqui + 200 $\mu$ L de NaOH a 25%
- No momento da leitura adicionar 300 $\mu$ L do reativo de Folin puro (azul), agitar por 30 segundos em agitador tipo vórtex, e, após 5 minutos de repouso, realizar a leitura da Densidade Ótica (DO) em 660 nm. Zerar com o branco usando água ultrapura.

A dosagem da proteína na amostra de “ghost” é um parâmetro utilizado no cálculo da atividade específica da AChE. Os cálculos são realizados com base em uma curva padrão de albumina (FIGURA 14), a partir de uma solução mãe distribuída em tubos eppendorf com alíquota de 1,5mL e congelada. Diariamente foi descongelada uma alíquota de 1,5 da solução mãe, e preparada diluições conforme Quadro 8.

Quadro 8 – Preparo das diluições para construção da curva padrão de albumina em  $\mu$ g.

Reagentes	Branco	Diluições		
		50	100	300
Água destilada ( $\mu$ L)	4500	4450	4400	4200
Sol. 1mg/mL de albumina ( $\mu$ L)*	-	50	100	300
NaOH a 25% ( $\mu$ L)	200	200	200	200
Reativo de Folin ( $\mu$ L)*	300	300	300	300

\*O reativo de Folin e a albumina devem ser colocados no momento da análise.

- Após preparar as diluições e o branco deixar repousar 5 minutos
- Realizar a leitura do Branco
- Realizar a leitura das diluições em comprimento de onda de 660 nm.

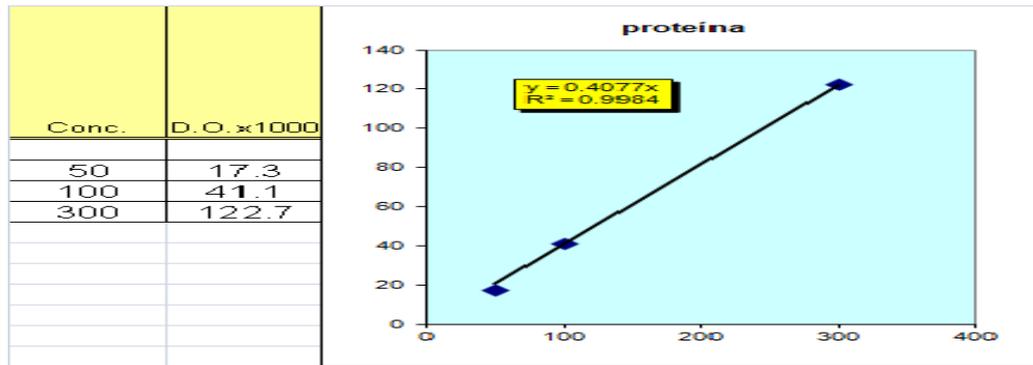


Figura 14 - Curva padrão de Albumina

#### 4.5.5.4 Procedimento de dosagem da AChE

- Em cada tubo colocar: 4 ml de tampão de análise (0,12M). + 1 mL de DTNB
- Programar o espectrofotômetro a 412nm
- No momento da leitura: adicionar 50 $\mu$ L de “ghost” + 1 mL da solução de acetiltiocolina,
- Agitar em vórtex por cerca de 30 segundos.
- Zerar o aparelho (DO referência).
- Colocar imediatamente a amostra no espectrofotômetro,
- Leitura durante 120 segundos com fase lag de 30 segundos.
- Expressar o resultado em DO/ minuto que deve ser multiplicado por 1000 (sendo a média dos 2 minutos).

#### 4.5.6 Preparo da curva padrão de L-cisteína

Utilizada para determinação das concentrações de BChE e AChE. A curva foi elaborada nas concentrações, conforme Figura 15, por 5 mL do volume final, partindo de uma solução-mãe 1mM.

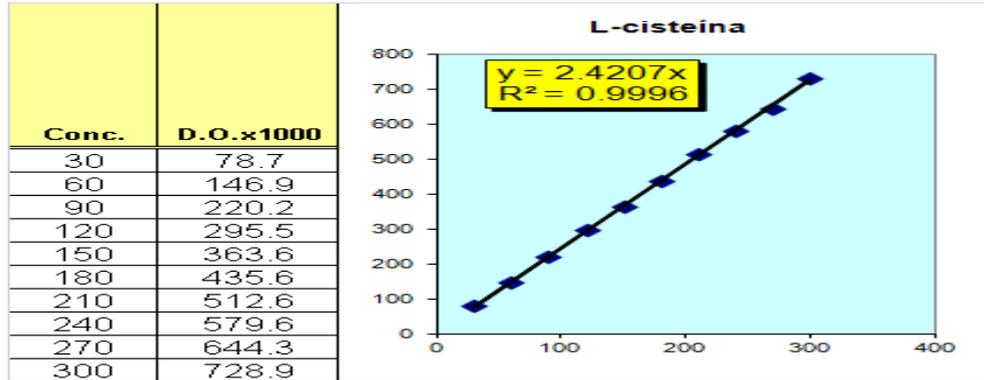


Figura 15 - Curva Padrão de L-cisteína.

#### 4.5.7 Cálculos

Foi construída planilha de Excell para cálculo dos valores da atividade das enzimas: BChE e AChE em Micromol/min/mL de plasma e Micromol/min/mg de proteína de acordo com as fórmulas abaixo:

$$\text{a. Atividade da enzima BChE} = \frac{\text{Média DO X 1000 / Y curva L-cisteína}}{\text{Volume da Amostra}}$$

$$\text{b. Atividade da enzima AChE} = \frac{\text{Média DO X 1000 / Y curva L-cisteína}}{\frac{\text{Volume da Amostra}}{\text{Valor de proteína}}}$$

$$\text{c. Concentração da proteína} = \frac{\text{Média DO / Y curva albumina}}{\text{Volume da amostra}}$$

#### 4.5.8 Controle de qualidade

##### 4.5.8.1 BChE

Para avaliar a precisão e exatidão dos testes da BChE foi utilizado o soro controle Biosys, fabricado por Diasys Diagnostic Systems GmbH, com registro no Ministério da Saúde/Anvisa N. 10350840060. As leituras durante o período do estudo apresentaram uma média de  $3,75 \pm 0,38$  de desvio padrão, e, estão demonstradas na Figura 16

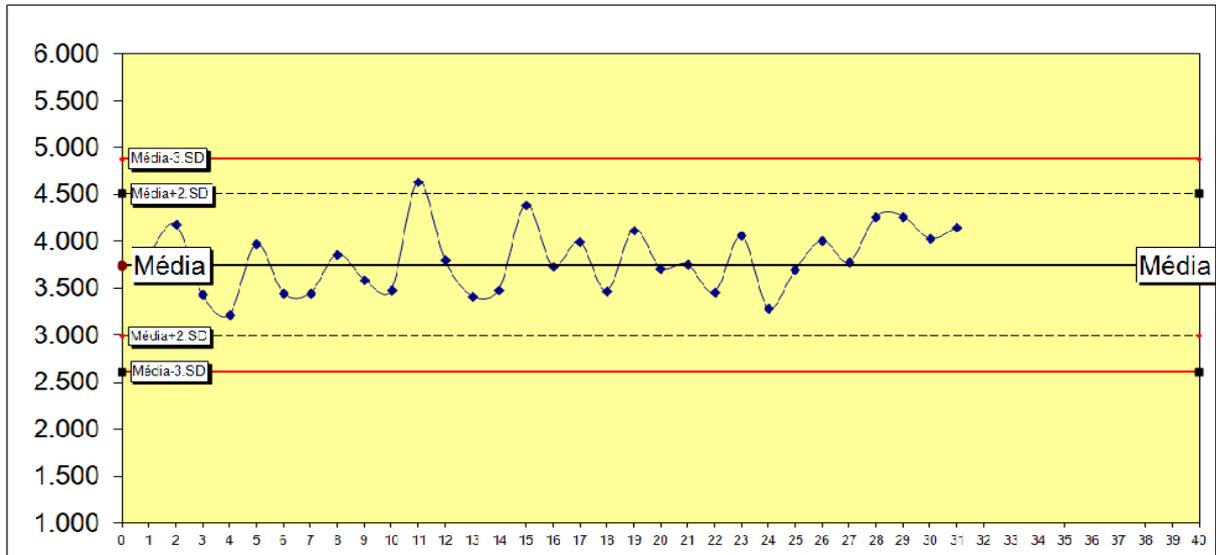


Figura 16 – Distribuição das leituras do controle da BChE durante o estudo.

#### 4.5.8.2 AChE e proteína

Para controlar a exatidão e precisão dos testes da AChE e da dosagem da proteína foi preparado um controle, a partir da coleta de hemácias de um voluntário, e realizou-se o seguinte procedimento:

- A coleta de sangue foi processada com anticoagulante.
- Foi centrifugado para separação das hemácias do plasma.
- Foi colocado 0,5 mL de hemácias em tubos de polipropileno com tampa e acrescentado 4,5 mL de tampão fosfato monobásico de sódio (0,02M) em pH 7,6.
- Homogeneizou-se em agitador vortex e congelado por 24hs a  $10^{\circ} \text{C} \pm 3^{\circ} \text{C}$ , e posteriormente liofilizado. Foram realizados vários lotes do mesmo doador.

A dosagem da AChE e da proteína foi realizada antes da liofilização, para determinar o valor do controle. As leituras do controle durante o período do estudo apresentaram uma média de  $0,18 \pm 0,05$  de desvio padrão e estão demonstradas na Figura 17.

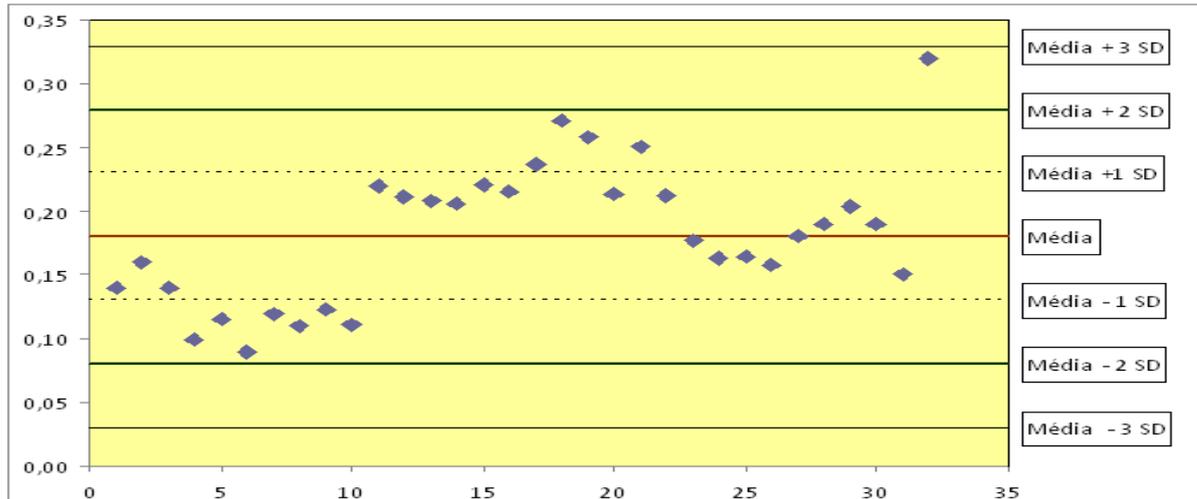


Figura 17 – Distribuição das leituras do controle da AChE durante o estudo.

#### 4.6 Análise estatística

Os dados foram tabulados no programa Excell, e apresentados através de tabelas e figuras. Foram analisados descritivamente através das medidas de média, desvio padrão (DP), valores máximo e mínimo, coeficiente de variação (CV), frequência absoluta e relativa.

A normalidade das distribuições foi testada através do teste Lilliefors, ao nível de significância de 5%, e a comparação entre as medianas pelos testes não paramétricos Mann Whitney e Kruskal Wallis.

Para verificar possíveis associações entre as variáveis de estudo foram realizados os testes Qui-quadrado corrigido por Yates ou de Fisher, e calculadas as razões de prevalência (RP) com os respectivos intervalos de confiança (IC), ao nível de significância de 5%. Os programas utilizados foram EPI INFO versão 7 (Centers for Diseases Control and Prevention, Atlanta/Geórgia/Estados Unidos), e Bio Estat 5.3 (Sociedade Mamirauá, Belém/Pará/Brasil).

#### **4.7 Aspectos éticos**

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, conforme estabelecido pelas Diretrizes e Norma Regulamentadora de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos, de acordo com a Lei 196/1996/ Conselho Nacional de Saúde, com a obtenção da Carta de Aprovação nº. 1769/2010 (APÊNDICE D). Os ACE assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diante da impossibilidade da obtenção do valor da atividade inicial de cada ACE antes da exposição, foi obtido um valor de referência a partir de uma amostra de um grupo controle, composto de 93 ACE que atuavam nos programas de Saúde Pública, do estado de Mato Grosso do Sul, com a média de ausência de exposição aos pesticidas do grupo carbamatos e organofosforados de  $148,10 \pm 17,70$  dias, com o mínimo de 90 e o máximo de 210 dias. O grupo era constituído de 32,30% do sexo feminino, com idade de 18 a 57 anos, e média de  $33,4 \pm 10,9$  anos, e o sexo masculino com 67,70%, sendo o mínimo de 22 e máximo de 59 anos, média de  $34,6 \pm 9,30$  anos. Foi identificado um bom nível de escolaridade de 8 a 12 anos ou mais (91,40%), tempo de serviço de 1 a 4 anos (48,70%) e 91,20% declararam que usavam equipamentos de proteção individual durante a atividade laboral.

Como os valores de atividade das colinesterases dos ACE apresentaram uma distribuição não normal, o valor de referência para a AChE foi de  $0,18 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de proteína, e para a BChE foi de  $6,98 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mL}$  de plasma, correspondendo o ponto de corte do primeiro quartil (25%) da atividade enzimática mediana do grupo controle (TABELA 2). Os valores medianos das colinesterases não apresentaram diferença entre os sexos ( $p > 0,05$  teste Mann Whitney).

Tabela 2 - Valores da atividade mediana e primeiro quartil de AChE e BChE no grupo controle de ACE, MS - 2011

Trabalhadores	Atividade mediana				
	N	AChE	1°Q	BChE	1°Q
Sexo Masculino	63	0,28**	0,18	8,58*	7,32
Sexo Feminino	30	0,25**	0,17	7,49*	6,30
Grupo	93	0,28	0,18	8,16	6,98

\*Teste Mann Whitney ( $p > 0,05$ )

\*\* Teste Mann Whitney ( $p > 0,05$ )

Esta etapa deu origem ao artigo publicado: Avaliação de exposição a agrotóxicos: determinação dos valores de referência para colinesterase plasmática e eritrocitária. Rev Brasilia Med. 2012; 49(2): 163-169 (APÊNDICE E).

A equipe do programa de combate à leishmaniose, do município de Campo Grande, era composta por 71 ACE, que apresentaram 45,07% de índice de inibição para BChE, e 21,13% para AChE, acima de 25 % (TABELA 3). Porém, a prevalência de intoxicação foi de 36,62% e 19,72% para BChE e AChE, respectivamente.

Tabela 3 – Índice de inibição (%) e prevalência de intoxicação (%) dos agentes de controle de endemias, do programa de combate a Leishmaniose, município de Campo Grande, MS - 2011

<b>Colinesterases</b>	<b>Índice de inibição (%)<sup>(1)</sup></b>	<b>Prevalência de intoxicação %<sup>(2)</sup></b>
BChE	45,07	36,62
AChE	21,13	19,72

<sup>(1)</sup> % de inibição acima de 25%.

<sup>(2)</sup> Combinação da inibição >25% com 3 ou mais sintomas clínicos

Para avaliar a inibição da BChE, deve-se considerar a interferência de algumas patologias (hepatites, neoplasia, cirrose), gravidez, alcoolismo, e medicamentos (anticoncepcionais orais, codeína, fenotiazina,...). E também deve se levar em conta que 83,10% dos ACE foram expostos a inseticida no dia anterior a coleta de sangue. Diante destes fatores interferentes na redução da BChE, a prevalência de intoxicação aguda é 19,72%, considerando a inibição da AChE (TABELA 3).

A idade média foi de 34,20±10 anos com extremos de 22 e 59 anos, sendo 45,1% do sexo masculino com a faixa etária de 20 a 30 anos. A escolaridade com 54,9% de 8 a 11 anos de estudos, 45,10% eram casados, e 63,40% de etnia branca.

Não houve associação estatisticamente significativa entre o sexo e os efeitos de exposição: a) AChE reduzida (inibição enzimática >25%) em 24,0% dos ACE do sexo feminino e 21,7% do sexo masculino ( $p=0,936$  Qui-quadrado corrigido por Yates, RP (IC95%) 1,10 (0,45 – 2,68); b) BChE reduzida (inibição enzimática >25%) em 60,0% do sexo feminino e 37,0% do sexo masculino ( $p=0,106$  Qui-quadrado corrigido por Yates, RP (IC95%) 1,62 (0,99 – 2,66) e c) presença de sintomas de intoxicação em 92,0% do sexo feminino e 89,1% do sexo masculino ( $p=1,000$  Teste de Fisher, RP (IC95%) 1,03 (0,89 – 1,20).

Este estudo com os ACE do programa da Leishmaniose, no município de Campo Grande resultou no artigo Intoxicação por Carbamatos: Níveis de colinesterase nos agentes de controle de endemias do Programa da Leishmaniose. Submetido à Revista Ciência e Saúde Coletiva, com o número de 0210/2013, aguardando avaliação conforme Carta de Submissão (APÊNDICE F).

Tabela 4 – Prevalência de intoxicação aguda em Mato Grosso do Sul e respectivas macrorregiões, 2011-2012

Enzimas	Prevalência de intoxicação									
	MCG		MD		MTL		MC		MS	
	(n=334)		(n=244)		(n=177)		(n=45)		(n=800)	
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%
BChE	36	10,78	16	6,56	18	10,17	1	2,22	71	8,87
AChE	32	9,58	9	3,68	24	13,56	0	0	65	8,12

Nota: MCG = Macro de Campo Grande, MD = Macro de Dourados, MTL = Macro de Três Lagoas, MC = Macro de Corumbá, MS= Mato Grosso do Sul.

A prevalência da intoxicação dos ACE do estado de Mato Grosso do Sul foi de 8,87% e 8,12 %, considerando a inibição acima de 25% para BChE e AChE, respectivamente, caracterizando exposição recente e crônica. Este resultado foi menor que os das macrorregiões

de Campo Grande e Três Lagoas, que apresentaram a prevalência de intoxicação de 10,78% e 10,17%, para BChE, e 9,58% e 13,56% para AChE, respectivamente (TABELA 4).

No estado de Mato Grosso do Sul o índice de inibição foi de 18,38% para BChE, e, 17,50% para a AChE, menor que o apresentado pelos ACE do município de Campo Grande. Dentre as macrorregiões observou-se que a de Campo Grande apresentou os maiores índices de inibição das respectivas enzimas (TABELA 5).

A redução das enzimas foi avaliada de acordo com a Nota Técnica nº. 165/2008/SVS/MS (BRASIL, 2008), a qual define que valores acima de 25% devem ser avaliados para determinação das causas, que podem ser: não uso de EPI, baixo nível de conscientização, falta de EPI e, ou problemas operacionais. Os ACE com estes resultados alterados deverão realizar nova coleta. Caso o resultado seja confirmado deverão ser afastados por um período de 15 dias, e, somente retornarão à atividade de exposição quando os valores voltarem ao normal.

Em Washington e Califórnia o monitoramento das enzimas colinesterases em trabalhadores expostos a agrotóxicos anticolinesterásicos estabelecem que uma depressão de 20% das colinesterases ou maior, comparada à linha de base leva a investigação do local de trabalho; 30% ou maior depressão da AChE, e 40% de BChE plasmática, os trabalhadores devem ser removidos da atividade de aplicação de agrotóxicos, e eles somente podem retornar quando seus níveis no sangue chegar a 80% da linha de base (KEIFER, 2005; HOFMANN et al., 2010; FURMANN, 2010).

No Brasil, o Ministério do Trabalho, através da Norma Regulamentadora – NR 7, estabelece um índice biológico máximo permitido de 30% para a AChE e 50% para BChE, logo, o Ministério da Saúde adota um critério mais conservador, permitindo intervenção com ações de prevenção precocemente (BRASIL, 1978).

Para avaliação da inibição da enzima BChE, além da exposição aos inseticidas do grupo organofosforados e carbamatos, deve-se considerar também outros fatores que podem contribuir para sua redução, tais como patologias do fígado (hepatites, cirrose, metástases), desnutrição, stress e inflamações agudas e crônicas (VENKATA et al., 2011; LAMPÓN et al., 2012; SANTARPIA et al., 2013), gravidez e algumas drogas, atropina, cafeína, codeína, estrogênios, sulfato de morfina, neostigmina, anticoncepcionais orais, fenotiazinas, teofilina, quinidina, esteróides e vitamina K (RIBEIRO; MELLA, 2007).

Mutação genética da BChE também contribui para sua redução. Estudos relatam que existem em torno de setenta diferentes mutações do gene da BChE que causam sua

diminuição. Mikami et al. (2008) identificaram 35 alelos mutantes em 34 doadores de sangue, do centro de Hemoterapia de Curitiba, PR, e 79% (27) destes indivíduos apresentaram baixa atividade da BChE, sugerindo que esta redução da atividade foi devida a mutação do gene da BChE.

Pessoas portadoras dos genes mutantes da butirilcolinesterase podem ser mais sensíveis aos efeitos tóxicos dos organofosforados (DIMOV et al., 2012).

Segundo o Guidelines for Physicians (EPA, 2002), a recuperação dos níveis normais da BChE em relação a linha de base pré-exposição para carbamatos ocorre em questão de horas. Ela é produzida no fígado, com alta taxa de renovação, a redução de sua atividade na corrente sanguínea promove estímulo de sua síntese por parte dos hepatócitos, caracterizando uma resposta compensatória à sua redução, ocorrendo o fenômeno de rebote, resultando elevados níveis com presença de sinais de intoxicação. Já a recuperação da acetilcolinesterase é lenta, e ocorre somente quando as células vermelhas do sangue são regeneradas, com uma taxa de aproximadamente 1% ao dia (OLIVEIRA-SILVA et al., 2003).

Os efeitos de inibidores colinérgicos podem variar entre diferentes organismos, e também em diferentes regiões do cérebro. Alvos secundários não colinérgicos leva a diminuição da BChE e dos receptores da acetilcolina muscarínicos, caracterizando efeitos contraditórios, inibição da atividade da BChE com ausência de sintomas muscarínicos. Logo, a prevalência de intoxicação deve ser considerada a inibição da enzima AChE, pois, a mesma tem a vida média de 90 dias, é a única que atua nas sinapses nervosas, é o indicador de efeito de exposição crônica (FIGURA 18).

Na macrorregião de Corumbá, o município de Corumbá fazia parte dos municípios prioritários para o combate da Dengue. Em 2011 e 2012 apresentou incidência de 248,5 e 1.708,3 casos notificados/100.000 habitantes, com classificação de risco moderado e alto, respectivamente. Em 2011, os ACE visitaram 2.918 imóveis fazendo tratamento focal, e não realizaram nenhum bloqueio com equipamento portátil. Já em 2012 inspecionaram 1481 imóveis, e utilizaram 11,7 litros de inseticida através de pulverização por equipamento UBV portátil, com um consumo de inseticida de 1,30 litros/hectare (SES, 2011, 2012). Logo, a prevalência de intoxicação aguda encontrada (FIGURA 18) sugere uso de EPI com procedimentos adequados.

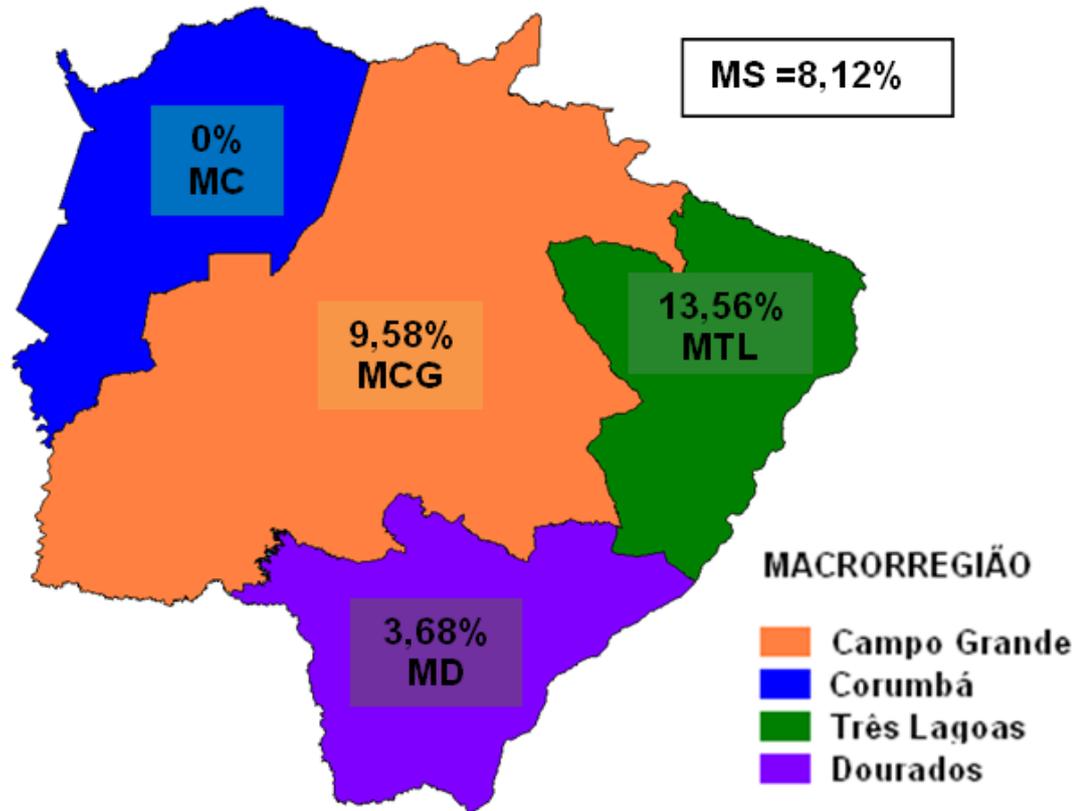


Figura 18 – Prevalência de intoxicação aguda nas macrorregiões e MS.

No estado de Mato Grosso do Sul, em 2012, os ACE dos 20 municípios prioritários (Anastácio, Aquidauana, Bataguassu, Bonito, Campo Grande, Cassilândia, Corumbá, Coxim, Dourados, Ivinhema, Jardim, Naviraí, Nova Alvorada do Sul, Nova Andradina, Paranaíba, Ponta Porã, Rio Verde de Mato Grosso, São Gabriel do Oeste, Sidrolândia e Três Lagoas) para o combate ao vetor da dengue, avaliaram 66.685 imóveis realizando tratamento focal, pulverizaram 770,9 litros de inseticida com a utilização do equipamento UBV portátil, totalizando o consumo médio de 1,491 litros de inseticida por hectare (SES, 2012). A prevalência de intoxicação aguda encontrada no estado (8,12%) caracteriza ausência de EPI ou uso e procedimentos inadequados pelos ACE de alguns municípios das macrorregiões de MCG, MTL e MD.

A prevalência de intoxicação aguda por exposição crônica (8,12%), deste estudo (FIGURA 18) está abaixo da encontrada por Zhang et al. (2011), nos trabalhadores rurais do sul da China (8,8%), com uso dos mesmos critérios padronizados pela OMS.

Tabela 5 – Distribuição dos agentes de endemias segundo a inibição das enzimas butirilcolinesterase e acetilcolinesterase, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012

Inibição	MCG		MD		MTL		MC		MS	
	(n=334)		(n=244)		(n=177)		(n=45)		(n=800)	
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%
BChE <sup>(1)</sup>										
Sem inibição	145	43,41	120	49,18	95	53,67	25	55,56	385	48,12
0,1 a 25%	116	34,73	85	34,84	51	28,81	16	35,55	268	33,50
25,1 a 50%	68	20,36	31	12,70	23	13,00	4	8,89	126	15,75
> 50%	5	1,50	8	3,28	8	4,52	-	-	21	2,63
<b>Índice de Inibição<sup>(2)</sup></b>	<b>73</b>	<b>21,86</b>	<b>39</b>	<b>15,98</b>	<b>31</b>	<b>17,52</b>	<b>4</b>	<b>8,89</b>	<b>147</b>	<b>18,38</b>
AChE <sup>(3)</sup>										
Sem inibição	185	55,39	167	68,44	104	58,76	36	80,00	492	61,50
0,1 a 25%	80	23,95	40	16,40	41	23,16	7	15,56	168	21,00
25,1 a 50%	61	18,26	37	15,16	32	18,08	2	4,44	132	16,50
> 50%	8	2,40	-	-	-	-	-	-	8	1,00
<b>Índice de Inibição<sup>(2)</sup></b>	<b>69</b>	<b>20,66</b>	<b>37</b>	<b>15,16</b>	<b>32</b>	<b>18,08</b>	<b>2</b>	<b>4,44</b>	<b>140</b>	<b>17,50</b>

Nota: MCG = Macro de Campo Grande, MD = Macro de Dourados, MTL = Macro de Três Lagoas, MC = Macro de Corumbá, MS= Mato Grosso do Sul.

<sup>(1)</sup>  $\mu$  moles/min/mL de plasma.

<sup>(2)</sup> Índice de Inibição - % de inibição acima de 25%.

<sup>(3)</sup>  $\mu$  moles/min/mg de proteína.

O Índice de inibição encontrado para o estado difere dos identificados em trabalhadores rurais (TABELA 5). Magauzi et al. (2011), em estudo com trabalhadores rurais de Zimbabwe, na África, encontraram 24% de inibição por organofosforados. Del Prado-Lu (2007), em La Trinidad, Filipinas, identificou 51% dos agricultores em campos de flores, com os níveis da AChE abaixo do valor médio de referência, sendo 25,5% com índice de inibição acima de 10%.

Pathak et al. (2013), em estudo com aplicadores de pesticidas no norte da Índia, encontraram redução estatisticamente significativa de 55% ( $p < 0,001$ ) para a AChE e 9% para a BChE, após exposição a diferentes classes de pesticidas organofosforados, carbamatos, comparadas com os valores de pré-exposição.

Dhararjayan et al. (2012), no sul da Índia, em trabalhadores rurais, obtiveram o índice de inibição de 56% e 14% para BChE e AChE, respectivamente, com redução significativa em relação ao grupo controle.

Remor et al. (2009) encontraram uma redução de 28% da atividade da BChE em trabalhadores rurais dos municípios de Erechim e Ijuí, no Rio Grande do Sul.

Tabela 6 - Distribuição dos agentes de controle de endemias segundo perfil epidemiológico, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012

Variáveis	MCG		MD		MTL		MC		MS	
	(n=334)		(n=244)		(n=177)		(n=45)		(n=800)	
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%
Sexo										
Masculino	222	66,47	182	74,59	110	62,15	32	71,74	546	68,25
Feminino	112	33,53	62	25,41	67	37,85	13	28,26	254	31,75
Faixa etária										
19 anos	4	1,20	-	-	1	0,57	-	-	5	0,62
20 – 30	132	39,52	80	32,79	55	31,07	14	31,11	281	35,13
31 – 40	103	30,84	63	25,82	45	25,42	15	33,33	226	28,25
41 – 50	60	17,96	53	21,72	46	25,99	14	31,11	173	21,63
51 – 60	30	8,98	34	13,93	23	12,99	1	2,22	88	11,00
61 – 70	2	0,60	13	5,33	6	3,39	1	2,22	22	2,75
Não respondeu	3	0,90	1	0,41	1	0,57	-	-	5	0,62
Escolaridade										
Nenhuma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1 – 3 anos	6	1,80	1	0,41	1	0,57	-	-	8	1,00
4 – 7 anos	25	7,49	8	3,28	9	5,08	4	8,89	46	5,75
8 – 11 anos	144	43,11	110	45,08	77	43,50	18	40,00	349	43,63
Acima de 11 anos	149	44,61	123	50,41	89	50,28	23	51,11	384	48,00
Ignorado	1	0,30	1	0,41	1	0,57	-	-	3	0,37
Não respondeu	9	2,69	1	0,41	-	-	-	-	10	1,25
Raça										
Branco	195	58,38	171	70,08	111	62,71	17	37,78	494	61,75
Negro	42	12,58	37	15,16	46	25,99	9	20,00	134	16,75
Mestiço	75	22,46	33	13,53	18	10,17	17	37,78	143	17,88
Indígena	9	2,69	-	-	-	-	2	4,44	11	1,37
Não respondeu	13	3,89	3	1,23	2	1,13	-	-	18	2,25

O perfil demográfico dos ACE de MS está demonstrado na Tabela 6, distribuído nas quatro Macrorregiões. Observou-se no estado de MS: a) predomínio do sexo masculino com 68,25% (constatado também em todas as macrorregiões), b) trabalhadores são jovens, 35,13% na faixa de 20 a 30 anos (com exceção da macrorregião de Corumbá que apresentou a faixa de 31 a 40 anos com 33,33%); c) alta escolaridade, com 48,00% acima de 12 anos de estudo, d) estado civil casado (52,88%) e e) predomínio da raça branca (61,75%).

A média da idade dos ACE em MS foi de  $36,9 \pm 11,3$ , variando de 19 a 70 anos, com 2,71% na faixa de 61 a 70 anos. Está abaixo dos valores encontrados por Faria et al. (2013); e acima dos valores de Dhararjayar et al. (2012), e Araujo et al. (2007), para o trabalhadores rurais, com  $38,5 \pm 11,1$  anos, variando entre 16 a 71 anos,  $34,60 \pm 8,22$ , e,  $34,82 \pm 11,15$  anos, respectivamente.

A Norma Regulamentadora Nº. 31 do Ministério do Trabalho (BRASIL, 2005) proíbe o trabalho com agrotóxicos para maiores de 60 anos, e no Estado foram encontrados 2,75% de ACE (22) acima desta idade (TABELA 6).

Pereira et al. (2009) realizaram um estudo com os ACE que atuavam no programa de combate a Dengue, no Distrito Federal, e também encontraram predomínio para o sexo masculino (61,1%), e 67,6% com a mesma escolaridade, porém, a faixa etária dominante foi 40 – 49 anos (43,5%).

Estudo de caso controle com ACE expostos a múltiplos pesticidas do grupo organofosforados (pirimiphos metil, clorpyrifós, temefós e malation) em Delhi, norte da Índia, identificaram a média de idade de  $45,3 \pm 4,6$  anos, com 65,71% de analfabetos e ausência do uso de equipamentos de proteção individual (SINGH et al., 2011).

Estudos com trabalhadores rurais expostos a agrotóxicos diferem quanto a faixa etária, e, menos anos de escolaridade, na Costa Rica (WESSELING et al., 2002), em Nova Friburgo, RJ (ARAÚJO et al., 2007), em Baraúna, RN (LEITE; TORRES, 2008), na Índia (CHAKRABORTY et al., 2009), em Bento Gonçalves, RS (FARIA et al., 2009), na Carolina do Norte (QUANDT et al., 2010), em Washington (HOFMANN et al., 2010), em Menoufia, Egito (FARAHAT et al., 2011), em Iowa e Carolina do Norte (STARKS et al., 2012), em Goianópolis e Planaltina, GO (PASIANI et al., 2012).

A Tabela 7 demonstra o perfil do trabalho dos ACE nas macrorregiões e no estado. O tempo de trabalho dos ACE em Mato Grosso do Sul oscilou entre 1 a 5 anos (40,37%), com média de  $7,50 \pm 9,03$  anos de exposição a inseticidas, porém, foi encontrado 21,62% de ACE com tempo acima de 10 a >40 anos, caracterizando os ACE cedidos da FUNASA.

Tabela 7 - Distribuição dos agentes de controle de endemias segundo características do trabalho de controle de vetores, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012

Variáveis	MCG (n=334)		MD (n=244)		MTL (n=177)		MC (n=45)		MS (n=800)	
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%
Tempo de exposição										
Não responderam	5	1,50	23	9,43	16	9,04	5	11,11	49	6,13
Até 1 ano	58	17,37	34	13,93	27	15,25	12	26,67	131	16,37
1 – 5 anos	162	48,50	83	34,01	55	31,07	23	51,11	323	40,37
5,1 - 10 anos	62	18,56	33	13,52	27	15,25	2	4,44	124	15,50
10,1 - 15 anos	22	6,59	19	7,79	12	6,78	-	-	53	6,63
15,1 - 20 anos	2	0,60	7	2,87	1	0,57	-	-	10	1,25
20,1 - 25 anos	7	2,09	18	7,38	17	9,61	-	-	42	5,25
25,1 - 30 anos	11	3,29	12	4,92	12	6,78	3	6,67	38	4,75
30,1 - 35 anos	2	0,60	7	2,87	2	1,13	-	-	11	1,37
35,1 - 40 anos	3	0,90	4	1,64	7	3,95	-	-	14	1,75
> 40 anos	-	-	4	1,64	1	0,57	-	-	5	0,63
Número de aplicações/mês										
Não responderam	161	48,20	104	42,62	66	37,29	10	22,22	341	42,62
1 - 10	23	6,89	28	11,48	19	10,74	3	6,67	73	9,13
11 - 20	63	18,86	59	24,18	22	12,43	1	2,22	145	18,12
21 - 30	29	8,68	47	19,26	47	26,55	-	-	123	15,37
31 - 40	1	0,30	3	1,23	2	1,13	19	42,22	25	3,12
41 - 50	5	1,50	-	-	1	0,57	-	-	6	0,75
51 - 90	6	1,80	3	1,23	-	-	2	4,44	11	1,38
91 - 100	20	5,99	-	-	-	-	-	-	20	2,50
120 - 170	26	7,78	-	-	17	9,60	10	22,22	53	6,63
200 – 250	-	-	-	-	3	1,69	-	-	3	0,38
Uso de EPI										
Não responderam	18	5,39	9	3,69	10	5,65	-	-	37	4,63
Sim	254	76,05	187	76,64	117	66,10	43	95,56	601	75,12
Não	62	18,56	48	19,67	50	28,25	2	4,44	162	20,25
Treinamento										
Não responderam	48	14,37	44	18,03	18	10,17	3	6,67	113	14,13
Sim	267	79,94	176	72,13	142	80,23	39	86,66	624	78,00
Não	19	5,69	24	9,84	17	9,60	3	6,67	63	7,87
Relação dos Sintomas c/ trabalho										
Não responderam	63	18,86	39	15,98	16	9,04	2	4,44	120	15,00
Sim	130	38,92	132	54,10	93	52,54	7	15,56	362	45,25
Não	141	42,22	73	29,92	68	38,42	36	80,00	318	39,75

Nota: MCG = Macro de Campo Grande, MD = Macro de Dourados, MTL = Macro de Três Lagoas, MC = Macro de Corumbá, MS= Mato Grosso do Sul.

O número de aplicações foi de 11 a 20 por mês (18,12%), com a média de  $41,2 \pm 36,1$ , CV 86,11% (TABELA 7). Para atividades de controle vetorial da dengue, o Ministério da Saúde preconiza um ACE para cada 800 a 1000 imóveis por período bimestral, o que caracteriza um rendimento diário de 20 a 25 imóveis por dia, com carga horária de 8 horas.

É importante ressaltar que o rendimento diário não indica o número de aplicações, pois, somente é utilizado o inseticida quando não for possível a eliminação da larva por processo mecânico, o que pode justificar os 42,62% dos ACE que não responderam (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

Porém, deve-se considerar que este critério estabelecido pelo Ministério da Saúde deve ser cumprido apenas para os municípios com presença de *Aedes aegypti*. Em Mato Grosso do Sul os municípios prioritários para o programa de controle da dengue no período do estudo eram: Anastácio, Aquidauana, Bataguassu, Bonito, Campo Grande, Cassilândia, Corumbá, Coxim, Dourados, Ivinhema, Jardim, Naviraí, Nova Alvorada do Sul, Nova Andradina, Paranaíba, Ponta Porã, Rio Verde de Mato Grosso, São Gabriel do Oeste, Sidrolândia e Três Lagoas (SES/MS, 2011, 2012). Como os resultados foram analisados por macrorregião, sugere um viés nos resultados.

No programa de combate ao vetor da leishmaniose, a meta para pulverização preconizada é de 100 casas por mês, com borrifação na parede interna e teto das residências. A região do município para realizar o combate ao vetor da leishmaniose é definida por critérios epidemiológicos, de acordo com o número de casos humanos nos últimos três anos. Os municípios endêmicos são: Campo Grande, Três Lagoas e Corumbá.

Os maiores números de aplicações mensais foram realizados pelos ACE das macrorregiões Três Lagoas e Corumbá, com 21 a 30 e 31 a 40, respectivamente. São regiões endêmicas de Leishmaniose além, da epidemia da Dengue, o que justifica o maior número de intervenções.

Quanto à segurança no trabalho, 75,12% declararam que usam Equipamento de Proteção Individual, e 78% receberam treinamento para aplicação de inseticidas. Porém, 45,25% relacionaram as manifestações sintomáticas com a atividade laboral (TABELA 7). Este dado indica que 20% dos ACE que declararam que usam EPI não estão se protegendo adequadamente, sugerindo não uso, uso inadequado, ou falta de EPI. Caracterizando necessidade de orientação sobre os riscos inerentes à atividade laboral, pois, vários estudos têm demonstrado que a utilização de EPI previne a inibição das colinesterases e o risco de sintomas de intoxicação nos trabalhadores expostos a pesticidas organofosforados e

carbamatos (QUANDT et al., 2006; CATAÑO et al., 2008; HOFMANN et al., 2010; PATHAK et al., 2011).

Entre os fatores que contribui para não utilização dos EPIs, é a dificuldade de adequação dos mesmos às características antropométricas e ambientais de cada localidade, e a percepção de risco. A impermeabilidade dos EPIs aos inseticidas traz um desconforto térmico podendo ocasionar hipertermia ao trabalhador (VEIGA et al., 2007).

De acordo com o Ministério da Saúde, o índice de uso de proteção encontrado (75,12%) é considerado uma proteção acima da média, porém, estes dados devem ser melhorados através de capacitação sobre a percepção do risco para conscientização do uso de EPI (BRASIL, 2008).

Este nível de proteção não foi observado nas atividades de manipulação, mistura, e pulverização de inseticidas pelos trabalhadores rurais, conforme verificado no norte da Índia (PATHAK et al., 2013), e também nos ACE com exposição ocupacional nos programas de saúde, em Delhi, na Índia (SINGH et al., 2011).

Os sintomas auto referidos pelos 501 (62,62%) dos ACE estão listados na Tabela 8. Observou-se que os sintomas mais predominantes foram: cansaço nas pernas (30,63%), cefaléia (29,38%), irritação ocular (27,50%), irritação da pele (24,62%), e irritação nasal (21,75%). Porém, 29,0% declararam não apresentar sintomas ao exercer a atividade de controle de vetores, sugerindo a realização do controle mecânico da larva, e ou uso adequado dos EPI.

Os vinte e nove sintomas foram sistematizados de acordo com efeitos muscarínicos, nicotínicos e sistema nervoso central, provocados pelo acúmulo de acetilcolina decorrente da inibição das colinesterases pelos inseticidas dos grupos organofosforados e carbamatos.

Na Tabela 8, os efeitos muscarínicos relatados pelos ACE foram irritação da pele (24,62%), irritação nasal (21,75%), irritação ocular (27,50%), salivação (8,38%), náuseas (9,5%), sudorese (7,38%), câimbras (13,25%), vômitos (1,75%), incontinência urinária (3,5%), e diarreia (2,88%).

Os sintomas classificados como efeitos nicotínicos foram cansaço nas pernas (30,63%), formigamento (14,88%), palpitação (7,25%), tremores (7,00%), e taquicardia (3,25%). E os do sistema nervoso central foram cefaléia (29,38%), fraqueza muscular (15,00%), agitação/irritabilidade (14,75%), vertigem/tontura (17,63%), insônia (13,00%), visão turva (12,63%), e 3,13 % de confusão mental (TABELA 8).

Tabela 8 - Distribuição dos agentes de controle de endemias segundo sintomas auto-referidos, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012

Sintomas <sup>(1)</sup>	MCG (n=334)		MD (n=244)		MTL (n=177)		MC (n=45)		MS (n=800)	
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%
Cefaléia	105	31,44	63	25,82	62	35,03	5	11,11	235	29,38
Cansaço nas pernas	110	32,93	70	28,69	62	35,03	3	6,67	245	30,63
Irritação ocular	81	24,25	77	31,56	59	33,33	3	6,67	220	27,50
Irritação da pele	76	22,75	70	28,69	49	27,68	2	4,44	197	24,62
Irritação nasal	69	20,66	60	24,59	43	24,29	2	4,44	174	21,75
Vertigem / tontura	54	16,17	35	14,34	48	27,12	3	6,67	140	17,50
Agitação/irritabilidade	49	14,67	39	15,98	28	15,82	2	4,44	118	14,75
Tosse	48	14,37	35	14,34	33	18,64	2	4,44	118	14,75
Fraqueza muscular	48	14,37	34	13,93	37	20,90	1	2,22	120	15,00
Formigamento	43	12,87	35	14,34	41	23,16	-	-	119	14,88
Câimbras	40	11,98	33	13,52	32	18,08	1	2,22	106	13,25
Visão turva	39	11,68	29	11,89	32	18,08	1	2,22	101	12,63
Alteração do sono	45	13,47	27	11,07	31	17,51	1	2,22	104	13,00
Náuseas	36	10,78	19	7,79	21	11,86	-	-	76	9,50
Salivação	32	9,58	23	9,43	11	6,21	1	2,22	67	8,38
Palpitação	29	8,68	15	6,15	14	7,91	-	-	58	7,25
Tremores	27	8,08	14	5,74	15	8,47	-	-	56	7,00
Vertigem	55	16,47	35	14,34	48	27,12	3	6,67	141	17,63
Sudorese	39	11,68	7	2,87	12	6,78	1	2,22	59	7,38
Cólicas	18	5,39	6	2,46	15	8,47	-	-	39	4,88
Incontinência urinária	10	2,99	9	3,69	9	5,08	-	-	28	3,50
Confusão mental	12	3,59	6	2,46	7	3,95	-	-	25	3,13
Diarréia	10	2,99	7	2,87	6	3,39	-	-	23	2,88
Secreção brônquica	13	3,89	4	1,64	5	2,82	1	2,22	23	2,88
Taquicardia	16	4,79	5	2,05	4	2,26	1	2,22	26	3,25
Inapetência	8	2,40	7	2,87	-	-	1	2,22	16	2,00
Vômito	8	2,40	3	1,23	3	1,69	-	-	14	1,75
Incordenação motora	3	0,90	2	0,82	4	2,26	-	-	9	1,13
Sangramentos	0	0,00	1	0,41	1	0,56	-	-	2	0,25
Outros	0	0,00	1	0,41	1	0,56	-	-	2	0,25
Não	110	32,93	45	18,44	43	24,29	34	75,56	232	29,00
Não declararam	20	5,99	39	15,98	7	3,95	1	2,22	67	8,38

Nota: MCG = Macro de Campo Grande, MD = Macro de Dourados, MTL = Macro de Três Lagoas, MC = Macro de Corumbá, MS= Mato Grosso do Sul.

1 ou mais sintomas auto-referidos por agente.

Pereira et al.(2009), em um estudo com ACE que atuavam no combate a dengue, no Distrito Federal, encontraram a maior frequência em alterações do sistema nervoso central com o uso de temefós.

Nos trabalhadores rurais foram identificados os sintomas predominantes entre os efeitos muscarínicos e do sistema nervoso central, em Nova Friburgo, RJ, (ARAÚJO et al., 2007), e em Bento Gonçalves, RS (FARIA et al., 2009).

No norte da Índia, pulverizadores de pesticidas dos grupos organofosforados e piretróides, com bomba costal, na área rural, apresentaram incidência de 37% do sistema dérmico, 27% do sistema respiratório, 25% do sistema nervoso e 17% sistema ocular, reduzidos em relação ao grupo controle (PATHAK et al., 2011).

A função pulmonar de trabalhadores rurais pulverizadores de misturas de pesticidas, tem mostrado redução em comparação do valor da espirometria da pré-exposição (PATHAK et al., 2013).

Neste estudo, os ACE declararam apresentar sintomas respiratórios, sendo 14,75% com tosse, 21,75% com irritação nasal, e 2,88% com secreção brônquica (TABELA 8).

Tabela 9 - Estatística descritiva dos valores da colinesterase plasmática (BCHE) e eritrocitária (ACHE) dos agentes de controle de endemias, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012

Variáveis	MCG	MD	MTL	MC	MS
<b>BChE<sup>(1)</sup></b>					
Média ± Desvio Padrão	7,28±2,10	7,17±2,04	7,12±2,19	7,49±1,82	7,22±2,08
Valor Mínimo	2,20	2,37	2,13	4,59	2,13
Valor Máximo	14,07	16,74	13,82	11,07	16,74
Coefficiente de Variação (%)	28,84	28,38	30,81	24,35	28,87
<b>AChE<sup>(2)</sup></b>					
Média ± Desvio Padrão	0,23±0,19	0,28±0,37	0,21±0,11	0,29±0,15	0,24±0,25
Valor Mínimo	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Valor Máximo	1,69	5,00	0,77	0,88	5,00
Coefficiente de Variação (%)	81,41	133,50	54,21	51,82	101,94

Nota: MCG = Macro de Campo Grande, MD = Macro de Dourados, MTL = Macro de Três Lagoas, MC = Macro de Corumbá, MS= Mato Grosso do Sul.

(1)  $\mu$  moles/min/mL de plasma. (2)  $\mu$  moles/min/mg de proteína.

Os ACE de MS apresentaram uma média de  $7,22 \pm 2,0$   $\mu\text{moles/min/mL}$  de plasma e  $0,24 \pm 0,2$   $\mu\text{moles/min/mg}$  de proteína para BChE e AChE, respectivamente. Observando que a variação em relação à média foi maior na AChE (TABELA 9).

A determinação da atividade das colinesterases tem mostrado ser um importante indicador para avaliação de grupos de trabalhadores expostos a pesticida dos grupos organofosforados e carbamatos. Estudo conduzido com os trabalhadores de uma planta de produção de pesticidas, no Irã, após 3 meses de contratação, houve uma redução de 28% nos valores da AChE e BChE, quando comparados com o valor da atividade inicial determinada no momento da admissão (JOSHAGHANI et al., 2007).

Pulverizadores na agricultura com bomba costal apresentaram a atividade média de  $505 \pm 36 \text{UI/L}$  e  $259 \pm 22 \text{UI/L}$ , com redução de 33% e 60% para AChE e BChE, respectivamente, e significativamente menor ( $p < 0,001$ ) que o grupo controle (PATHAK et al., 2011).

Soomro et al. (2008), em um estudo com trabalhadores rurais de 14 províncias do Paquistão, encontraram a concentração sanguínea de resíduo de carbaril em torno de 0,05 mg/kg de peso corporal (NOAEL=0,06mg/kg) associada com a redução significativa da BChE ( $p < 0,001$ ) em relação ao grupo controle, em 13,57% dos trabalhadores.

Tabela 10 - Percentual dos agentes de controle de endemias segundo o pesticida utilizado e sua classificação toxicológica, Mato Grosso do Sul - 2011 a 2012 (n=800)

<b>Grupo químico</b>	<b>Inseticidas</b>	<b>Classe – WHO</b>	<b>Nº.</b>	<b>%</b>
Organosforados	Temefós	III	567	70,88
	Malathion	III	83	10,38
	Fenitrothion	II	13	1,63
Carbamatos	Bendiocarb	II	86	10,75
	Carbaril	II	5	0,63
Piretroides	Deltametrina	III	192	24,00
	Cipermetrina	II	144	18,00

Nota: utilização de 1 ou mais pesticidas por agente de controle de endemias.

Os grupos químicos e os inseticidas utilizados no controle de vetores em Mato Grosso do Sul estão listados na Tabela 10, com as respectivas classificações toxicológicas. Observou-se maior utilização do grupo organofosforados com o pesticida temefós (70,88%). Dentre os grupos aplicados apenas os carbamatos e organofosforados são inibidores das enzimas colinesterases (AChE e BChE), porém, todos eles afetam o sistema nervoso central.

O tipo e severidade dos efeitos adversos dos pesticidas são determinados pelo produto químico, dose, duração, e via de exposição. A intoxicação aguda pode ser causada por altas doses, baixas doses e mistura de pesticidas (HERNANDEZ et al., 2013).

Os dados da Tabela 10 mostram que os ACE estão expostos a mistura de pesticidas, o que pode levar a efeitos toxicológicos de diferentes formas independentes, adição da dose ou interação. A toxicidade de alguns organofosforados pode ser potencializada por outros organofosforados, ocorrer efeito de sinergismo entre piretróides e compostos carbamatos, e efeitos estrogênicos decorrentes da toxicidade acumulativa de organofosforados. A interação entre pesticidas pode ocorrer quando doses de exposição estão acima da NOAEL de cada composto (HERNANDEZ et al., 2013).

A avaliação da intoxicação pela exposição a piretróides é realizada pela pesquisa de resíduos em sangue ou fluidos corporais, e seus efeitos sobre o sistema nervoso central e imunossupressor foram constatados por estudo experimental com cipermetrina em cães, realizado pela USEPA (1989), a qual sugeriu a NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) de 1,0 mg/kg/dia.

Geralmente, os resíduos de pesticidas piretróides no sangue aparecem em baixas concentrações, pois, logo que entram no organismo, eles podem se transformar em metabólitos que se acumulam induzindo os efeitos tóxicos, indicando a extensão da exposição e justificando os sintomas tóxicos em populações expostas (WHO, 1989; WHO, 1990; WHO, 1992; SOOMRO et al., 2008).

No Estado de Mato Grosso do Sul, a mediana das enzimas BChE (7,05  $\mu$ moles/min/mL de plasma) e AChE (0,19  $\mu$ moles/min/mg de proteína) apresentaram redução significativa ( $p < 0,001$ ) em relação a mediana do grupo controle (8,16  $\mu$  moles/min/mL de plasma e 0,28  $\mu$ moles/min/mg de proteína, respectivamente), houve diferença ( $p=0,0460$ ) quanto a idade mediana entre os dois grupos. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p<0,001$ ) entre a mediana da BChE nas macrorregiões e o grupo controle. A mediana da AChE foi significativamente menor ( $p<0,001$ ) que o grupo controle nas macrorregiões

MCG, MD, e MTL, porém, a MC não apresentou diferença. Entre as macrorregiões de MCG, MD e MC teve diferença significativa, e foram iguais entre as MCG e MTL (TABELA 11).

Tabela 11 - Mediana das enzimas e média da idade do grupo controle e dos agentes de controle de endemias, Mato Grosso do Sul e Macrorregiões - 2011 a 2012

Parâmetros	BChE <sup>(1)</sup>	AChE <sup>(2)</sup>	Idade
	Mediana	Mediana	Mediana
Grupo Controle	8,16	0,28	31,5
Estado	7,05	0,19	35,0
<b>P</b>	<0,001	<0,001	0,046
Grupo Controle	<sup>a</sup> 8,16	<sup>a</sup> 0,28	<sup>a</sup> 31,5
MCG	<sup>b</sup> 6,99	<sup>b</sup> 0,18	<sup>a</sup> 32,0
MD	<sup>b</sup> 7,06	<sup>c</sup> 0,21	<sup>b</sup> 36,0
MTL	<sup>b</sup> 6,99	<sup>b</sup> 0,19	<sup>b</sup> 38,0
MC	<sup>b</sup> 7,30	<sup>a</sup> 0,27	<sup>a</sup> 34,0
<b>P</b>	<0,001	<0,001	<0,001

Nota: MCG = Macro de Campo Grande, MD = Macro de Dourados, MTL = Macro de Três Lagoas, MC = Macro de Corumbá, MS= Mato Grosso do Sul.

<sup>(1)</sup> μ moles/min/mL de plasma.

<sup>(2)</sup> μ moles/min/mg de proteína.

<sup>(3)</sup> Teste Mann Whitney.

<sup>(4)</sup> Teste Kruskal Wallis. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa.

Nos ACE de Nova Delhi, na Índia, também foi encontrado diferença significativa entre os valores médios da AChE em relação ao grupo controle (SINGH et al., 2011).

Em agricultores expostos a organofosforados e carbamatos, a AChE foi significativamente menor que a atividade do grupo controle no Irã ( MOHEBBI et al.,2011), na Índia (RAMBABU et al., 2007), no Paquistão (SOOMRO et al., 2008), no Brasil (ARAUJO et al., 2007; FARIA et al., 2009).

A idade mediana da MCG e MC não apresentou diferenças ( $p < 0,001$ ), enquanto que, a MD e MTL tiveram diferença ( $p < 0,001$ ) em relação à mediana do grupo controle. Dentre as macrorregiões não houve diferença de idade entre MCG com MC, e MD com MTL (TABELA 11).

Na Tabela 12, observou-se que a AChE se apresentou reduzida em 38,52% dos ACE que apresentaram sintomas de intoxicação, e em 38,79% sem sintomas. Enquanto que a BChE encontrava-se reduzida em 53,49% dos trabalhadores com sintomas e, em 48,71% sem sintomas de intoxicação. Esta redução da BChE e da AChE com ausência de sintomas é justificada pelos alvos secundários não colinérgicos, representados pela inibição das enzimas e dos receptores da acetilcolina muscarínicos (CASIDA, 2004; FALUGI et al., 2011).

Tabela 12 – Número e porcentagem de agentes de controle de endemias segundo a ocorrência de sintomas de intoxicação e a inibição das colinesterases eritrocitária (AChE) e plasmática (BChE), Mato Grosso do Sul - 2011 a 2012 (n=800)

Enzimas	Sintomas de intoxicação						<sup>(1)</sup> p
	Sim (n=501)		Não (n=232)		Sem informação (n=67)		
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	
AChE <sup>(2)</sup>							0,786
Reduzida <sup>(3)</sup>	193	38,52	90	38,79	23	34,33	
Normal	308	61,48	142	61,21	44	65,67	
BChE <sup>(4)</sup>							0,191
Reduzida <sup>(3)</sup>	268	53,49	113	48,71	29	43,28	
Normal	233	46,51	119	51,29	38	56,72	

<sup>(1)</sup> Teste Qui-quadrado.

<sup>(2)</sup>  $\mu$  moles/min/mg de proteína.

<sup>(3)</sup> inibição acima de 25%

<sup>(4)</sup>  $\mu$  moles/min/mL de plasma.

A atividade normal da AChE com sintomas foi de 61,48%, enquanto que da BChE foi de 46,51%, podendo ser justificada pela exposição a composto do grupo dos piretróides, os quais não são inibidores das enzimas colinesterases, conforme demonstrado na Tabela 10, o uso de deltametrina foi realizado por 24%, e, cipermetrina por 18% dos trabalhadores. Ou, quando a mesma for carbamilada, pelo uso dos inseticidas do grupo carbamato, tem uma recuperação dentro de poucas horas, caracterizando o efeito rebote (BLACK; READ, 2013).

A diminuição dos indicadores AChE e BChE sofre uma profunda influência do tempo decorrido entre a exposição e a coleta das amostras de sangue (OLIVEIRA- SILVA et al., 2003).

A relação da presença de sintomas e a redução das enzimas AChE e BChE não foi estatisticamente significativa,  $p= 0,786$  e  $0,191$ , respectivamente (teste Qui-quadrado).

Segundo Kmong (2002), exposição repetida em baixas doses por longos períodos de tempo inibe as colinesterases sem aparecimento de sintomas.

Este estudo retrata vários aspectos da exposição ocupacional a inseticida na atuação da Saúde Pública. Embora o tamanho do grupo populacional seja representativo do Estado, algumas variáveis tiveram respostas em número insuficiente para realização de algumas análises. Outra limitação deste estudo foi falta de dados sobre avaliação de exposição a pesticida com ACE, e sobre os fatores interferentes na redução da BChE.

## 6 CONCLUSÃO

A prevalência de intoxicação aguda com exposição crônica dos ACE do estado de Mato Grosso do Sul foi 8,12%.

Os índices de inibição de 18,38% e 17,50%, para BChE e AChE, respectivamente, foram encontrados em MS. É possível que o baixo nível de conscientização, problemas operacionais, presença de alguns agravos, tais como: hepatite, problemas renais, cardíacos, deficiência congênita da butirilcolinesterase, alcoolismo, e consumo de alguns medicamentos possam ser fatores determinantes para estes resultados, tornando necessária uma avaliação médica destes trabalhadores.

Foi estabelecido o valor de referência de 0,18 $\mu$ moles/min/mg de proteína para AChE, e 6,98  $\mu$ moles/min/mL de plasma através de um grupo controle da mesma atividade ocupacional com ausência de exposição de no mínimo noventa dias.

Os ACE são jovens, porém, foram encontrados 2,75% (22) agentes acima de sessenta anos de idade, o que contraria a Norma Regulamentadora N. 31/2005, do Ministério do Trabalho, que proíbe manipulação de agrotóxico nesta faixa etária; com alta escolaridade, expostos a vários grupos de inseticidas, com predomínio dos organofosforados, e apresentaram um índice de uso de proteção (75,12%) indicativo da necessidade de promover a capacitação para conscientização do uso, e da utilização adequada dos equipamentos de proteção individual.

O tempo de exposição aos inseticidas foi de 1 a 5 anos (40,37%), o que sugere uma alta rotatividade da maioria destes trabalhadores; e o número de aplicações (18,12%) de 11 a 20 por mês, este dado apresenta um viés, pois, 42,62% não responderam, o que sugere não registro das aplicações, não padronização do número diário, não cumprimento do número de domicílios padronizado pelo Ministério da Saúde, exposição com carga horária excessiva, e ou controle mecânico da larva.

Os sintomas relatados pelos ACE podem ser classificados como efeitos do sistema nervoso central, nicotínico e muscarínico. Os de maior prevalência foi cansaço nas pernas (30,63%), cefaléia (29,38%), irritação ocular (27,50%), irritação da pele (24,62%), e irritação nasal (21,75%). Porém, foram relatados 3,13% de distúrbios cognitivos (confusão mental).

A avaliação da exposição dos agentes de controle de endemias, do programa de combate a leishmaniose, do município de Campo Grande, foi realizada pela determinação da atividade inicial. Foi encontrado o índice de inibição de 45,07% e 21,13%, para BChE e AChE, respectivamente, com a prevalência de intoxicação aguda por exposição crônica de 19,72%, maior que a do estado, mostrando que este procedimento é mais sensível para avaliação de exposição.

Recomenda-se complementar este estudo com novas pesquisas, para identificação da mutação genética da BChE nos ACE com redução acima de 25% desta enzima; a determinação da atividade inicial dos ACE para melhor avaliar o decaimento das colinesterases; verificação de danos genéticos nos ACE que apresentaram as enzimas reduzidas, através da utilização de biomarcadores citogenéticos, como ensaios de cometa e de micronúcleos em linfócitos de sangue periférico, e identificação dos metabólitos formados pelo uso dos inseticidas do grupo piretróide nos ACE.

Há necessidade dos gestores municipais se conscientizarem quanto à importância do monitoramento periódico conforme estabelecido pelo Ministério da Saúde, e se mobilizarem para criar estratégias de redução ou eliminação da contaminação dos ACE, garantindo a saúde do trabalhador da Saúde Pública.

## **7 RECOMENDAÇÃO**

Para garantir a saúde do trabalhador com ações preventivas há necessidade da coordenação estadual de controle de vetores realizar capacitação dos ACE quanto ao risco da exposição ocupacional a agrotóxicos. Tendo como objetivo o aumento da percepção de risco, e conseqüentemente adesão ao uso dos EPI e ao monitoramento das enzimas butirilcolinesterase e acetilcolinesterase realizadas no LACEN.

## REFERÊNCIAS

Acosta-Maldonado B, Sanchez- Ramirez B, Reza-Lopez S, Levario-Carrillo M. Effects of exposure to pesticides during pregnancy on placental maturity and weight of newborns: A cross-sectional pilot study in women from the Chihuahua State, Mexico. *Hum Exp Toxicol.* 2009; 28:451-45.

Aishwarya S. Inhibition of acetylcholinesterase in Alzheimer's disease – an in silico approach. *I JPSR.* 2012; 3(5):1487-1494.

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias autorizadas. Índice Monográfico C10 – Cipermetrina. Acesso em: jul 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/629dd00047458760914ad53fbc4c6735/C10++Cipermetrina.pdf?MOD=AJPERES>

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias autorizadas. Índice Monográfico – D06 –Deltametrina. Acesso em: jul 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/9446f78047458c8895a3d53fbc4c6735/D06++Deltametrina.pdf?MOD=AJPERES>.

Araoud M, Neffeti F, Douri W, Najjar MF, Kenani A. Paraoxonase 1 correlates with butyrylcholinesterase and Gamma glutamyl transferase in workers chronically exposed to pesticides. *J Occup Health.* 2010; 52:383-388.

Araujo JA, Lima JS, Moreira JC, Jacob SC, Soares MO, Monteiro MCM, et al. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. *Cienc Saude Col.* 2007; 12(1):115-130.

Bacchetta R, Mantecca P, Andrioletti M, Vismara C, Vailati G. Axial-skeletal defects caused by carbaryl in *Xenopus laevis* embryos. *Sci Total Environ.* 2008; 392:110-118.

Baldi I, Gruber A, Rondeau V, Lebailly P, Brochard P, Fabrigoule C. Neurobehavioral effects of long-term exposure to pesticides: results from the 4-year follow-up of the PHYTONER Study. *Occup Environ Med.* 2011; 68:108-115.

Beane Freeman EL, Bonner MR, Blair A, Hoppin JA, Sandler DP, Lubin JH. Cancer Incidence among Male Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study Cohort Exposed to Diazinon. *Am J Epidemiol.* 2005; 162:1070–1079.

Bhalli JA, Khan QM, Haq MA, Khalid AM, Nasim A. Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in a pesticide production industry. *Mutagenesis.* 2006; 21(2):143–148.

Black RM, Read RW. Biological markers of exposure to organophosphorus nerve agents. *Arch Toxicol.* 2013; 87:421-437.

Blair A, Marrett L, Freeman LB. Occupational cancer in developed countries. *Environ Health.* 2011; 10(Suppl 1):59.

Boccolini PMM.. Exposição a agrotóxicos, atividade agrícola e mortalidade por Linfoma do tipo não Hodgkin no Brasil [Tese]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca; 2010.

Bolognesi C, Creus A, Wegman PO, Marcosx R. Micronuclei and pesticide exposure. *Mutagen.* 2011; 26(1):1-26.

Bonilla E, Hernández F, Cortéz L, Mendonza M, Mejia J, Carrilo E, et al. Effects of the insecticides malathion and diazinon on the early oogenesis in mice in vitro. *Environ Toxicol.* 2008; 23:240-245.

Bortoli GM, Azevedo MB, Silva LB. Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutat Res.* 2009; 675:1-4.

Brasil. Lei nº11.350, de 05 de outubro de 2006. Regulamenta o § 5º do art. 198 da Constituição, dispõe sobre o aproveitamento de pessoal amparado pelo parágrafo único do art. 2º da Emenda Constitucional nº 51, de 14 de fevereiro de 2006, e dá outras providências [on line]. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. 06 out 2006 [acesso em 09 fev 2014]. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2004-2006/2006/lei/111350.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/111350.htm).

Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Instrução Normativa nº. 3, de 17 de julho de 2000. Estabelece procedimentos relacionados à cessão de servidores a Estados, Distrito Federal e Municípios, que executam ações na área de epidemiologia e controle de doenças.[on line]. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil [acesso em 10 set 2013]. Disponível em: [www.funasa.gov.br/site/wp-content/files\\_mf/in\\_003\\_2000.pdf](http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/in_003_2000.pdf).

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Diretoria de Gestão. Nota Técnica N. 165/2008. Estabelece parâmetros para monitoramento da colinesterase nos agentes de saúde que utilizam inseticidas organofosforados e carbamatos nas atividades de controle de vetores. Brasília: MS; 2008.

Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora Nº 7. Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. [on line]. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 06 jun 1978 [acesso em 02 dez 2010]. Disponível em: [http://portal.mte.gov.br/data/files/FF8080814295F16D0142E2E773847819/NR-%20\(atualizada%202013\).pdf](http://portal.mte.gov.br/data/files/FF8080814295F16D0142E2E773847819/NR-%20(atualizada%202013).pdf).

Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora Nº 31. Segurança e saúde no trabalho na agricultura, pecuária silvicultura, Exploração florestal e aquicultura. [on line]. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 04 mar 2005 [acesso em 10 set 2013]. Disponível em: [http://portal.mte.gov.br/data/files/8A7C816A4295EFDF0143067D95BD746A/NR-31%20\(atualizada%202013\).pdf](http://portal.mte.gov.br/data/files/8A7C816A4295EFDF0143067D95BD746A/NR-31%20(atualizada%202013).pdf)

Brender JD, Felkner M, Suarez L, Candfield MA, Henry JP. Maternal pesticide exposure and neural tube defects in Mexican Americans. *Ann Epidemiol.* 2010; 20(1):16-22.

Cakici O, Akat E. Histopathological effects of carbaril on testes of snake-eyed lizard, *Ophisops elegans*. *Environ Sci Pollut Res*. 2012; 19(1):64-71.

Caldas LQA. Intoxicações exógenas agudas por carbamatos, organofosforados, compostos biperidílicos e piretróides. Centro de Controle de Intoxicações; 2000. [acesso em 08 ago 2013]. Disponível em: <http://www.bvsde.paho.org/tutorial2/fulltex/intoxicacoes.pdf>.

Casida JE, Kathleen AD. Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu Rev Entomol*. 2013; 58:9-117.

Casida JE, Quistad JB. Organophosphate Toxicology: Safety Aspects of Nonacetylcholinesterase Secondary Targets. In: *Chemical Research in Toxicology*. 2004; 17(8):983-998.

Castro MLS, Cunha CJ, Moreira PB, Fernández RR, Garcias GL, Martino-Roth MG. Frequencia das malformações múltiplas em recém-nascidos na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, e fatores sócio-demográficos associados. *Cad Saúde Pública*. 2006; 22(5): 1009-15.

Cataño HC, Carranza E, Huamani C, Hernandez AF. Plasma cholinesterase levels and health symptoms in peruvian farm workers exposed to organophosphate pesticides. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2008; 55:153-159.

Chagas CC, Guimaraes RM, Boccolini PMM. Câncer relacionado ao trabalho: uma revisão sistemática. *Cad. Saúde Colet*. 2013; 21(2):209-223.

Chakraborty S, Mukherjee S, Roychoudhury S, Siddique S, Lahiri T, Ray MR. Chronic exposures to cholinesterase- inhibiting pesticides adversely affect respiratory health of agricultural workers in Índia. *J Occup Health*. 2009; 51:488-497.

Chauhan LK, Kumar M, Paul BN, Goel SK, Gupta SK. Cytogenetic effects of commercial formulations of deltameth and/or isoproturon on human peripheral lymphocytes and mouse bone marrow cells. *Environ Mol Mutagen.* 2007; 48:636-43.

Chen Y. Organophosphate-induced brain damage: Mechanisms, neuropsychiatric and neurological consequences, and potential therapeutic strategies. *NeuroToxicol.* 2012; 33:391-400.

Chitra KC, Manogem EM, Vardhanan SY, Sebastian CD, Jayakumar K. Testicular and epididymal toxicity of carbaril in Spraguedawley strain rats. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2011; DOI 10.1007/s00128-013-1010-y.

Choudhary N, Goyal R, Joshi SC. Effect of malathion on reproductive system of male rats. *J Environ Biol.* 2008; 29(2):259-62.

Cocker J, Mason HJ, Garfitt SJ, Jones K. Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides. *Toxic Letters.* 2002; 134:97-103.

Constantini AS, Milligi L, Kriebel D, Ramazzotti V, Rodella S, Scarpi E, et al. A Multicenter case-control study in Italy on hematology neoplasms and occupation. *Epidemiology.* 2001; 12(1):78-87.

Cuenca P, Ramirez V. Aberraciones cromossômicas em trabalhadoras expostas a plaguicidas. *Rev Biol Trop.* 2004; 52(3):623-628.

Curvo, HRM; Pignati, WA, Pignatti, MG. .Morbimortalidade por câncer infantojuvenil associada ao uso agrícola de agrotóxicos no Estado de Mato Grosso, Brasil. *Cad. Saúde Colet.* [online]. 2013; 21(1):10-17. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1414-462X2013000100003>.

Del Prado-Lu JL. Pesticide exposure, risk factors and health problems among cutflower farmers: a cross sectional study. *J Occup Med Toxicol.* 2007; 2:1-9.

Delgado IF, Paumgarten FJR. Intoxicações e uso de pesticidas por agricultores do município de Paty do Alferes, RJ, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 2004; 20(1):180-186.

Dhararjayan V, Ravichadran B, Rajrchan HR. Assessment of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in blood plasma of agriculture workers. *J Occup Environ Med*. 2012; 16(3):127-130.

Dhillon AS, Tarbutton GL, Levin JL, Plotkin GM, Lowry LK, Nalbone JT, et al. Pesticide/environmental exposures and Parkinson's disease in East Texas. *J Agromedicine*. 2008; 13:37-48.

Dimov D, Kanev K, Dimova I. Correlation between butyrylcholinesterase variants and sensitivity to soman toxicity. *Acta Bioch Polon*. 2012; 59(2):313-316.

Domingues MR, Bernardi MR, Ono EYS, Ono MA. Agrotóxicos: riscos à Saúde do Trabalhador Rural. *Rev Ciên Biol e Saúde*. 2004; 25:45-54.

Dosunmu R, Wu J, Basha MR, Zawia NH. Environmental and dietary risk factors in Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother*. 2007; 7:887-900.

Ducolomb Y, Casas E, Valdez A, González G, Lozano- Altamirano M, Betancourt M. In vitro effect of malathion and diazinon on oocytes fertilization and embryo development in porcine. *Cell Biol Toxicol*. 2009; 25:623-633.

Ellman GL, Courtney K, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 1961; 7:88-95.

Ergene S, Celik A, Cavas T, Kaya F. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Goksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environ Intern*. 2007; 33:877-885.

Falugi C, Rakonczay Z, Thielecke H, Guida C, Aluigi MG. Cholinergic Pesticides. In: *Pesticides - The Impacts of Pesticides Exposure*, Prof. Margarita Stoytcheva. Europe: InTech;

2011.p.221-242. Available from: <http://www.intechopen.com/books/pesticides-the-impacts-of-pesticidesexposure/cholinergic-pesticides>

FAO. Food and Agriculture Organization. Global food security and the role of sustainable fertilization. Roma: Organizacion de Naciones Unidas, 2003.

Farahat FM, Ellison CA, Bonner MR, McGarrigle BP, Crane AL, Fenske RA, et al. Biomarkers of chlorpyrifos exposure and effect in Egyptian cotton field workers. *Environ Health Persp.* 2011; 119(6):801-806.

Faria NMX, Facchini LA, Fassa AG, Tomasi E. Pesticides and respiratory symptoms among farmers. *Rev. Saúde Pública.* 2005; 39(6): 973-81.

Faria NMX, Rosa JAR, Facchini LA. Intoxicações por agrotóxicos entre trabalhadores rurais de fruticultura, Bento Gonçalves, RS. *Rev Saúde Publica.* 2009; 43(2):335-44.

Fear NT, Hey K, Vicent T, Murphy M. Paternal occupational and neural tube defects: a case-control study based on the Oxford Record Linkage Study register. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2007; 21(2):163-8.

Felzenszwalb I. Indicadores biológicos de exposição e de efeito. In: *Seminário Nacional de Vigilância do Câncer Ocupacional e Ambiental.* Rio de Janeiro: INCA, 2005.

Figueiredo GM, Trape AZ, Alonso HÁ. Exposição a múltiplos agrotóxicos e prováveis efeitos a longo prazo à saúde: estudo transversal em amostra de 370 trabalhadores rurais de Campinas (SP). *Rev Bras Med Trab.* 2011; 9(1):1-9.

Fischel FM. Pesticide Toxicity Profile: Carbamate Pesticides. University of Florida, IFAS-Pesticide information Office, Publication; 2008; PI-51.

Fleming LE, Gomez-Marin O, Zheng D. National health interview survey mortality among US farmers and pesticide applicators. *Am J Ind Med.* 2003; 43(2):227-233.

Furman J. Guidelines for health care providers in Washington state cholinesterase monitoring for agricultural pesticide handlers. Department of Labor & Industries. Division of Occupational Safety & Health (DOSH). Washington, 2010.

Garbellini GS, Uliana CV, Yamanaka H. Detection of DNA Nucleotides on Pretreated Boron Doped Diamond Electrodes. *J Braz Chem Soc.* 2011; 22(7):1241-1245.

Gauthier E, Fortier I, Courchesne F, Pepin P, Mortimer J, Gauvreau D. Environmental pesticides exposure as a risk factor for Alzheimer`s disease: a case-control study. *Environ Res.* 2001; 86:37-45.

Gentile N, Manas F, Bosch B, Peralta L, Gorla N, Aiassa D. Micronucleus assay as a biomarker of genotoxicity in the occupational exposure to agrochemicals in rural workers. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2012; 88:816-822.

Gibson G, Koifman S. Consumo de agrotóxicos e distribuição temporal da proporção de nascimentos masculinos no Estado do Paraná, Brasil. *Rev Panam Salud Publica.* 2008; 24(4): 240-7.

Gilbert SG. *A Small Dose of Toxicology.* 2 ed. USA: Healthy World Press, 2012.

Gomes J, Lloyd OL, Hong Z. Oral exposure of male and female mice to formulations of organophosphorous pesticides: congenital malformations. *Hum Exp Toxicol.* 2008; 27:231-240.

Gomez-Arroyo S, Martinez-Valenzuela C, Villalobos-Pietrini R, Waliszewski S. Pesticides: Genotoxic Risk of Occupational Exposure, *Pesticides - The Impacts of Pesticides Exposure.* Intech. 2011. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/pesticides-the-impacts-of-pesticides-exposure/pesticides-genotoxic-risk-ofoccupational-exposure>.

Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical Physiology.* Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006.

Hatcher JM, Pennell KD, Miller GW. Parkinson`s disease and pesticides: a toxicological perspective. *Trends Pharmacol.* 2008; 29:322-329.

Hayes TB, Khourya V, Narayana A. Atrazine induces complete feminization and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*). *Ecology*. 2010; 107:4612-4617.

Hernandez AF, Casado I, Pena G, Gil F, Villanueva E, Pla A. Low level of exposure to pesticides leads to lung dysfunction in occupationally exposed subjects. *Inhal Toxicol*. 2008; 20: 839-49.

Hernández AF, Parrón T, Tsatsakis AM, Requena M, Alarcón R, López-Guarnido O. Toxic effects of pesticides mixtures at a molecular level: Their relevance to human health. *Toxicol*. 2013; 307:136-145.

Hofmann JM, Keifer MC, De Roos AJ, Fenske RA, Furlong CE, Belle GV, et al. Occupational determinants of serum cholinesterase inhibition among organophosphate-exposed agricultural pesticide handlers in Washington State. *Occup Environ Med*. 2010; 67: 375-386.

Hougaard KS, Hannerz H, Fevelle H, Bonde JP, Burr H. Infertility among women working in horticulture: A follow-up study in the Danish Occupational Hospitalization Register. *Fertil Steril*. 2008; 91(4):1385-87.

IARC. International Agency for Research on cancer monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: occupational exposures in insecticide application and some pesticides. IARC. 1991; 53.

IARC. International Agency for Research on Cancer. 2010. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans [acesso em 01 jan 2011]. Disponível em: <http://www.iarc.fr/en/publications/list/monographs>.

INCA – Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Vigilância do Câncer relacionado ao trabalho e ao ambiente. 2e. Rio de Janeiro: INCA; 2010.

Jamil K, Prabhavathy DG, Shaik AP, Dharmi SS, Murthy S. Epidemiological studies of pesticide exposed individuals and their clinical implications. *Curr Sci*. 2006; 93:340-5.

Jenner P. Parkinson`s disease, pesticides and mitochondrial dysfunction. *Tren Neurosc.* 2001; 24:245-247.

Jintana S, Sming K, Krongtong Y, Thanyachai S. Cholinesterase activity, pesticide exposure and health impact in a population exposed to organophosphate. *Int Arch Occup Environ Health.* 2009; 82:833-842.

Joosen MJ, Jousma E, Van den Booam TM, Kuijpers WC, Smit AB, Lucassen PJ, et al. Long-term cognitive deficits accompanied by reduced neurogenesis after soman poisoning. *Neurotox.* 2009; 30:72-80.

Joshaghani HR, Ahmadi AR, Mansourian AR. Effects of Occupational exposure in pesticide plant on workers' serum and erythrocyte cholinesterase activity. *Int J Occup Med Environ Health.* 2007; 20(4):381-385.

Kamel F, Engel LS, Glader BC, Hoppin JA, Alavanja MCR, Sandler DP. Neurologic symptoms in licensed pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Human Exper Toxicol.* 2007; 26:243-250.

Karabay NU, Oguz MG. Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos. *Genet Mol Res.* 2005; 4:653-62.

Kehdy ESG, Cerqueira EMM, Bonjardim MB, Camelo RM, Castro MCL. Study of the cytogenetic effects of occupational exposure to pesticides on sanitation workers in Belo Horizonte, Brasil. *Genet Mol Res.* 2007; 6(3):581-597.

Keifer M. Cholinesterase monitoring in Washington state. In: American Public Health Association 133<sup>rd</sup> Annual Meeting and Exposition; 2005 nov 5-9; New Orleans, USA.

Khayat CB, Costa EOA, Gonçalves MW, Cunha DMC, Cruz AS, Melo COA, et al. Assessment of DNA damage in Brazilian workers occupationally exposed to pesticides: a study fom Central Brazil. *Environ Sci Pollut Res.* 2013; 20:7334-7340.

Koifman S, Koifman RJ, Meyer A. Human reproductive disturbances and pesticide exposure in Brasil. *Cad Saude Pública*. 2003; 18(2):435 -45.

Koutros S, Alavanja MCR, Lubin JH, Sandler DP, Hoppin JA, Lynch ChF, et al. An up date of cancer incidence in the agricultural health study. *J Occup Environ Med*. 2010; 52(11):108-1105.

Kwong TC, Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology. *Ther Drug Monit*. 2002; 24:144-149.

Lacasaña M, Vázquez-Grameix H, Borja-Aburto VH, Blanco-Muñoz J, Romieu I, Aguilar-Garduño C, et al. Maternal and paternal occupational exposure to agricultural work and the risk of anencephaly. *Occup Environ Med*. 2006; 63(10):649-56.

Lampón N, Hermida-Cadahia EF, Riveiro A, Tutor JC. Association between butyrylcholinesterase activity and low-grade systemic inflammation. *Ann Hepatol*. 2012; 11: 356-363.

Leite KC, Torres MBR. O uso de agrotóxicos pelos trabalhadores rurais do assentamento Catingueira Baraúna, RN. *Rev Verde*. 2008; 3(4):6-28.

Lemos NG, Dias AL, Silva-Souza AT, Mantovani MS. Evaluation of environmental Waters using the comet assay in *Tilapia rendalli*. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2005; 19:197-201.

Little S, Llewellyn H, Clarke SFJ. Sensory ataxia associated with chronic organophosphate pesticide exposure. *Hum Exp Toxicol*. 2010; 29(8):689-693.

Lotti M. Clinical toxicology of anticholinesterase agents in humans. In: Krieger R. *Handbook of pesticide toxicology*. San Diego, CA: Academic Press; 2001. p. 1043-85.

Luana Q, Ennio M, Oretta M, Massimo B. Effects of paraquat and glyphosate on steroidogenesis in gonads of the frog *Rana esculenta* in vitro. *Pest Biochem Physiol*. 2009; 93: 91-95.

Magauzi R, Mabaera B, Rusakaniko S. Health effects of agrochemicals among farm workers in commercial farms of Kwekwe district, Zimbabwe. *Pan Afr Med.* 2011; 9:26-31.

Mañas F, Peralta L, Gorla N, Bosh B, Aiassa D. Aberraciones cromossômicas em trabalhadores rurales de La Provincias de Córdoba expuestos a plaguicidas. *J Bas Appl Genet.* 2009; 20(1):09-13.

Mikami LR, Wieseler S, Souza RLR, Schopfer LM, Nachoon F, Lockridge O, et al. Five New naturally occurring mutations of the BChE gene and frequencies of 12 butyrylcholinesterase alleles in a Brazilian population. *Pharm Genom.* 2008; 18(3):213-218.

Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Dengue: instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. 3 ed. Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2001. 84 p.

Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Instrução Normativa n. 3, de 17 de julho de 2000. Estabelece procedimentos relacionados à cessão de servidores a Estados, Distrito Federal e Municípios, que executam ações na área de epidemiologia e controle de doenças [on line]. [acesso em 10 fev 2014]. Disponível em: [http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files\\_mf/in\\_003\\_2000.pdf](http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/in_003_2000.pdf)

Mohanty G, Mohanty J, Nayak AK, Mohanty S, Dutta SK. Application of comet assay in the study of DNA damage and recovery in rohu (*Labeo rohita*) fingerlings after an exposure to phorate, an organophosphate pesticide. *Ecotox.* 2011; 20:283-292.

Mohebbi GH, Jahangiri A, Hajeb P. Inhibition of acetyl cholinesterase activity farmers exposed to organophosphate pesticides in Bushehr, Iran. *Am –Euras J Toxicol Soc.* 2011; 3(3):127-129.

Moreira JC, Peres F, Pignati WA, Dores EFGC. Avaliação do risco à saúde humana decorrente do uso de agrotóxicos na agricultura e pecuária na região Centro-oeste. Relatório de pesquisa. Brasília; 2010. CNPq 555193/2006-3.

Nagen AFSR. Avaliação do risco ocupacional de trabalhadores expostos a agrotóxicos no município de Touros/Rio Grande do Norte. [Dissertação]. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2013.

O'Brien RD, Hilton BD, Gilmour L. The reaction of carbamates with cholinesterase. *Mol Pharmacol*. 1966; 2(6):593-605.

Oliveira GH, Gomes MM, Drumond TL, 2005. Importância da linha de base pré-exposição das colinesterases no controle ocupacional a praguicidas organofosforados e carbamatos. *Rev Bras Toxicol*. 2005; 18(1):43-48.

Oliveira-Silva JJ, Alves SR, Della Rosa HV. Avaliação da exposição humana a agrotóxicos. In: Peres F, Moreira JC. (Org.). *É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ. 2003; 121-133.

Oliveira-Silva JJ, Alves SR, Inacio AF, Meyer A, Sarcinelli PN, Mattos RCOC, et al. Cholinesterase activities determination in frozen blood samples: an improvement to the occupational monitoring in developing countries. *Hum Exp Toxicol*. 2000; 19:173-177.

Oliveira-Silva, JJ. Evaluation of the influence of social-economic factors on pesticide poisoning in a community of rural works at Rio de Janeiro State. *Rev Saúde Pública*. 2001; 35(2):130-135.

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde. *Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos*. Brasília: Ministério da Saúde; 1997.

Ordentlich A, Barak D, Kronman Ch, Ariel N, Segall Y, Velan B, et al. The architecture of human acetylcholinesterase active center probed by interactions with selected organophosphate inhibitors. *J Biol Chem*. 1996; 271(20):11953-11962.

Orsi L, Delari L, Monnereau A, Delval P, Berthou C, Fenaux P, et al. Occupational exposure to pesticides and lymphoid neoplasma among men; results of a French case-control study. *Occup Environ Med*. 2009; 66(5):291-298.

Özlem Ç. Carbaryl-induced histopathology on testes of Levantine frog, *Pelophylax bedriagae* (Anura: Ranidae). *Bull Environ Contam Toxicol*. DOI 10.1007/s00128-013-1010-y. Published online: 15 may 2013.

Paes AM, Carniatto SR, Francisco FA, Brito NA, Mathias PC. Acetylcholinesterase activity changes on visceral organs of VMH lesion-induced obese rats. *Int J Neurosc*. 2006; 116: 1295-302.

Paiva JCG, Cabral IO, Soares BM, Sombra CML, Ferreira JRO, Moraes MO, et al. Biomonitoring of rural workers exposed to a complex mixture of pesticides in the municipalities of Tianguá and Ubajara (Ceará State, Brazil): Genotoxic and cytogenetic studies. *Environ Mol Mutagen*. 2011; 52:492-501.

Pasiani JO, Torres P, Silva JR, Diniz BZ, Caldas ED. Knowledge, attitudes, practices and biomonitoring of farmers and residents exposed to pesticides in Brazil. *Int J Environ Res Public Health*. 2012; 9:3051-3068.

Pathak MK, Fareed M, Bihari V, Mathur N, Srivastava AK, Kuddus M, et al. Cholinesterase levels and morbidity in pesticide sprayers in North India. *Occup Med*. 2011; 61(7):512-514.

Pathak MK, Fareed M, Srivastava AK, Bihari V, Kuddus M, Pangtey BS, et al. Seasonal variations in cholinesterase activity, nerve conduction velocity and lung function among sprayers exposed to mixture of pesticides. *Environ Sci Pollut Res*. 2013; 20: 7296-7300.

Pereira MIR, Rodrigues IRW, Sant'Ana G. Risco ocupacional para trabalhadores expostos ao temefós no programa de controle do vetor da dengue no Distrito Federal. *Brasília Med*. 2009; 46(4): 332-338.

Peres F, Moreira JC, Dubois GS. Agrotóxicos, Saúde e Ambiente: uma introdução ao tema. In: Peres F, Moreira JC. (Org.). *É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2003. p. 21-41.

Perez ACA. Agrotóxico como fator de risco para a ocorrência de câncer em Culturama Distrito de Fátima do Sul – Mato Grosso do Sul [Tese]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2009.

Perry MJ. Effects of environmental and occupational pesticide exposure on human sperm: a systematic review. *Hum Reprod.* 2008; 14(3): 233-42.

Pires DX, Caldas ED, Recena MC. P. Uso de agrotóxicos e suicídios no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública.* 2005; 1(2): 598-605.

Quandt SA, Chen H, Grzywacz JG, Vallejos QM, Galvan L, Arcury TA. Cholinesterase depression and its association with pesticide exposure across the Agricultural Season among Latino farmworkers in North Carolina. *Environ Health Perspect.* 2010; 118(5):635-639.

Quandt SA, Hernandez-Valero MA, Grzywacz JG. Workplace, household, and personal predictors of pesticide exposure for farmworkers. *Environ Health Perspect.* 2006; 114:943-52.

Rambabu N, Kaiser J. Determination of Ache levels and genotoxic effects in farmers occupationally exposed to pesticides. *Hum Exp Toxicol.* 2007; 26:723-731.

Recio-Vega R, Ocampo-Gomez G, Borja-Arbutto VH, Moran-Martinez J, Cebrian-Garcia ME. Organophosphorus pesticide exposure decreases sperm quality: association between sperm parameters and urinary pesticide levels. *J Appl Toxicol.* 2008; 28(5):674-80.

Reeves M, Schafer KS. Greater risks, fewer rights: US farmworkers and pesticides. *Int J Occup Environ Health.* 2003; 9:30-39.

Remor AP, Totti CC, Moreira DA, Dutra GP, Heuser VD, Boeira JM. Occupational exposure of farm workers to pesticides: Biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. *Environ Internat.* 2009; 35:273-278.

Ribeiro ACC, Mella EAC. Intoxicação ocupacional por organofosforado – A importância da dosagem da colinesterase. *Inic Cient Cesumar.* 2007; 9:125-34.

Rull RP, Ritz B, Shaw GM. Neural tube defects and maternal residential proximity to agricultural pesticide applications. *Am J Epidemiol.* 2006; 163(8):743-53.

Rusiecki JA, Patel R, Koutros S, Beane-Freeman L, Landgren O, Bonner MR, et al. Cancer Incidence among Pesticide Applicators Exposed to Permethrin in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspec.* 2009; 117(4):581-586.

Santarpia L, Grandone H, Contaldo F, Pasanisi F. Butyrylcholinesterase as a prognostic marker: a review of the literature. *J Cach Sar Mus.* 2013; 4:31-39.

Santos VMR, Donnici CL, DaCosta JBN, Caixeiro JMR. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. *Quím Nova.* 2007; 30(1):159-170.

Secretaria de Saúde do Estado de Mato Grosso do Sul [homepage na internet]. Campo Grande: Boletim epidemiológico nº 40 – dengue – semana 51 e 52; 2012 [atualizada em 7 de janeiro de 2013; acesso em 10 fev 2014]. Disponível em: [http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id\\_comp=544&id\\_reg=194581&voltar=home&site\\_reg=116&id\\_comp\\_orig=544](http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id_comp=544&id_reg=194581&voltar=home&site_reg=116&id_comp_orig=544).

Secretaria de Saúde do Estado de Mato Grosso do Sul [homepage na internet]. Campo Grande: Boletim epidemiológico nº 40 – dengue – semana 01 a 52; 2011 [atualizada em 18 de janeiro de 2012; acesso em 10 fev 2014]. Disponível em: [http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id\\_comp=544&id\\_reg=165078&voltar=home&site\\_reg=116&id\\_comp\\_orig=544](http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id_comp=544&id_reg=165078&voltar=home&site_reg=116&id_comp_orig=544).

Silva RGS, Martins JL, Seixas S, Silva DCG, Lemos SPP, Lemos PVB. Defeitos congênitos e exposição a agrotóxicos no Vale do São Francisco. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011; 33(1): 20-6.

Silva, JM. A relação entre cânceres e agrotóxicos. ed. 296. São Leopoldo: Revista do Instituto Humanistas Unisinos; 2007. [acesso em 3 nov 2009]. Disponível em: <http://www.ihuonline.unisinos.br/uploads/edicoes/1244487097.398pdf.pdf>.

Singh S, Kumar V, Thakur S, Banerjee BD, Chandna S, Rautela RS, et al. DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environ Toxicol Pharm.* 2011; 31: 278-285.

Siqueira MT, Braga C, Cabral-Filho JE, Augusto LG, Figueiroa JN, Souza AL. Correlation between pesticide use in agriculture and adverse birth outcomes in Brazil: an ecological study. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2010; 84(6):647-51.

Soomro AM, Seehar GM, Bhangar MI, Channa NA. Pesticides in the blood samples of spray-workers at agriculture environment: The toxicological evaluation. *Pak J Anal Environ Chem.* 2008; 9(1): 32-37.

Souza A, Medeiros AR, Souza AC, Wink M, Siqueira JR, Ferreira MBC, et al. Avaliação do impacto da exposição a agrotóxicos sobre a saúde de população rural, Vale do Taquari (RS, Brasil). *Cienc Saude Colet.* 2011; 16(8): 3519-3528.

Starks SE, Gerr F, Kamel F, Lynch ChF, Alavanja MC, Sandler DP, et al. High pesticide exposure events and central nervous system function among pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Int Arch Occup Environ Health.* 2012; 85: 505-515.

Stefanidou S, Athanasis S, Spiliopoulou H. Butyrylcholinesterase: biomarker for exposure to organophosphorus insecticides. *Intern Med J.* 2009; 29: 57-60.

Tahir S, Tahir A. Assessment of pesticide exposure in female population living in cotton growing areas of Punjab, Pakistan. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2012; 89: 1138-1141.

Tanner CM, Ross GW, Jewell SA, Hauser RA, Jankovic J, Factor SA, et al. Occupation and Risk of Parkinsonism. *A Multicenter Case-Control Study.* *Arch Neurol.* 2009; 66(9): 1106-1113.

Taylor P. Agentes anticolinesterásicos. In: Goodman & Gilman. *As bases farmacológicas da terapêutica.* São Paulo: Mc Graw Hill, 2003. p. 101-119.

Thundiyil JG, Stober J, Besbelli N, Pronczuk J. Acute pesticide poisoning: a proposed classification tool. *Bull World Health Organ.* 2008; 86(3): 205-9.

Timothy D, Fang-Chi H, Grzywacz J, Chen H, Quandt S. Evaluation of Candidate genes for cholinesterase activity in Farm workers exposed to organophosphorous SNPs in BChE. *Environ Health Perspect.* 2010; 118: 1395-1399.

Undeger U, Basaran N. Effects of pesticides on human peripheral lymphocytes in vitro: induction of DNA damage. *Arch Toxicol.* 2005; 79: 169-76.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. Pesticide fact sheet number 199; Cypermethrin. Office of pesticide programs, Registration Div. Washington: Usepa; 1989.

USEPA . United States Environmental Protection Agency (2006) Reregistration Eligibility Decision for Cypermethrin. Available at URL: [http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDS/cypermethrin\\_red.pdf](http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDS/cypermethrin_red.pdf). 5/26/09

Veiga MM, Duarte MFJC, Meirelles LA, Garrigou A, Baldi I. A contaminação por agrotóxicos e os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs). *Rev. Bras. Saúde Ocup.* 2007; 32(116): 57-68.

Venkata RS, Ravi KVS, Indira S. Pseudocholinesterase and liver function test in hepatitis and obstructive jaundice. *JCDR.* 2011; 5(4): 729-32.

Wang A, Costello S, Cockburn M, Zhang X, Bronstein J, Ritz B. Parkinson's disease risk from ambient exposure to pesticides. *Eur J Epidemiol.* 2011; 26(7): 547-555.

Weselak M, Arbuckle TE, Wigle DT, Walker MC, Krewski D. Pre and post-conception pesticide exposure and the risk of birth defects in Ontario farm population. *Reprod Toxicol.* 2008; 25(4): 472-80.

Wesseling C, Keifer M, Ahlbom A, McConnell R, Moon J-D, Rosenstock L, et al. Long-term neurobehavioral effects of mild poisonings with organophosphate and n-methyl carbamate pesticides among banana workers. *Int J Occup Environ Health*. 2002; 8(1): 27-34.

World Health Organization. Deltamethrin. Environmental health Criteria 97. International Program on Chemical Safety. Geneva. 1990.

World Health Organization. Environmental health Criteria 82. Cypermethrin. International Program on Chemical Safety. Geneva. 1989.

World Health Organization. The WHO recommended classification of Pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009. Geneva; 2009 [acesso em 17 jun 2013]. Disponível em: [http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides\\_hazard\\_2009.pdf](http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf).

World Health Organization. WHO specifications and evaluations for public health pesticides: Bendiocarb. Geneva, 2008. [acesso em 17 jun 2013]. Disponível em: [www.who.int/whopes/quality/Bendiocarb\\_eval\\_WHO\\_jan\\_2009.pdf](http://www.who.int/whopes/quality/Bendiocarb_eval_WHO_jan_2009.pdf).

Yucra S, Rubio J, Gasco M, Gonzales C, Steenland K, Gonzáles GF. Semen quality and reproductive sex hormone levels in Peruvian pesticide sprayers. *Int J Occup Environ Health*. 2006; 12(4): 355-61.

Zhang X, Zhao W, Jing R, Wheeler K, Smith GA, Stallones L, et al. Work-related pesticide poisoning among farmers in two villages of Southern China: a cross-sectional survey. *BMC Public Health*. 2011; 11: 429-437.

## **APÊNDICES**

Número \_\_\_\_\_

Data de recebimento

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO

<b>I - Identificação do Servidor</b>		
1. Nome completo: _____		
2. Endereço: _____		Nº _____
3. Bairro: _____	CEP _____	Município: _____ UF _____
4. RG: _____	5. CPF: _____	
6. Idade: _____	7. Data de Nascimento: ____/____/____	8. Sexo: ( ) Masc. ( ) Fem.
9. Estado civil: ( ) Solto ( ) Casado ( ) Viúvo ( ) Outro		10. Raça/Cor ( ) branco ( ) Negro ( ) Mestiço ( ) Indígena
11. Escolaridade (em anos de estudo concluídos): A- ( ) nenhuma B- ( ) de 1 a 3 C- ( ) de 4 a 7 D- ( ) de 8 a 11 E- ( ) de 12 e mais F- ( ) Ignorado		
<b>II- Dados Ocupacionais:</b>		
12. Formas de contato com pesticidas de acordo com sua função:		
A- ( ) armazenamento do produto	F- ( ) preparo do produto	
B- ( ) aplicação do produto (pulverização)	G- ( ) supervisão na aplicação	
C- ( ) Descarte da embalagem	H- ( ) Limpeza /manutenção do equipamento	
D- ( ) Limpeza da roupa	I- ( ) transporte	
E- ( ) Controle e expedição ( presença no ambiente J- ( ) Outras formas _____		
13. Tempo de Exposição: anos: _____ meses: _____ Nº de aplicações/mês _____		
14. Usa equipamentos de proteção (EPI)? ( ) SIM ( ) NÃO QUAIS? A- ( ) luvas nitrílicas B- ( ) botas C- ( ) máscara D- ( ) camisa de manga longa caqui E- ( ) óculos F- ( ) boné G- ( ) calça caqui		
15. Data do último contato com pesticida: ____/____/____.		
16. Produtos utilizados no último contato: A- ( ) temefós, B- ( ) malathion, C- ( ) fenitrothion D- ( ) bendiocarb, E- ( ) carbaril, F- ( ) propoxur, G- ( ) pirimifós metil, H- ( ) deltam etrina, I- ( ) outro _____ Concentração do produto usado: _____		
17. Recebeu treinamento sobre utilização de pesticidas? ( ) SIM ( ) NÃO		
18. Este Exame é? Admissional A- ( ) É Após férias? F- ( ) Rotina? R- ( ) Demissão? D- ( )		
<b>III- Dados Clínicos:</b>		
19. Faz uso de algum medicamento? ( ) Não ( ) Sim Qual? _____		
20. Apresenta alguns destes sintomas:		
A- ( ) Cefaléia	K- ( ) Vertigem	U- ( ) Câimbras
B- ( ) Agitação Irritabilidade	L- ( ) Tremores	V- ( ) Formigamento
C- ( ) Vertigem/tonturas	M- ( ) Visão turva	X- ( ) Incordenação motora
D- ( ) Fraqueza Muscular	N- ( ) Cólicas	Z- ( ) Diarréia
E- ( ) Tosse	O- ( ) Náusea	Z1- ( ) Vômito
F- ( ) Irritação Ocular	P- ( ) Irritação nasal	Z2- ( ) Secreção brônquica
G- ( ) Inapetência	Q- ( ) Alteração do sono	Z3- ( ) Confusão mental
H- ( ) Irritação da pele	R- ( ) Salivação	Z4- ( ) Cansaço nas pernas
I- ( ) Palpitação	S- ( ) Incontinência urinária	Z5- ( ) Sangramentos
J- ( ) Sudorese	T- ( ) Taquicardia	Z6- ( ) Outros _____
		Z7- ( ) Não
21. O servidor percebe relação entre o horário dos seus sintomas e o seu horário de trabalho: ( ) Sim ( ) Não.		

Local de Coleta \_\_\_\_\_

Técnico responsável pelo envio: \_\_\_\_\_

Fone para contato: \_\_\_\_\_

Data da coleta \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você, que é agente de saúde e atua no controle de vetores realizando ações de aplicação de inseticidas, está sendo convidado a participar de uma pesquisa intitulada: **FATOR DE RISCO PARA CÂNCER: AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO A AGROTÓXICOS NOS TRABALHADORES DE CONTROLE DE VETORES DO ESTADO DE MS**. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. Este estudo está sendo conduzido por Sônia Aparecida Viana Câmara, aluna de doutorado do Programa Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste, da UFMS.

Porque o estudo está sendo feito?

Porque os inseticidas que você usa no controle de vetores atuam no seu organismo, principalmente no cérebro e podem causar tremores, visão turva, falta de coordenação motora, insônia, agitação, irritabilidade, confusão mental, salivação, que são sintomas de intoxicação aguda

A finalidade deste estudo é medir a quantidade de uma substância chamada colinesterase que pode indicar se você está ou não com intoxicação. Caso o exame detectar que você está com intoxicação nós iremos te avisar e ao seu coordenador, para que seja agendada uma consulta na Unidade de Saúde do seu Município para realização de exames complementares e tratamento médico, e, seja afastado temporariamente da atividade de aplicação dos inseticidas.

Quem participará deste estudo?

Você está sendo convidado porque trabalha no controle de vetores, no combate a dengue, leishmaniose, doença de chagas, manuseando inseticidas pertencentes aos grupos: organofosforados e carbamatos, lotados nas Secretarias Municipais de Saúde do Estado de Mato Grosso do Sul.

Quem não poderá participar deste estudo?

Não poderão participar deste estudo, os funcionários que não realizam ações de controle de vetores no município, os agentes comunitários e funcionários que apresentam problemas de saúde, tais como: doenças hepáticas (cirrose, hepatites), alcoolismo, anemias e os agentes que não aceitarem fazer parte do estudo.

O que serei solicitado a fazer?

Você responderá um questionário com a finalidade de dar informações sobre a sua atividade no trabalho, tipo de produto químico que manuseia e também será requisitado duas coletas de sangue.

O que se sabe sobre colinesterase?

A colinesterase é uma enzima que se encontra no sangue, fígado, plasma, tecido nervoso, pâncreas e intestino delgado. O inseticida que você usa prejudica a função desta substância que já existe no seu corpo, e isso indica se você está ou não com intoxicação, o que pode prejudicar a sua saúde.

Quanto tempo estarei no estudo?

Você participará no estudo durante um ano, em que comparecerá duas vezes na Unidade de Saúde do seu município, em datas pré-agendadas, para a coleta de sangue.

Quantas outras pessoas estarão participando deste estudo?

Serão convidados 900 servidores que trabalham nas secretarias municipais de Saúde de Mato Grosso do Sul, que atuam no controle de vetores manuseando produtos químicos (pesticidas organofosforados e carbamatos).

Que benefício você pode esperar?

Você deverá buscar o resultado dos seus exames dentro de sete dias após da data de envio das amostras, na Unidade de Saúde onde foi realizada a coleta do seu sangue. Se for identificado uma intoxicação no seu resultado, você deverá consultar o médico da Unidade de Saúde para realizar exames complementares.

Se for constatado que a redução da colinesterase é decorrente da manipulação dos inseticidas, você deverá ser afastado desta atividade temporariamente por 30 dias, para ficar sem a intoxicação, esta medida é amparada pela NR7 do Ministério do Trabalho e Nota Técnica nº 165 de 2008 do Ministério da Saúde. Após este período, você pode retornar nas suas atividades de aplicação de veneno. Todos os coordenadores do serviço de controle de vetores dos municípios receberão esta orientação, com cópia das normas.

Que prejuízos podem acontecer comigo se eu participar deste estudo? Não há riscos. Você poderá experimentar constrangimento ao responder algumas perguntas do questionário. Você poderá sentir dor no local da picada da agulha. Não terá nenhum custo para você.

Se eu tiver algum prejuízo (ou evento adverso), quem pagará pelo médico e a conta do hospital?

Não haverá nenhum efeito adverso. Você não receberá nenhuma compensação financeira pela participação. Você solicitará o resultado do seu exame na mesma Unidade de Saúde que você realizou a coleta de sangue, após sete dias da data do envio da amostra ao Lacen.

Que benefício eu posso esperar?

Este diagnóstico tem como benefício fornecer informações para garantir a sua saúde, subsidiar as ações de controle e prevenção das Intoxicações Agudas e Crônicas por Pesticidas no Serviço Público, promovendo a sua saúde, e prevenindo doenças irreversíveis causadas pelo uso prolongado de inseticidas.

Quem poderá ver as respostas do seu questionário?

Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. Somente a equipe de estudo, representantes do Comitê de Ética e inspetores de agências regulamentadoras do governo, terão acesso a suas informações para verificar os dados do estudo.

Os resultados da pesquisa serão divulgados aos participantes através de correspondência pelo correio, correio eletrônico, publicações e apresentados aos gestores municipais e Estadual através da Comissão Intergestor Bipartite (CIB).

A quem você deve contactar para esclarecer qualquer dúvida?

Você deve contactar com a pesquisadora Sônia Aparecida Viana Câmara, através do telefone (67) 3345-1319. Celular: 9902 5037, e ao Comitê de Ética/CEP (67) 3345 7187, para esclarecimentos caso sinta necessidade.

Minha participação no estudo é **VOLUNTÁRIA** e poderei recusar a participar ou desistir a qualquer momento sem prejuízo em relação ao trabalho que exerço na Secretaria de Saúde Municipal.

Você receberá uma via assinada deste termo de consentimento.

Declaro que li e entendi este formulário de consentimento e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas e que sou voluntário a tomar parte neste estudo.

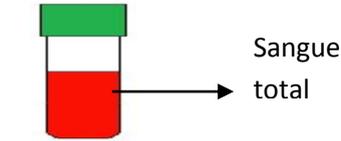
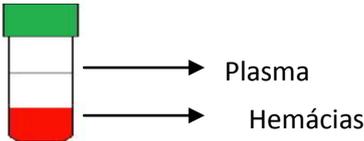
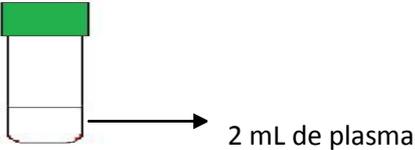
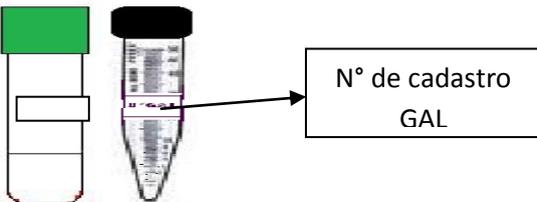
Assinatura do Voluntário \_\_\_\_\_ data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura da Pesquisadora \_\_\_\_\_

Sônia Aparecida Viana Câmara

### APÊNDICE C- PROCEDIMENTO PARA COLETA

**OBS:** O trabalhador deverá fazer jejum de bebidas alcoólicas por 48 horas antes da coleta da amostra de sangue.

<p>1. Coletar 3ml de sangue com anticoagulante (Heparina ou EDTA),</p> 	<p>2. Separar o plasma das hemácias através de centrifugação a 2500 rpm por 10 minutos</p> 
<p>3. Colocar 2ml do plasma em um tubo identificado e congelar</p> 	<p>4. Descartar o restante do plasma e colocar 0,5mL (meio mL) de hemácias no tubo contendo tampão, fornecido pelo Lacen, e congelar.</p> 
<p>5. Identificar os tubos com o n°. gerado pelo GAL no exame acetilcolinesterase</p> 	<p>6. As amostras devem ser transportadas em caixa isotérmica refrigerada com gelox congelado</p> <p>7. Devem ser encaminhadas imediatamente após a coleta, para o Lacen, para evitar <b><u>alteração no resultado do exame.</u></b></p>

**Obs:**

1-Deverá encaminhar o plasma e a hemácia. A hemácia que deverá ser diluída no meio de transporte fornecido pelo LACEN.

Encaminhar os tubos congelados, juntamente com a Ficha Individual de Investigação de Intoxicação preenchida e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, assinado pelo trabalhador.

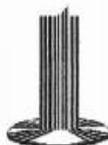
2- Os municípios devem solicitar os tubos com meio de transporte para o Lacen,

#### II- Técnicas de Biossegurança no Transporte de Material Biológico

**A amostra deve ser embalada da seguinte forma:**

1. Verificar se todas as amostras estão identificadas com o n° da ficha do servidor correspondente;
2. Para que a amostra não fique solta fixar os tubos em estante ou outro material para proteger contra impacto físico durante o transporte.
3. Colocar a estante contendo os tubos com as amostras em caixas de isopor com gelo reciclável (gelox congelado), a quantidade de gelox deve corresponder a no mínimo 2/3 do volume da caixa do isopor;
4. Colocar as fichas de identificação do servidor e o termo de consentimento em envelope, e prender com fita na parte externa da tampa da caixa do isopor;
5. Endereçar o isopor: nome e endereço da instituição destinatária, nome e endereço da instituição remetente.
6. Amostras sem as informações indicadas acima, com material insuficiente, lipêmico, ou hemolisada serão recusadas, e a unidade de saúde solicitante será comunicada para encaminhamento de nova amostra.

## APÊNDICE D - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA/UFMS

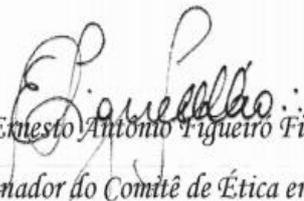


**Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**  
**Comitê de Ética em Pesquisa / CEP/UFMS**



*Carta de Aprovação*

O protocolo nº 1769 da Pesquisadora Sônia Aparecida Viana Câmara intitulado "Fator de risco para câncer: avaliação da exposição a agrotóxicos nos trabalhadores de controle de vetores do Estado de MS", e o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram revisados por este comitê e aprovados em reunião ordinária no dia 24 de junho de 2010, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.

  
Prof. Ernesto Antônio Figueiro Filho  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 24 de junho de 2010.

APÊNDICE E - ARTIGO PUBLICADO

**AVALIAÇÃO DE EXPOSIÇÃO A AGROTÓXICOS: DETERMINAÇÃO DOS  
VALORES DE REFERÊNCIA PARA COLINESTERASE PLASMÁTICA E  
ERITROCITÁRIA**



## Exposição a agrotóxicos: determinação dos valores de referência para colinesterase plasmática e eritrocitária

Sônia Aparecida Viana Câmara, Iandara Schettert Silva, Elenir Rose Jardim Cury Pontes e Antônio Marcos Jacques Barbosa

### RESUMO

**Objetivo.** Estabelecer um valor de referência de acetilcolinesterase e butirilcolinesterase para os trabalhadores da Saúde Pública no controle de vetores.

**Método.** A amostra foi composta de 93 trabalhadores que atuam no controle de vetores dos programas de Saúde Pública, do Estado de Mato Grosso do Sul, após um período de ausência de exposição aos pesticidas do grupo carbamatos e organofosforados. O método utilizado foi o de Ellman, modificado por Oliveira-Silva.

**Resultados.** Os trabalhadores foram compostos de 30 (32,3%) mulheres e 63 (67,7%) homens. A média de ausência de exposição aos inseticidas carbamatos e organofosforados foi  $148,1 \pm 17,7$  dias, com mínimo de 90 dias e o máximo de 210 dias. A idade para o sexo feminino variou de 18 a 57 anos, com média de  $33,4 \pm 10,9$  anos, enquanto para o sexo masculino variou de 22 a 59 anos, com a média de  $34,6 \pm 9,3$  anos. Observou-se predomínio da etnia branca (63,4%) e de solteiros (44,1%). Foi identificado bom nível de escolaridade em 91,4% da amostra. O valor de referência para acetilcolinesterase foi  $0,18 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de proteína, e para butirilcolinesterase foi  $6,98 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mL}$  de plasma, correspondente ao ponto de corte do primeiro quartil da atividade enzimática do grupo.

**Conclusão.** Foi determinado o valor de referência da acetilcolinesterase e butirilcolinesterase para um grupo populacional específico, que permite

Sônia Aparecida Viana Câmara – farmacêutica e bioquímica, doutoranda do Programa Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS, Brasil

Iandara Schettert Silva – médica veterinária, doutora, professora adjunta da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS, Brasil

Elenir Rose Jardim Cury Pontes – cirurgiã dentista, doutora, professora adjunta do Programa Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS, Brasil

Antônio Marcos Jacques Barbosa – químico, doutor em Físico-Química, Laboratório Central de Saúde Pública Estadual, Setor de Toxicologia, Campo Grande-MS, Brasil



**Correspondência.** Sônia Aparecida Viana Câmara. Rua das Garças, n.º 967, ap. 102, Centro, CEP 79.020-180, Campo Grande-MS. Telefones: 67 33451319 e 67 9902 5037.

Internet: [sonia.viana@uol.com.br](mailto:sonia.viana@uol.com.br)



Recebido em 22-6-2012. Aceito em 30-8-2012.

Os autores declaram não haver potencial conflito de interesses.

avaliar a relação entre processo de trabalho e a saúde dos trabalhadores, e possibilita estabelecer ações de intervenção para impedir intoxicação crônica com manifestações neurológicas.

**Palavras-chave.** Acetilcolinesterase, butirilcolinesterase, controle de vetores, saúde do trabalhador.



## ARTIGO ORIGINAL

**ABSTRACT**

*Exposure to agrochemicals: determination of reference values for plasma and erythrocyte cholinesterase*

**Objective.** To set reference values of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase for public health workers in the vector control area.

**Method.** The sample consisted of 93 employees who work in vector control programs of the Brazilian Public Health System in the State of Mato Grosso do Sul, after lack of exposure to carbamates and organophosphates. The method used was that of Ellman modified by Oliveira-Silva.

**Results.** There were 30 (32.3%) females and 63 (67.7%) males in the sample. The average of lack of exposure to organophosphorus and carbamate pesticides was  $148.1 \pm 17.7$  days, with a minimum of 90 days and a maximum of 210 days. The female age ranged from 18-57 years with a mean of  $33.4 \pm 10.9$  years, while the male age ranged from 22-59 years with a mean of  $34.6 \pm 9.3$  years. Caucasians (63.4%) and singles (44.1%) predominated in the sample. A high educational level was also observed in the sample (91.4). The reference value for acetylcholinesterase was  $0.18 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  protein, and  $6.98 \mu\text{moles}/\text{min}/\text{mL}$  plasma for butyrylcholinesterases, corresponding to the first quartile cutoff of the enzymatic activity.

**Conclusion.** The reference value of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase was determined for a specific population group. This allows us to evaluate the relationship between labor process and workers' health so that we may establish intervention actions to prevent chronic intoxication with neurological manifestations.

**Key words.** Acetylcholinesterase; butyrylcholinesterase; vector control; occupational health; pesticides.

**INTRODUÇÃO**

A colinesterase é enzima responsável pela hidrólise da acetilcolina, presente nas sinapses, com a função de mediadora química da transmissão de impulsos nervosos através de fibras pré-ganglionares parassimpáticas e pós-ganglionares simpáticas.<sup>1</sup>

A colinesterase se classifica em dois tipos: acetilcolinesterase e pseudocolinesterase. A acetilcolinesterase, também chamada de colinesterase verdadeira, é produzida nas hemácias, no tecido nervoso e nos músculos estriados e exerce maior importância na destruição da acetilcolina nas sinapses nervosas. A pseudocolinesterase inespecífica ou butirilcolinesterase está presente em vários órgãos, principalmente no fígado, no plasma, pâncreas e no intestino delgado e em menor concentração no sistema nervoso central e periférico.<sup>2</sup>

Essas duas enzimas apresentam meias-vidas diferentes, ou seja, três meses para a acetilcolinesterase e cerca de uma semana para a butirilcolinesterase. Baseada, nessa diferença, é possível identificar temporalmente em aguda e crônica as intoxicações por inseticidas dos grupos carbamatos e organofosforados.<sup>3,4</sup>

Os inseticidas do grupo carbamatos e organofosforados são inibidores das colinesterases. A butirilcolinesterase plasmática é um biomarcador de exposição, e a acetilcolinesterase eritrocitária é um biomarcador de efeito a esses inseticidas.<sup>5,6</sup>

Devido ao emprego desses compostos nos programas de controle de endemias, os agentes comunitários de saúde que atuam no controle de vetores estão ocupacionalmente expostos na fase de armazenamento, preparo, aplicação, limpeza e manutenção dos equipamentos de borrifação e de prevenção. O controle da exposição ocupacional é realizado por meio da determinação da atividade colinesterásica no sangue dos trabalhadores, pois sua variação é proporcional à intensidade e duração da exposição aos agentes anticolinesterásicos.<sup>7,8</sup>

Tendo em vista que os níveis basais de colinesterase sofrem variação de uma pessoa para outra, o ideal é a determinação do valor de pré-exposição de cada indivíduo para controle ocupacional de exposição a pesticidas organofosforados e carbamatos.<sup>6</sup> Entretanto esta determinação nem sempre é possível, então, se recomenda o uso de um valor de referência da atividade enzimática, obtido de uma população não exposta.

Como a atividade enzimática varia de acordo com o sexo, etnia, idade e fatores socioeconômicos, a escolha dessa população oferece certa dificuldade. Diante dessas limitações, no presente estudo buscou-se estabelecer o valor de referência para colinesterase plasmática e eritrocitária em um grupo de trabalhadores de controle de vetores com um período de ausência de exposição aos inseticidas.

## MÉTODO

Trata-se de um estudo de avaliação dos valores de referência da colinesterase plasmática (butirilcolinesterase) e eritrocitária (acetilcolinesterase), em trabalhadores que atuam no controle de vetores dos programas de Saúde Pública, do Estado de Mato Grosso do Sul, em 2011, que estavam na ausência de exposição aos pesticidas do grupo carbamatos e organofosforados.

A amostra de 93 agentes foi calculada da população de 800 trabalhadores, pelo Surveysystem, com prevalência de 10%, nível de confiança de 95%, margem de erro de 4%. Foi selecionada por conveniência a partir dos seguintes critérios de inclusão: ser agente comunitário do programa de controle de vetores das secretarias municipais de Saúde, manipular inseticidas do grupo químico organofosforados (temefós) e carbamatos (bendiocarb), apresentar ausência de exposição aos inseticidas anticolinesterásicos acima de noventa dias ou estar no processo admissional, ser funcionário com vínculo temporário ou permanente. Não participaram deste estudo os agentes que manipulam inseticidas do grupo piretroide (deltametrina) ou que não apresentavam o período de ausência de exposição.

O inseticida temefós é um larvicida pertencente à classe toxicológica III, utilizado em campanhas de saúde pública no combate à dengue, enquanto que o bendiocarb é aplicado no combate à leishmaniose.

A avaliação dos trabalhadores foi realizada por meio da aplicação de um questionário e pela análise da atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária.

Com o questionário aplicado foram avaliadas as seguintes variáveis: sociodemográficas: idade, sexo, escolaridade, estado civil, município de atuação; relacionadas à exposição: formas de contato com agrotóxicos de acordo com a função, tempo de exposição, uso de equipamentos de proteção individual; relacionadas ao agrotóxico: nome do produto, princípio ativo, concentração do produto aplicado e classificação segundo grupo químico.

As amostras de sangue para análise toxicológica dos níveis de atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária foram coletadas em tubo de *vacutainer* heparinizado e centrifugadas em seguida para a separação do plasma e hemácias. Em um tubo contendo tampão fosfato de lise (0,02 M, pH 7,6) foi adicionado 0,5 mL de hemácia e congelado imediatamente a - 20°C. O transporte foi realizado em caixa isotérmica com gelo para o Laboratório Central de Saúde Pública Estadual, onde foi realizada a dosagem das enzimas em duplicata, pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Ellman (1961)<sup>8</sup> e modificado por Oliveira-Silva (2000),<sup>9</sup> utilizando-se o equipamento Cary 50, marca Varian, comprimento de onda de 412 nm.

Para valor de referência foram adotados os níveis de colinesterase plasmática e eritrocitária abaixo dos valores estabelecidos como normais, tomando-se como referência o ponto de corte do primeiro quartil da curva de distribuição dos resultados dos exames da acetilcolinesterase e da butirilcolinesterase do grupo de trabalhadores.

Os dados foram tabulados no programa Excell e analisados nos programas Epi Info versão 3.5.1 e Bio Estat 5.0. Os resultados são apresentados em frequências absoluta e relativa, coeficiente de variação, mediana, quartis e intervalo interquartil. A normalidade das distribuições foi avaliada pelo teste Lilliefors, ao nível de significância de 5%, e a comparação entre as medianas pelo teste não paramétrico Mann Whitney.

Os trabalhadores assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Este estudo faz parte do projeto de pesquisa *Fator de risco para câncer: avaliação da exposição a agrotóxicos nos trabalhadores de controle*



de vetores do Estado de MS, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, parecer n.º 1.769/2010.

## RESULTADOS

O grupo de trabalhadores foi constituído de 93 indivíduos que atuam nos programas de controle de vetores, oriundos de nove municípios do Estado de Mato Grosso do Sul, sendo: 84 de Campo Grande, 2 de Inocência e 1 de Cassilândia, Aquidauana, Bonito, Dourados, Jardim, Juti e Ponta Porã.

Do total da amostra, 13 trabalhadores não tinham sido expostos aos pesticidas do grupo carbamatos e organosfosforados, por estarem em período de admissão funcional. O período sem exposição aos

inseticidas nos 80 trabalhadores restantes foi: 150 dias (71 trabalhadores), 90 dias (2 trabalhadores), 92 dias (2), 97 dias (1), 135 dias (1), 180 dias (1) e 210 dias (2). A média de ausência de exposição foi  $148,1 \pm 17,7$  dias, com mínimo de 90 dias e o máximo de 210 dias.

A amostra foi constituída de 30 agentes de saúde (32,3%) do sexo feminino, com idade de 18 a 57 anos e média etária de  $33,4 \pm 10,9$  anos, e de 63 (67,7%) agentes do sexo masculino, de 22 a 59 anos e média etária de  $34,6 \pm 9,3$  anos.

Houve predomínio da etnia branca (63,4%) e de solteiros (44,1%). Foi identificado um bom nível de escolaridade (91,4%), com 52,7% com nível médio completo, apesar de ter sido registrada ausência de escolaridade em 2,1% dos trabalhadores (tabela 1).

Tabela 1. Características da amostra de trabalhadores de controle de vetores (n = 93)

VARIÁVEIS	N	%
<b>Sexo</b>		
Masculino	63	67,7
Feminino	30	32,3
<b>Etnia</b>		
Branca	59	63,4
Negra	16	17,2
Mestiça	13	14
Sem informação	5	5,4
<b>Estado civil</b>		
Solteiro	41	44,1
Casado	38	40,9
Viúvo	1	1,1
Outro	11	11,8
Sem informação	2	2,1
<b>Escolaridade (anos)</b>		
Nenhuma	2	2,1
1 a 3	1	1,1
4 a 7	2	2,1
8 a 11	49	52,7
12 e mais	36	38,7
Sem informação	3	3,2
<b>Faixa etária (anos)</b>		
18 a 29	33	35,5
30 a 39	34	36,5
40 a 49	17	18,3
50 a 59	8	8,6
Sem informação	1	1,1

Observou-se que a maioria dos trabalhadores tinha de 1 a 4 anos de tempo de serviço (48,7%), recebeu treinamento (68,7%) e usavam equipamentos de proteção individual (91,2%) (tabela 2).

Na tabela 3, tanto para os valores da butirilcolinesterase quanto para acetilcolinesterase, observou-se grande variabilidade interindividual. O coeficiente de variação no sexo feminino para a butirilcolinesterase e acetilcolinesterase foram 29,5% e 54% respectivamente e, no masculino, 24,6% e 47,5% respectivamente.

Os valores das duas atividades não apresentaram distribuição normal (teste Lilliefors  $p < 0,05$ ) e não houve diferença significativa quanto ao sexo entre os valores medianos das duas enzimas (tabela 4).

## DISCUSSÃO

Os agentes de saúde são os indivíduos mais expostos a inseticidas durante as campanhas antivetoriais, e a exposição se dá desde o preparo da calda até sua aplicação nas áreas intra e peridomiciliares.

Tabela 2. Frequência do tempo de serviço, treinamento e uso de equipamentos de proteção individual para aplicação do inseticida dos trabalhadores de controle de vetores (n = 80)

VARIÁVEIS	N	%
<b>Tempo de serviço (anos)</b>		
Inferior a 1	11	13,7
1 a 4	39	48,8
4 a 7	12	15
10 a 20	6	7,5
Sem informação	12	15
<b>Treinamento</b>		
Sim	55	68,8
Não	2	2,5
Sem informação	23	28,7
<b>Uso de EPI</b>		
Sim	73	91,2
Não	6	7,5
Sem informação	1	1,3

EPI – equipamentos de proteção individual.

Tabela 3. Valores da média e dispersão das atividades de acetilcolinesterase e butirilcolinesterase dos trabalhadores de controle de vetores

TRABALHADORES	ACETILCOLINESTERASE		BUTIRILCOLINESTERASE	
	MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO	CV	MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO	CV
Homens	0,30 ± 0,14	47,6	8,86 ± 2,2	24,6
Mulheres	0,27 ± 0,15	54,0	7,82 ± 2,3	29,5
Grupo	0,29 ± 0,14	49,4	8,53 ± 2,3	26,6

CV – coeficiente de variação.

Tabela 4. Valores da atividade mediana e primeiro quartil de acetilcolinesterase e butirilcolinesterase no grupo de trabalhadores de controle de vetores

TRABALHADORES	N	ATIVIDADE MEDIANA			
		ACETILCOLINESTERASE	PRIMEIRO QUARTIL	BUTIRILCOLINESTERASE	PRIMEIRO QUARTIL
Homens	63	0,28	0,18	8,58	7,32
Mulheres	30	0,25	0,17	7,49	6,30
Grupo	93	0,28	0,18	8,16	6,98

$p > 0,05$  (teste Mann Whitney)



Em vários países, incluindo-se o Brasil, estudos da relação entre exposição e efeitos na saúde em trabalhadores rurais são muito investigados.<sup>11-17</sup>

O nível de escolaridade, o estado civil e o uso de equipamentos de proteção individual encontrado nos agentes de saúde difere dos trabalhadores rurais, que apresentam baixos níveis de alfabetização e falta de informação técnica. Na maioria, são casados e não usam medida de proteção, o que possibilita absorção dérmica e inalação de pesticidas.<sup>11,12,14,17,18</sup>

A variabilidade interindividual das atividades das enzimas butirilcolinesterase e acetilcolinesterase também podem ser decorrentes de vários estados patológicos, como cirrose, hepatite, câncer de fígado, enfarte do miocárdio, úlcera duodenal, infecções agudas e crônicas, anemia, gravidez e alcoolismo. Certas substâncias também podem causar diminuição na sua atividade como fluoretos, fenotiazínicos, antibióticos, atropina, codeína e barbitúricos. Ainda pode ocorrer variação com etnia, idade e sexo.<sup>19-21</sup>

Diante da impossibilidade em determinar a linha de base de cada trabalhador, o valor de referência para colinesterase plasmática e eritrocitária pode ser obtido estatisticamente de duas formas a partir do valor da atividade média da enzima em populações não expostas. Se a distribuição for não normal, subtraem-se 25% a 30% da atividade mediana, estabelecendo-se o ponto de corte. Assim, abaixo desse limite, o indivíduo é considerado excessivamente exposto. Se a distribuição é normal, efetua-se a subtração da média pelo valor do resultado da multiplicação de 1,625 pelo desvio da média.<sup>21,22</sup>

Como os valores de atividade das colinesterases dos trabalhadores de controle de vetores apresentou distribuição não normal e uma dispersão em relação à média, definiu-se como valor de referência para o grupo, o ponto de corte do primeiro quartil (25%) da atividade enzimática do grupo, sendo 0,18  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de proteína para acetilcolinesterase, e 6,98  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mL}$  de plasma para butirilcolinesterase (tabela 4).

As pesquisas nessa área têm mostrado grande variabilidade nos valores de referência para diferentes

grupos populacionais. Nesse estudo, o valor de referência para acetilcolinesterase está abaixo do encontrado por Oliveira-Silva e colaboradores,<sup>3</sup> em um grupo controle de não expostos, que foi 0,2856  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de proteína, e por Araújo e colaboradores,<sup>23</sup> em um grupo de agricultores, cujo valor foi 0,61  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mg}$  de proteína. Com relação a butirilcolinesterase, os mesmos pesquisadores encontraram valores de 2,49  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mL}$  e 2,82  $\mu\text{moles}/\text{min}/\text{mL}$  no plasma respectivamente.

Joshaghani e colaboradores<sup>24</sup> realizaram um estudo nos trabalhadores de uma indústria de pesticidas, no Iran, e encontraram valores médio da atividade inicial de  $48 \pm 11$  UI/g de hemoglobina e  $9.569 \pm 2.496$  UI/L, para acetilcolinesterase e butirilcolinesterase respectivamente. Mohebbi e colaboradores<sup>25</sup> estudaram a inibição da atividade da acetilcolinesterase em trabalhadores rurais, com o valor de referência de um grupo-controle de  $4.314 \pm 890$   $\mu\text{moles}/\text{L}/\text{min}$ .

Estudos na Índia, realizados por Chakraborty e colaboradores<sup>17</sup> e Pathak e colaboradores<sup>26</sup> com agricultores que pulverizavam os pesticidas dos grupos organofosforados e carbamatos, foi utilizado um grupo controle com valor médio para acetilcolinesterase de  $4.604 \pm 690$  UI/L e  $754 \pm 42$  UI/L respectivamente.

No Equador, Suarez-Lopez e colaboradores<sup>27</sup> estudaram os efeitos dos pesticidas anticolinesterásicos entre as crianças que vivem com os trabalhadores na plantação de flores comparando-as com grupo de não expostos, cujo valor médio da acetilcolinesterase foi 3,22 U/mL.

Os dados supracitados mostram a impossibilidade de estabelecer um valor de referência dessas enzimas que possa ser usado para qualquer tipo de população. É necessária a determinação de valores de referência para cada grupo ocupacional, diante da impossibilidade da obtenção do valor da atividade inicial antes da exposição aos inseticidas anticolinesterásicos.

Esse estudo estabeleceu o valor de referência da acetilcolinesterase e butirilcolinesterase, com base em um grupo de trabalhadores da mesma atividade ocupacional com ausência de exposição,

que permitirá avaliar a relação entre processo de trabalho e a saúde dos agentes de controle de vetores, possibilitando estabelecer ações de intervenção para impedir intoxicação crônica com manifestações neurológicas. ✦

## REFERÊNCIAS

- Peres F, Moreira JC, Dubois GS. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: Peres F, Moreira, JC (Org.) *É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003.
- Oliveira-Silva JJ, Alves SR, Meyer A, Perez F, Sarcinelli PN, Mattos RCOC *et al.* Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. *Rev Saúde Pública*. 2001;35(2):130-5.
- Taylor Palmer. Agentes anticolinesterásicos. In: Goodman & Gilman. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 10.<sup>a</sup> ed. São Paulo: Mc Graw Hill; 2003.
- Felzenszwalb I. Indicadores biológicos de exposição e de efeito. In: *Seminário Nacional de Vigilância do Câncer Ocupacional e Ambiental*. Rio de Janeiro: INCA; 2005.
- Georgino HO, Gomes MM, Drumond TL. Importância da linha de base pré-exposição das colinesterases (ChEs) no controle ocupacional a praguicidas organofosforados e carbamatos. *Rev Bras Toxicol*. 2005;18(1):43-8.
- Domingues MR, Bernardi MR, Ono EYS, Ono MA. Agrotóxicos: riscos à saúde do trabalhador rural. *Cienc Biol Saúde*. 2004;25(1):45-54.
- Teixeira CF, Augusto LGS, Morata TC. Saúde auditiva de trabalhadores expostos a ruído e inseticidas. *Rev Saúde Pública*. 2003;37(4):417-23.
- Ellman GL, Courtney K, Andres V Jr, Feather-Stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 1961;7:88-95.
- Oliveira-Silva JJ, Alves SR, Inacio AF, Meyer A, Sarcinelli PN, Mattos RC *et al.* Cholinesterase activities determination in frozen blood samples: an improvement to the occupational monitoring in developing countries. *Hum Exp Toxicol*. 2000;19(3):173-7.
- Peres F, Rozemberg B, Lucca SR. Percepção de riscos no trabalho rural em uma região agrícola do estado do Rio de Janeiro, Brasil: agrotóxicos, saúde e ambiente. *Cad Saúde Pública*. 2005;21(6):1836-44.
- Schmidt MLG, Godinho PH. Um breve estudo acerca do cotidiano do trabalho de produtores rurais: intoxicações por agrotóxicos e subnotificações. *Rev Bras Saúde Ocup*. 2006;31(113):27-40.
- Del Prado-Lu JL. Pesticide exposure, risk factors and health problems among cutflower farmers: a cross sectional study. *J Occup Med Toxicol*. 2007;2:9.
- Quandt SA, Chen H, Grzywacz JG, Vallejos QM, Galvan L, Arcury AT. Cholinesterase depression and its association with pesticide exposure across the agricultural season among Latino farmworkers in North Carolina. *Environ Health Perspect*. 2010;118(5):635-9.
- Almussa A, Schimidt MLG. O contato com agrotóxicos e os possíveis agravos à saúde de trabalhadores rurais. *Rev Psicol Unesp*. 2009;8(2):184-8.
- Castro MGGM, Ferreira AP, Mattos IE. Uso de agrotóxicos em assentamentos de reforma agrária no município de Russas (Ceará, Brasil): um estudo de caso. *Epidemiol Serv Saúde*. 2011;20(2):245-54.
- Faria NMX, Rosa JAR, Facchini LA. Intoxicações por agrotóxicos entre trabalhadores rurais de fruticultura, Bento Gonçalves, RS. *Rev Saúde Pública*. 2009;43(2):335-44.
- Chakraborty S, Mukherjee S, Roychoudhury S, Siddique S, Lahiri T, Ray MR. Chronic exposures to cholinesterase-inhibiting pesticides adversely affect respiratory health of agricultural workers in India. *J Occup Health*. 2009;51(6):488-97.
- Ribeiro ACC, Mella EAC. Intoxicação ocupacional por organofosforado – a importância da dosagem da colinesterase. *Inic Cient Cesumar*. 2007;9(2):125-34.
- Guidelines for physicians. Who supervise workers exposed to cholinesterase inhibiting pesticides. 4<sup>th</sup> ed. California: Office of Environmental Health Hazard Assessment; 2002.
- Pereira MIR, Rodrigues YRW, Sant'Ana G. Risco ocupacional para trabalhadores expostos ao temefós no programa de controle do vetor da dengue no Distrito Federal. *Brasília Med*. 2009;46(4):332-8.
- Oliveira-Silva JJ, Alves SR, Rosa HVD. Avaliação da exposição humana a agrotóxicos. In: Peres F, Moreira JC (Org.) *É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 121-36.
- Cocker J, Mason HJ, Garfitt SJ, Jones K. Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides. *Toxicol Lett*. 2002;134(1-3):97-103.
- Araújo AJ, Lima JS, Moreira JC, Jacob SC, Soares MO, Monteiro MCM *et al.* Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2007;12(1):115-30.
- Joshaghani HR, Ahmadi AR, Mansourian AR. Effects of occupational exposure in pesticide plant on worker's serum and erythrocyte cholinesterase activity. *Int J Occup Environ Health*. 2007;20(4):381-5.
- Mohebbi GH, Jahangiri A, Hajeb P. Inhibition of acetylcholinesterase activity farmers exposed to organophosphate pesticides in Bushehr, Iran. *Am-Euras J Toxicol Sci*. 2011;3(3):127-9.
- Pathak MK, Fareed M, Bihari V, Mathur N, Srivastava AK, Kuddus M *et al.* Cholinesterase levels and morbidity in pesticide sprayers in North India. *Occup Med*. 2011;61(1):512-4.
- Suarez-Lopez JR, Jacobs DR Jr, Himes JH, Alexander BH, Lazovich DA, Gunnar M. Lower acetylcholinesterase activity among children living with flower plantation workers. *Environ Res*. 2012;114:53-9.

**ANEXO F- CARTA DE SUBMISSÃO À REVISTA CIÊNCIA E SAÚDE COLETIVA.**



## Revista Ciência e Saúde Coletiva

Rio de Janeiro, 23 de setembro de 2013.

Informamos que o artigo: **“0210/2013 - INTOXICAÇÃO POR CARBAMATOS: NÍVEIS DE COLINESTERASE NOS AGENTES DE SAÚDE DO PROGRAMA DA LEISHMANIOSE”**, de autoria de Sonia Aparecida Viana Câmara, Antonio Marcos Jacques Barbosa, Elenir Rose Jardim Cury Pontes e Iandara Schettert Silva, foi submetido à Revista Ciência e Saúde Coletiva através do site [www.cienciaesaudecoletiva.com.br](http://www.cienciaesaudecoletiva.com.br) em 25/03/2013 às 15:51:45 horas e aguarda avaliação.

Qualquer informação sobre o mesmo deverá ser solicitada pelo e-mail [cienciaesaudecoletiva@fiocruz.br](mailto:cienciaesaudecoletiva@fiocruz.br).

Atenciosamente.

---

Maria Cecília de Souza Minayo  
(EDITORA CIENTÍFICA)

**INTOXICAÇÃO POR CARBAMATOS: NÍVEIS DE COLINESTERASE NOS AGENTES DE CONTROLE DE ENDEMIAS DO PROGRAMA DA LEISHMANIOSE**

**CARBAMATES POISONING: CHOLINESTERASE LEVELS IN THE ENDEMIC CONTROL AGENTS OF LEISHMANIASIS PROGRAM**

Sonia Aparecida Viana Câmara<sup>1</sup>

Iandara Schettert Silva<sup>2</sup>

Elenir Rose Jardim Cury Pontes<sup>3</sup>

Antonio Marcos Jacques Barbosa<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda do Programa Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS. Correspondência. Rua das Garças, 967, Apto. 102, Centro, Campo Grande, MS, CEP 79020180. Fone: (67) 33451319 e (67) 9902 5037. E-mail: sonia.viana@uol.com.br

<sup>2</sup> Professora Adjunta da Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS. E-mail: ian.da.ra@hotmail.com

<sup>3</sup> Professora Adjunta do Programa Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS. E-mail:elenirpontes@uol.br

<sup>4</sup> Laboratório Central de Saúde Pública Estadual – Setor de Toxicologia – ambarbosa6@hotmail.com

**Título resumido:**

**INTOXICAÇÃO POR CARBAMATOS: NÍVEIS DE COLINESTERASE**

**CARBAMATES POISONING: CHOLINESTERASE LEVELS**

## RESUMO

**OBJETIVO:** Avaliar a exposição ocupacional dos agentes de controle de endemias (ACE), do programa da leishmaniose, do Centro de Controle de Zoonoses do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, em 2011. **MÉTODOS:** A equipe era constituída por 71 ACE que usavam o inseticida bendiocarbe. Foi aplicado um questionário, e realizada a dosagem da BChE e AChE durante a exposição, e para obtenção da atividade inicial. A metodologia utilizada foi de Ellman (1961) modificada por Oliveira-Silva (2000). A prevalência de intoxicação aguda foi estabelecida de acordo com a matriz padronizada pela OMS, e, o índice de inibição conforme classificação do Ministério da Saúde. **RESULTADOS:** A idade média foi de  $34,2 \pm 9,1$  anos, com 64,80% do sexo masculino, escolaridade (54,93%) foi de 8 a 11 anos de estudos, 45,10% eram casados, 63,4% da raça branca. O tempo médio de exposição foi de  $32,4 \pm 38,6$  meses, 66,2% receberam treinamento, 95,77% usam EPIs. Os sintomas mais frequentes foram: cefaléia (53,52%), cansaço nas pernas (52,11%), irritação da pele (50,70%), irritação nasal (45,10%), fraqueza muscular (43,70%) e ansiedade (43,70%). Não houve associação significativa entre o sexo e os efeitos de exposição para AChE reduzida ( $p=0,936$ , RP (IC95%) 1,10 (0,45 – 2,68)); para BChE reduzida ( $p=0,106$ , RP (IC95%) 1,62 (0,99 – 2,66) e com presença de sintomas de intoxicação ( $p=1,000$ , (IC95%) 1,03 (0,89 – 1,20). **CONCLUSÃO:** A prevalência de intoxicação aguda de 19,72% sugere treinamento sobre aplicação segura e uso adequado de EPI.

**Palavras-chave:** exposição ocupacional, acetilcolinesterase, butirilcolinesterase, controle de vetores, inseticidas.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** Assess the occupational exposure of endemic disease control agents (ACE) of leishmaniasis program , the Control Center for Zoonosis, Campo Grande city , Mato Grosso do Sul state, in 2011 . **METHODS:** The group consisted of 71 ACE who used bendiocarb pesticide. A questionnaire was applied, and made the determination of AChE and BChE during the exposure, and to obtain the initial activity. The methodology used was Ellman (1961) modified by Oliveira-Silva (2000). The acute poisoning prevalence was established according to the WHO standard case definition, and the inhibition index as classified by the Health Ministry. **RESULTS:** The average age was  $34.2 \pm 9.1$  years, 64.80 % were male, the schooling (54.93 %) were 8-11 years of study, 45.10 % were married, 63.4 % were caucasian. The average exposure time was  $32.4 \pm 38.6$  months, 66.2 % received training, and 95.77 % used PPE. The most frequent symptoms were: headache (53.52 %), fatigue in the legs (52.11 %), skin irritation (50.70%), nasal irritation (45.10%), muscle weakness (43.70 %) and anxiety (43.70 %). There was no significant association between gender and the exposure effects to AChE reduced ( $p = 0.936$ , RP (95% CI) 1.10 (0.45 to 2.68), for BChE reduced ( $p = 0.106$ , RP (95% CI) 1,62 (0.99 to 2.66 ) and presence of poisoning symptoms ( $p = 1.000$ , ( 95% CI ) 1.03 ( 0.89 to 1.20). **CONCLUSION:** The acute poisoning prevalence of 19.72 % suggests training on pesticide safe application and PPE appropriate use.

**Keywords:** occupational exposure, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, vector control, pesticide.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, o controle de vetores pelos órgãos públicos, para evitar a propagação de epidemias, como: dengue, doença de Chagas, leishmaniose, e malária, é realizado através da aplicação de inseticidas pertencentes aos grupos químicos: organofosforados, piretróides, e carbamatos.<sup>1</sup>

No grupo organofosforado, os inseticidas usados são: temefós, malathion e fenitrothion, que apresentam classificação toxicológica classe III e II, respectivamente; no grupo carbamato são: bendiocarb, carbaril e propoxur, com classificação toxicológica II.<sup>2,3,4</sup>

A exposição ocupacional pode acontecer através das seguintes vias: dérmica, respiratória e oral.<sup>3,5,6</sup> A pele é o órgão mais exposto durante as pulverizações, e, o contato também pode ocorrer durante o transporte, armazenamento, preparo das caldas, manuseio e limpeza do equipamento de pulverização.<sup>7</sup>

Os efeitos da exposição a inseticidas sobre a saúde humana podem ser de dois tipos: agudos e crônicos. Intoxicação aguda por pesticidas resulta da exposição recente a concentrações de um ou mais agentes tóxicos capazes de causarem danos efetivos à saúde em um período de até 48 horas. Os efeitos adversos na saúde podem ser: local (dérmico e ocular) e, ou sistêmico. Os sistemas que podem ser envolvidos são: respiratório, neurotóxico, cardiovascular, endócrino, gastrointestinal, nefrotóxico e reações alérgicas.<sup>6,7,8</sup>

Entretanto, os efeitos de uma exposição crônica são caracterizados pela exposição à baixa concentração de um contaminante químico durante longos períodos e levar efeitos tardios sobre a saúde humana, que podem aparecer após meses, anos ou até mesmo gerações depois do período de uso ou contato com os inseticidas, dificultando onexo-causal.<sup>5,9</sup>

Os inseticidas do grupo carbamatos e organofosforados são inibidores da colinesterase, cuja ausência provoca acúmulo de acetilcolina, e o organismo passa a apresentar uma série de manifestações: efeitos muscarínicos, nicotínicos e centrais. A atividade da colinesterase é derivada da ação de duas enzimas, uma produzida na membrana dos eritrócitos (colinesterase eritrocitária ou acetilcolinesterase – AChE), e, outra sérica (colinesterase plasmática ou butirilcolinesterase - BChE); sendo consideradas biomarcadores de toxicidade e de exposição, respectivamente.<sup>5,10</sup>

Porém, a fisiopatologia da intoxicação por carbamatos difere dos organofosforados em importante aspecto: os carbamatos inativam as colinesterase temporariamente, a enzima

carbamilada é instável e a regeneração é relativamente rápida quando comparada com a enzima fosforilada pelos organofosforados, portanto, causa uma inibição reversível.<sup>11</sup>

Estes dois sistemas enzimáticos apresentam meias-vidas diferentes, ou seja, três meses para a AChE e cerca de uma semana para a BChE. Baseada nesta diferença é possível identificar temporalmente as intoxicações agudas em exposição recente e crônica.<sup>12,13,14</sup>

A AChE é produzida nas hemácias, no tecido nervoso e nos músculos estriados, e, tem maior importância na destruição da acetilcolina nas sinapses, e a BChE está presente em quase todos os tecidos, principalmente no fígado, no plasma, pâncreas e no intestino delgado e em menor concentração no sistema nervoso central e periférico.<sup>5,15,16</sup>

A medição da atividade destas enzimas tem sido recomendada para realizar avaliação de exposição ocupacional aos pesticidas do grupo organofosforados e carbamatos, pois, sua variação é proporcional à intensidade e duração da exposição aos agentes anticolinesterásicos.<sup>17,18,19</sup>

Os agentes de controle de endemias (ACE) são os indivíduos mais expostos a inseticidas, durante as campanhas antivetoriais, pois, a exposição se dá desde o preparo da calda até aplicação nas áreas intra e peridomiciliares, porém, no Brasil e em vários países, os estudos da relação entre exposição e efeitos na saúde são bastante investigados entre os trabalhadores rurais.<sup>18,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33</sup>

Campo Grande é um município endêmico para Leishmaniose, no programa de combate ao vetor é utilizado um inseticida do grupo carbamato, o bendiocarbe, na forma de pó molhável, com classificação de risco II (altamente tóxico), com uma Dose Letal 50 (DL) de 5-50 mg/Kg de peso corporal.<sup>34</sup>

Bendiocard tem uma Ingestão Diária Aceitável de 0,004 mg/Kg de peso corporal foi classificado como tóxico, por inalação, ingestão e por contato para o ser humano, e muito tóxico para organismos aquáticos, podendo causar efeitos adversos no ambiente aquático.<sup>35</sup>

Considerando que os ACE aplicam inseticidas para cuidar da saúde da população, expondo a própria saúde em risco, este estudo tem o objetivo de avaliar a exposição através dos biomarcadores AChE e BChE, dos trabalhadores que atuam no programa de combate ao vetor da leishmaniose no município de Campo Grande, MS.

## MÉTODO

Trata-se de um estudo epidemiológico transversal no qual foi avaliada a exposição ocupacional dos ACE que atuam no programa de combate à Leishmaniose, do Centro de Controle de Zoonoses no município de Campo Grande, MS, no ano de 2011, frente ao uso do inseticida Bendiocarb.

No Centro de Controle de Zoonoses, do município de Campo Grande, MS, o controle de vetores é realizado através de equipes por programas. A equipe do programa de combate à leishmaniose era composta por 71 ACE, sendo, 46 (64,79%) do sexo masculino e 25 (35,21%) feminino, que utilizavam nas pulverizações, através de bomba de pressão sustentada no ombro, o inseticida do grupo carbamatos, o bendiocarbe a 80%, em solução aquosa a 0,64%, com nome comercial: FICAM VC, marca Bayer. Não participaram do estudo os ACE do programa de combate ao vetor da dengue que manipulam os inseticidas do grupo organofosforados.

A avaliação da exposição dos ACE foi realizada através da aplicação de dois instrumentos: Avaliação epidemiológica-ocupacional através da aplicação de questionário, e Dosagem de indicadores biológicos de exposição e toxicidade, através da análise de colinesterase plasmática e eritrocitária,

O questionário aplicado avaliou as seguintes variáveis:

- Sóciodemográficas: idade, sexo, escolaridade, estado civil, raça.
- De exposição: formas de contato com agrotóxicos de acordo com a função, tempo de exposição, número de aplicações por mês, uso de equipamentos de proteção individual,
- Relacionadas ao agrotóxico: treinamento, nome do produto, princípio ativo, concentração do produto aplicado.
- Relacionadas com as manifestações clínicas: tipo de manifestações clínicas e percepção da relação entre os sintomas e aplicação do inseticida.

Os sintomas apresentados pelos trabalhadores de controle de vetores foram classificados em: muscarínicos, nicotínicos e do Sistema nervoso central, de acordo com efeitos provocados pelo acúmulo de acetilcolina, decorrente da inibição da colinesterase pelo inseticida do grupo carbamatos.

Os ACE do programa de combate o vetor da leishmaniose têm suas atividades divididas em duas fases, com duração de seis meses cada: exposição caracterizada pela

pulverização do inseticida, que acontece de janeiro a junho, e, ausência de exposição quando atuam na vacinação coleta de sangue de cães, no período de julho a dezembro. A dosagem da acetilcolinesterase eritrocitária e butirilcolinesterase plasmática foram feitas em dois momentos: durante a exposição e com 150 dias de ausência de exposição para obtenção do valor da atividade inicial de cada trabalhador. Os valores da linha de base das enzimas (AChE e BChE) foram obtidos obedecendo os critérios do manual da Agência de Proteção Ambiental da Califórnia.<sup>12</sup>

Para determinação das colinesterases foi utilizada a metodologia desenvolvida por Ellman (1961)<sup>36</sup> modificada por Oliveira–Silva (2000),<sup>37</sup> no Laboratório Central de Saúde Pública Estadual de Campo Grande, MS. Para classificação do índice de inibição das colinesterases foi utilizada a classificação estabelecida pela Nota Técnica n.º. 165/2008, da Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde,<sup>1</sup> na qual a inibição de até 25% é aceitável. E, para a determinação da prevalência de intoxicação aguda foram usados os critérios definidos pela matriz padronizada pela Organização Mundial da Saúde.<sup>6</sup>

Os dados foram apresentados descritivamente através das seguintes medidas: média, desvio padrão (DP), valores máximo e mínimo, coeficiente de variação (CV), frequência absoluta e relativa. Para verificar possíveis associações entre as variáveis de estudo foram realizados os testes qui-quadrado corrigido por Yates ou de Fisher, e calculadas as razões de prevalência (RP) com os respectivos intervalos de confiança (IC), ao nível de significância de 5%. Os programas utilizados foram EPI INFO versão 7 (Centers for Diseases Control and Prevention, Atlanta/Geórgia/Estados Unidos), e BioEstat 5.3.<sup>38</sup>

Os ACE assinaram Termo de consentimento livre e esclarecido, este estudo faz parte de um projeto de pesquisa que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, através da Carta de Aprovação n.º. 1769/2010.

## RESULTADOS

A prevalência de intoxicação nos ACE foi de 36,62% e 19,72%, para BChE e AChE, respectivamente, caracterizando uma intoxicação aguda de exposição recente e crônica, respectivamente (TABELA 1).

A Tabela 2 mostra os principais dados demográficos dos ACE. A idade média foi de  $34,2 \pm 9,1$  anos com extremos de 22 e 59 anos, sendo a maioria do sexo masculino (64,80%), com a faixa etária de 20 a 30 anos (45,10%). A escolaridade da maior parte dos ACE foi de 8 a 11 anos de estudos (54,93%), apresentaram estado civil casados com 45,10%, e raça branca (63,38%).

Os ACE tiveram como tempo médio de  $32,40 \pm 38,60$  meses de exposição ao inseticida, com o mínimo de 30 dias e o máximo de 240 meses ( $\pm 11$  anos). Apenas 66,20% declararam que receberam treinamento para aplicação de inseticida e 95,77% que usavam EPIs (TABELA 3).

Observou-se que a maioria teve o tempo de exposição de 13 a 24 meses (31,00%), e número de aplicações mensais acima de 100 vezes (33,80%). Em relação a AChE, 9,90% dos ACE apresentaram inibição entre 25 a 50%, e, 12,70%, inibição de 51 a 75%, e, para o BChE 43,70%, e, 1,41%, respectivamente.

Os valores médios de exposição foram  $6,67 \pm 1,74$   $\mu$  moles/min/mL de plasma. e,  $0,24 \pm 0,12$   $\mu$  moles/min/mg de proteína, para BChE e AChE, respectivamente, com maior variabilidade da AChE (CV=50,25%).

Os sintomas apresentados pelos ACE estão apresentados na tabela 4, e, foram sistematizados de acordo com efeitos muscarínicos, nicotínicos e no Sistema nervoso central.

Os efeitos muscarínicos foram apresentados por 55 (77,50%) ACE, assim distribuídos: irritação da pele (50,70%), irritação nasal (45,10%), irritação ocular (39,44%), salivação (32,40%), náuseas (32,40%), sudorese (31,00%), câimbras (22,53%), vômitos (15,50%), incontinência urinária (8,50%), e, diarreia (4,22%).

Os efeitos nicotínicos: 44 (62,00%) ACE queixaram-se dos seguintes sintomas: cansaço nas pernas (52,11%), formigamento (28,20%), palpitação (26,80%), tremores involuntários (23,94%), taquicardia (9,90%) e contração muscular (2,80%).

Os efeitos no Sistema Nervoso Central foram relatados por 54 (76,10%) ACE, assim relacionados: cefaléia (53,52%), fraqueza muscular (43,70%), ansiedade/irritabilidade

(43,70%), vertigem/tontura (38,03%), insônia (29,60%), visão turva (25,40%) e confusão mental (14,10%).

Na tabela 5, a colinesterase eritrocitária (AChE) encontrou-se reduzida em 25,0% dos ACE com sinais sugestivos de intoxicação, e, em nenhum com ausência de sinais de intoxicação. Enquanto que a colinesterase plasmática (BChE) ficou reduzida em 45,3% dos ACE com sinais de intoxicação, porém, 54,7% com índice de inibição normal, também apresentou sinais de intoxicação. Não houve associação estatisticamente significativa entre o índice de inibição da AChE e BChE e os sintomas relatados.

Não houve associação estatisticamente significativa entre o sexo e os efeitos de exposição: a) AChE reduzida (inibição enzimática >25%) em 24,0% dos ACE do sexo feminino e 21,7% do sexo masculino ( $p=0,936$  Qui-quadrado corrigido por Yates, RP (IC95%) 1,10 (0,45 – 2,68); b) BChE reduzida (inibição enzimática >25%) em 60,0% do sexo feminino e 37,0% do sexo masculino ( $p=0,106$  Qui-quadrado corrigido por Yates, RP (IC95%) 1,62 (0,99 – 2,66) e c) presença de sintomas de intoxicação em 92,0% do sexo feminino e 89,1% do sexo masculino ( $p=1,000$  Teste de Fisher, RP (IC95%) 1,03 (0,89 – 1,20).

## DISCUSSÃO

A prevalência de intoxicação encontrada foi estabelecida de acordo com a matriz padronizada pela OMS, para definição de intoxicação aguda, considerando a inibição das enzimas acima de 25%, combinada com três (3) ou mais sintomas auto-relatados pelos ACE.<sup>6</sup>

A redução das enzimas foi avaliada de acordo com a Nota Técnica n.º. 165/2008/SVS/MS,<sup>1</sup> a qual define que valores acima de 25% devem ser avaliados para determinação das causas, e, os ACE deverão ser afastados por um período de 15 dias, e, novamente dosar a colinesterase.

Em Washington e Califórnia, para avaliação de exposição ocupacional a pesticidas, estabelecem que uma depressão de 20% das colinesterases ou maior, comparada à linha de base deve-se investigar o local de trabalho; 30% ou maior depressão da AChE, e 40% de BChE plasmática, os trabalhadores devem ser removidos da atividade de aplicação de inseticidas, e, eles somente podem retornar quando seus níveis no sangue chegar a 80% da linha de base.<sup>39,40,41</sup>

No Brasil, o Ministério do Trabalho, através da Norma Regulamentadora – NR 7,<sup>42</sup> e NR 31,<sup>43</sup> estabelece um índice biológico máximo permitido de 30% para a AChE e 50% para BChE, logo, o Ministério da Saúde adota um critério mais conservador, permitindo intervenção com ações de prevenção precocemente.

Para avaliação da inibição da enzima BChE, além da exposição aos inseticidas dos grupos: organofosforados e carbamatos, deve-se considerar também outros fatores que podem contribuir para sua redução, tais como: patologias do fígado (hepatites, cirrose, metástases), desnutrição, stress e inflamações agudas e crônicas,<sup>16,44,45</sup> a gravidez e algumas drogas: atropina, cafeína, codeína, estrogênios, sulfato de morfina, neostigmina, anticoncepcionais orais, fenotiazinas, teofilina, quinidina, esteróides e vitamina K.<sup>14</sup>

Mutação genética da BChE, também contribui para sua redução. Estudos relatam que existem em torno de setenta diferentes mutações do gene da BChE, que causam sua diminuição. Mikami et al. (2008),<sup>46</sup> identificaram 35 alelos mutantes em 34 doadores de sangue, do centro de Hemoterapia de Curitiba, PR, e 79% (27) destes indivíduos apresentaram baixa atividade da BChE, sugerindo que esta redução da atividade foi devida a

mutação do gene da BChE. Pessoas portadoras dos genes mutantes da butirilcolinesterase podem ser mais sensíveis aos efeitos tóxicos dos organofosforados e carbamatos.<sup>15</sup>

Considerando que a BChE é um indicador de exposição, outro fator limitante para avaliar sua redução, é o tempo entre a exposição ao inseticida anticolinesterásico e a coleta da amostra de sangue. Neste estudo 83,10% dos ACE tiveram contato com o inseticida no dia anterior a coleta, justificando a redução acentuada da BChE (45,30%) com presença de sintomas..

Segundo o Guidelines for Physicians,<sup>12</sup> a recuperação dos níveis normais da BChE em relação a linha de base pré-exposição para carbamatos ocorre em questão de horas, pois, ela é produzida no fígado, e também após exposição leve pode ocorrer o fenômeno de rebote resultando elevados níveis com presença (54,70%) de sinais de intoxicação. Já a recuperação da acetilcolinesterase é lenta, e, ocorre somente quando as células vermelhas do sangue são regeneradas, com uma taxa de aproximadamente 1% ao dia.

Os efeitos de inibidores colinérgicos podem ser diferentes, entre diferentes organismos, e, também em diferentes regiões do cérebro. Alvos secundários não colinérgicos leva a diminuição da BChE e dos receptores da acetilcolina muscarínicos, caracterizando efeitos contraditórios: inibição da atividade da BChE com ausência de sintomas muscarínicos, justificando os resultados encontrados (42,90%) na Tabela 5.<sup>47</sup> Logo, a prevalência de intoxicação deve ser considerada a inibição da enzima AChE (19,72%), pois, a mesma tem a vida média de 90 dias

A prevalência de intoxicação aguda por exposição crônica (19,72%), deste estudo (TABELA 1) está acima da encontrada por Zhang et al. (2011),<sup>31</sup> nos trabalhadores rurais do sul da China (8,8%), com uso dos mesmos critérios padronizados pela OMS .

A colinesterase eritrocitária (AChE) encontrou-se reduzida em 25,0% dos trabalhadores com sinais sugestivos de intoxicação, e, em nenhum com ausência de sinais de intoxicação, sugerindo uma exposição crônica, e, utilização inadequada de EPIs (TABELA 5). Estes resultados estão acima dos encontrados em trabalhadores rurais de Nova Friburgo, RJ, com 12,8% de AChE reduzida com sintomas e 3,7% sem sintomas, e a BChE com 17,0% reduzida com sintomas e 25% sem sintomas.<sup>23</sup>

Os ACE do programa de combate ao vetor da leishmaniose são jovens, com 77,50% na faixa de 20 a 40 anos (TABELA 2), divergente do estudo de Pereira et al. (2005),<sup>48</sup> que encontrou a faixa de 40 a 49 anos nos ACE do programa de combate ao vetor da dengue, no Distrito Federal; e de Araújo et al.(2007), 30 a 39 anos, nos trabalhadores rurais de Nova

Friburgo, RJ. A média de idade foi de 34,2±9,1 anos, está acima dos trabalhadores de indústria de pesticida no Iran (32 ±8anos),<sup>24</sup> e, abaixo de trabalhadores rurais do Brasil<sup>22,23,30</sup>, da Índia<sup>19</sup>, e, da Carolina do Norte.<sup>26</sup>

Os ACE apresentaram alta escolaridade, 97,1% com 8 a 12 anos ou mais de estudo, em relação aos trabalhadores rurais,<sup>22,23,30</sup>, porém, menor tempo de exposição.

A meta para pulverização preconizada é de 100 casas por mês, com borrifação na parede interna e teto das residências. A região do município para realizar o combate ao vetor da leishmaniose é definida por critérios epidemiológicos, de acordo com o número de casos humanos nos últimos três anos. A média de aplicações por mês foi de 99±30 casas, com o mínimo de 20 e máximo de 120 residências; sendo que 27,00% dos ACE cumpriram a meta, 34,00% superaram a meta com 120 aplicações, e, 27,00% não responderam (TABELA 3).

Quanto à segurança no trabalho, 95,77% declarou que usam Equipamento de Proteção Individual, índice acima da média de acordo com o Ministério da Saúde (2008).<sup>1</sup> E 66,20% receberam treinamento para aplicação de inseticidas. Porém, 77,50% relacionaram as manifestações sintomáticas com a atividade laboral (TABELA 3). Este dado indica que os ACE que declararam que usam EPI não estão se protegendo adequadamente, sugerindo: não uso, uso inadequado, ou falta de EPI, caracterizando necessidade de orientação sobre os riscos inerentes à atividade laboral, pois, vários estudos têm demonstrado que a utilização de EPI previne a inibição das colinesterases e o risco de sintomas de intoxicação nos trabalhadores expostos a pesticidas organofosforados e carbamatos.<sup>40,48,49</sup>

Entre os fatores que contribui para não utilização dos EPIs, é a dificuldade de adequação dos mesmos às características antropométricas e ambientais de cada localidade e, a percepção de risco. A impermeabilidade dos EPIs aos inseticidas traz um desconforto térmico podendo ocasionar hipertermia ao trabalhador.<sup>50</sup>

Este nível de proteção não foi observado nas atividades de: manipulação, mistura, e, pulverização de inseticidas pelos trabalhadores rurais, conforme verificado no norte da Índia,<sup>51</sup> e, também nos ACE com exposição ocupacional nos programas de saúde, em Delhi, na Índia.<sup>52</sup>

É possível que o baixo nível de conscientização, problemas operacionais, e, ou presença de outros agravos, tais como: hepatite, problemas renais, cardíacos, diabetes, deficiência congênita de colinesterase e alcoolismo, possam ser fatores determinantes para estes resultados. Outra limitação do estudo foi a falta de estudos com este grupo de trabalhadores.

## CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que os ACE do programa de controle do vetor da leishmaniose apresentaram prevalência de intoxicação aguda com exposição crônica de 19,72%, considerando a inibição da AChE acima de 25% combinada com 3 ou mais sintomas.

O nível de intoxicação encontrado direciona para uma avaliação médica dos trabalhadores, com afastamento temporário da aplicação de inseticida, e, retorno somente quando os níveis das colinesterases retomarem o valor da atividade inicial.

Relacionando o índice de proteção (95,77%), a prevalência de intoxicação encontrada, e a sintomatologia relatada, observou-se a necessidade de capacitar os profissionais de saúde que coordenam este serviço para avaliar adequadamente os resultados laboratoriais, e, conseqüentemente gerenciar os riscos inerentes à atividade; e, disponibilizar informações aos ACEs sobre potenciais riscos na utilização de carbamatos, para alterar a percepção de risco do indivíduo, para que o mesmo tome decisões de prevenção de forma mais eficiente, tais como utilização adequada dos equipamentos de proteção individual.

Para prevenir e diagnosticar precocemente episódios de intoxicações recomenda-se realizar o monitoramento ocupacional com exames laboratoriais dos níveis de colinesterase, na periodicidade de sessenta dias, de acordo com as orientações da Nota Técnica nº 165/2008, do Ministério da Saúde, para o uso de inseticidas do grupo carbamato.

## REFERENCIAS

1. Ministério da Saude. Secretaria De Vigilância em Saúde. Diretoria de Gestão. Nota Técnica N. 165/2008. Estabelece parâmetros para monitoramento da colinesterase nos agentes de saúde que utilizam inseticidas organofosforados e carbamatos nas atividades de controle de vetores.
2. Anvisa. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias de agrotóxicos. Monografias autorizadas. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 10 jun 2012.
3. OPAS – Organização Pan-americana. Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Brasília: OPAS/OMS. 1997
4. World Health Organization. WHO specifications and evaluations for public health pesticides: Bendiocarb. Geneva, 2008 [acesso em 17 jun 2013]. Disponível em: [www.who.int/whopes/quality/Bendiocarb\\_eval\\_WHO\\_jan\\_2009.pdf](http://www.who.int/whopes/quality/Bendiocarb_eval_WHO_jan_2009.pdf).
5. Peres F, Moreira JC, Dubois SGS. Agrotóxicos, Saúde e Ambiente: uma introdução ao tema. In: Peres F, Moreira JC. (Org.) É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2003.
6. Thundiyil JG, Stober J, Besbelli N, Pronczuk J. Acute pesticide poisoning: a proposed classification tool. Bull World Health Organ. 2008; 86(3): 205-9.
7. Reeves M, Schafer KS. Greater risks, fewer rights: US farmworkers and pesticides. Int J Occup Environ Health. 2003; 9:30-39.
8. Kamel F, Engel LS, Glader BC, Hoppin JA, Alavanja MCR, Sandler DP. Neurologic symptoms in licensed pesticide applicators in the Agricultural Health Study. Human Exper Toxicol. 2007; 26: 243-250.

9. Baldi I, Gruber A, Rondeau V, Lebailly P, Brochard P, Fabrigoule C. Neurobehavioral effects of long-term exposure to pesticides: results from the 4-year follow-up of the PHYTONER Study. *Occup Environ Med.* 2011; 68:108-115.
10. Oliveira GH, Gomes MM, Drumond TL, 2005. Importância da linha de base pré-exposição das colinesterases no controle ocupacional a praguicidas organofosforados e carbamatos. *Rev Brasil. de Toxicol* 2005; 18 (1): 43-48.
11. Black RM, Read RW. Biological markers of exposure to organophosphorus nerve agents. *Arch Toxicol.* 2013; 87: 421-437.
12. EPA- Environmental Protection Agency. Guideline for Physicians. Who supervise workers exposed to cholinesterase inhibiting pesticides. 4ed. Cal/EPA, Berkeley, USA. 2002.
13. Taylor P. Agentes anticolinesterásicos. In: Gogman & Gilman. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica.* 10.ed. mc Graw Hill, São Paulo. 2003
14. Ribeiro ACC, Mella EAC. Intoxicação ocupacional por organofosforado – A importância da dosagem da colinesterase. *Inic Cient Cesumar.* 2007; 9: 125-34.
15. Dimov D, Kanev K, Dimova I. Correlation between butyrylcholinesterase variants and sensitivity to soman toxicity. *Acta Bioch Polon.* 2012; 59(2): 313-316.
16. Santarpia L, Grandone H, Contaldo F, Pasanisi F. Butyrylcholinesterase as a prognostic marker: a review of the literature. *J Cach Sar Mus.* 2013; 4: 31-39.
17. Felzenszwalb I. Indicadores biológicos de exposição e de efeito. In: *Seminário Nacional de Vigilância do Câncer Ocupacional e Ambiental.* Rio de Janeiro: INCA, 2005.
18. Araoud M, Neffeti F, Douri W, Najjar MF, Kenani A. Paraoxonase 1 correlates with butyrylcholinesterase and Gamma glutamyl transferase in workers chronically exposed to pesticides. *J Occup Health.* 2010; 52: 383-388.
19. Dhararjayan V, Ravichadran B, Rajrchan HR. Assessment of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in blood plasma of agriculture workers. *J Occup Environ Med.* 2012; 16(3): 127-130.

20. Oliveira-Silva JJ, Alves SR, Meyer A, Perez F, Sarcinelli PN, Matos RCO. Influence of social-economic factors on the pesticide poisoning, Brasil. *Rev. Saúde Pública* 2001; 35 (2): 130-135.
21. Delgado IF, Paumgartten FJR. Intoxicações e uso de pesticidas por agricultores do município de Paty do Alferes, RJ, Brasil. *Cad. Saúde Pública* 2004, 20 (1): 180-186.
22. Faria NMX, Facchini LA, Fassa AG, Tomasi E. Pesticides and respiratory symptoms among farmers. *Rev. Saúde Pública* 2005; 39 ( 6): 973-81.
23. Araujo AJ, Lima JS, Moreira JC, Jacob SC, Soares MO, Monteiro MCM, et al. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. *Ciência &Saúde Coletiva* 2007; 12 (1): 115-130
24. Joshaghant HR, Ahmadi AR, Mansourian AR. Effects of occupational exposure in pesticide plant on workers' serum and erythrocyte cholinesterase activity. *Intern Journ of Occup Med and Environ Health* 2007; 20 (4): 381-385.
25. Del Prado JL. Pesticide exposure, risk factors and health problems among cutflower farmers: a cross sectional study. *Journal of Occup Med and Toxicol* 2007; (2): 9.
26. Quandt SA, Chen H, Grzywacz JG, Vallejos QM, Galvan L, Arcury AT. Cholinesterase depression and its association with pesticide exposure across the agricultural season among latino farmworkers in North Carolina. *Environ Health Perspect* 2010; 118 (5): 635-639.
27. Mohebbi GH, Jahangiri A, Hajeb P. Inhibition of acetyl cholinesterase activity farmers exposed to organophosphate pesticides in Bushehr, Iran. *Am –Euras J Toxicol Soc.* 2011; 3(3): 127-129.
28. Soomro AM, Seehar GM, Bhangar MI, Channa NA. Pesticides in the blood samples of spray-workers at agriculture environment: The toxicological evaluation. *Pak J Anal Environ Chem.* 2008; 9(1): 32-37.
29. Figueiredo GM, Trape AZ, Alonso HÁ. Exposição a múltiplos agrotóxicos e prováveis efeitos a longo prazo à saúde: estudo transversal em amostra de 370 trabalhadores rurais de Campinas (SP). *Rev Bras Med Trab.* 2011; 9(1): 1-9

30. Souza A, Medeiros AR, Souza AC, Wink M, Siqueira JR, Ferreira MBC, et al. Avaliação do impacto da exposição a agrotóxicos sobre a saúde de população rural, Vale do Taquari (RS, Brasil). *Cienc Saude Colet*. 2011; 16(8): 3519-3528.
31. Zhang X, Zhao W, Jing R, Wheeler K, Smith GA, Stallones L, et al. Work-related pesticide poisoning among farmers in two villages of Southern China: a cross-sectional survey. *BMC Public Health*. 2011; 11: 429-437.
32. Tahir S, Tahir A. Assessment of pesticide exposure in female population living in cotton growing areas of Punjab, Pakistan. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2012; 89: 1138-1141.
33. Pasiani JO, Torres P, Silva JR, Diniz BZ, Caldas ED. Knowledge, attitudes, practices and biomonitoring of farmers and residents exposed to pesticides in Brazil. *Int J Environ Res Public Health*. 2012; 9: 3051-3068.
34. World Health Organization. The WHO recommended classification of Pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009. Geneva; 2009 [acesso em 17 jun 2013]. Disponível em: [http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides\\_hazard\\_2009.pdf](http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf).
35. World Health Organization. WHO specifications and evaluations for public health pesticides: Bendiocarb. Geneva, 2008 [acesso em 17 jun 2013]. Disponível em: [www.who.int/whopes/quality/Bendiocarb\\_eval\\_WHO\\_jan\\_2009.pdf](http://www.who.int/whopes/quality/Bendiocarb_eval_WHO_jan_2009.pdf).
36. Ellman GL, Courtney K D., Anders, V., Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961; 7: 88-95.
37. Oliveira-Silva JJ, Alves, Inacio AF, Meyer A, Sarcinelli PN, Matos RC, et al. Cholinesterase activities determination in frozen blood sample: an improvement to the occupational monitoring in developing countries. *Human & Experimental Toxicology* 2000; 19: 173 -177.
38. Ayres M, Ayres Jr M, Ayres DL, Santos AS. *BioEstat 5.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. Belém: Sociedade Mamirauá Civil, 2005.
39. Keifer M. Cholinesterase monitoring in Washington state. In: American Public Health Association 133<sup>rd</sup> Annual Meeting and Exposition; 2005 nov 5-9; New Orleans, USA.

40. Hofmann JM, Keifer MC, De Roos AJ, Fenske RA, Furlong CE, Belle GV, et al. Occupational determinants of serum cholinesterase inhibition among organophosphate-exposed agricultural pesticide handlers in Washington State. *Occup Environ Med.* 2010; 67: 375-386.
41. Furman J. Guidelines for health care providers in Washington state cholinesterase monitoring for agricultural pesticide handlers. Department of Labor & Industries. Division of Occupational Safety & Health (DOSH). Washington, 2010.
42. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora N° 7. Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional. [on line]. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 06 jun 1978 [acesso em 02 dez 2010]. Disponível em: [http://portal.mte.gov.br/data/files/FF8080814295F16D0142E2E773847819/NR-%20\(atualizada%202013\).pdf](http://portal.mte.gov.br/data/files/FF8080814295F16D0142E2E773847819/NR-%20(atualizada%202013).pdf)
43. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora N° 31. Segurança e saúde no trabalho na agricultura, pecuária silvicultura, Exploração florestal e aquicultura. [on line]. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 04 mar 2005 [acesso em 10 set2013]. Disponível em: [http://portal.mte.gov.br/data/files/8A7C816A4295EFDF0143067D95BD746A/NR-31%20\(atualizada%202013\).pdf](http://portal.mte.gov.br/data/files/8A7C816A4295EFDF0143067D95BD746A/NR-31%20(atualizada%202013).pdf).
44. Venkata RS, Ravi KVS, Indira S. Pseudocholinesterase and liver function test in hepatitis and obstructive jaundice. *JCDR.* 2011; 5(4): 729-32.
45. Lampón N, Hermida-Cadahia EF, Riveiro A, Tutor JC. Association between butyrylcholinesterase activity and low-grade systemic inflammation. *Ann Hepatol.* 2012; 11: 356-363.
46. Mikami LR, Wieseler S, Souza RLR, Schopfer LM, Nachoon F, Lockridge O, et al. Five New naturally occurring mutations of the BChE gene and frequencies of 12 butyrylcholinesterase alleles in a Brazilian population. *Pharm Genom.* 2008; 18(3): 213-218.
47. Casida JE, Quistad JB. Organophosphate Toxicology: Safety Aspects of Nonacetylcholinesterase Secondary Targets. In: *Chemical Research in Toxicology.* 2004; 17(8): 983-998.

48. Pereira MIR, Rodrigues IRW, Sant`Ana G. Risco ocupacional para trabalhadores expostos ao temefós no programa de controle do vetor da dengue no Distrito Federal. *Brasília Med.* 2009; 46(4): 332-338.
49. Cataño HC, Carranza E, Huamani C, Hernandez AF. Plasma cholinesterase levels and health symptoms in peruvian farm workers exposed to organophosphate pesticides. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2008; 55: 153-159
50. Pathak MK, Fareed M, Bihari V, Mathur N, Srivastava AK, Kuddus M, et al. Cholinesterase levels and morbidity in pesticide sprayers in North India. *Occup Med.* 2011; 61(7):512-514.
51. Veiga MM, Duarte MFJC, Meirelles LA, Garrigou A, Baldi I. A contaminação por agrotóxicos e os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs). *Rev. Bras. Saúde Ocup.* 2007; 32(116): 57-68.
52. Pathak MK, Fareed M, Srivastava AK, Bihari V, Kuddus M, Pangtey BS, et al. Seasonal variations in cholinesterase activity, nerve conduction velocity and lung function among sprayers exposed to mixture of pesticides. *Environ Sci Pollut Res.* 2013; 20: 7296-7300.
53. Singh S, Kumar V, Thakur S, Banerjee BD, Chandna S, Rautela RS, et al. DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environ Toxicol Pharm.* 2011; 31: 278-285.

Autoria:

1. Sonia Aparecida Viana Câmara - trabalhou na concepção e delineamento, na pesquisa bibliográfica, na realização dos ensaios, análise e interpretação dos dados, e, redação do artigo.
2. Iandara Schettert Silva – trabalhou na concepção, revisão crítica e aprovação da versão final.
3. Elenir Rose Jardim Cury Pontes – trabalhou na concepção e delineamento, análise e interpretação dos dados estatisticamente e na revisão crítica.
4. Antonio Marcos Jacques Barbosa – trabalhou na realização dos ensaios, análise e interpretação dos dados, e, na revisão crítica.

Tabela 1 – Índice de inibição e prevalência de intoxicação dos agentes de controle de endemias, do programa de combate a Leishmaniose, Campo Grande, MS – 2011

<b>COLINESTERASES</b>	<b>ÍNDICE DE INIBIÇÃO (%)<sup>(1)</sup></b>	<b>PREVALÊNCIA DE INTOXICAÇÃO %<sup>(2)</sup></b>
BChE	45,07	36,62
AChE	21,13	19,72

<sup>(3)</sup> % de inibição acima de 25%.

<sup>(4)</sup> Combinação da inibição >25% com 3 ou mais sintomas clínicos

Tabela 2 – Número e porcentagem dos ACE de controle do vetor da leishmaniose segundo dados de identificação, Campo Grande, MS – 2011 (n=71)

<b>Variáveis</b>	<b>Nº.</b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>		
Masculino	46	64,80
Feminino	25	35,21
<b>Faixa etária (em anos)</b>		
20 a 30	32	45,10
31 a 40	23	32,40
41 a 50	12	16,90
51 a 60	4	5,63
<b>Escolaridade (anos de estudo)</b>		
Não responderam	2	2,82
8 a 11 anos	39	54,93
12 ou mais	30	42,25
<b>Estado civil</b>		
Não responderam	2	2,82
Solteiro	29	40,84
Casado	32	45,10
Viúvo	1	1,41
Outro	7	9,90
<b>Raça</b>		
Não responderam	4	5,63
Branca	45	63,40
Negra	12	16,90
Mestiça	10	14,10
Indígena	-	-

Tabela 3 – Número e porcentagem dos ACE do programa de combate ao vetor da leishmaniose segundo exposição ao inseticida, Campo Grande/ MS - 2011 (n=71)

Variáveis	Nº.	%
Tempo de exposição		
Não responderam	4	5,63
Até 12 meses	19	26,80
13 a 24 meses	22	31,00
25 a 36 meses	12	17,00
37 a 48 meses	2	2,82
49 a 60 meses	1	1,41
61 a 72 meses	8	11,27
73 a 84 meses	1	1,41
Acima de 84 meses	2	2,82
Nº. de aplicações (por mês)		
Não responderam	19	26,80
20 a 30	6	8,45
31 a 79	–	–
80 a 100	22	31,00
101 a 120	24	33,80
Treinamento		
Não responderam	24	33,80
Sim	47	66,20
Não	–	–
Uso de EPI		
Não respondeu	1	1,41
Sim	68	95,77
Não	2	2,82
Relação dos sintomas c/ trabalho		
Não responderam	–	–
Sim	55	77,46
Não	16	22,53

Tabela 4 - Número e porcentagem dos ACE do programa da leishmaniose segundo sintomas e efeitos apresentados, Campo Grande / MS – 2011 (n=71)

<b>Sintomas</b>	<b>Nº.</b>	<b>%</b>
Não relatou sintomas	7	9,90
Cefaléia	38	53,52
Cansaço nas pernas	37	52,11
Irritação da pele	36	50,70
Irritação nasal	32	45,10
Fraqueza muscular	31	43,70
Ansiedade/ irritabilidade	31	43,70
Irritação ocular	28	39,44
Vertigem/tonturas	27	38,03
Tosse	26	36,62
Salivação	23	32,40
Náusea	23	32,40
Sudorese	22	31,00
Insônia	21	29,58
Formigamento	20	28,17
Vertigem	20	28,17
Palpitação	19	26,76
Visão turva	18	25,35
Tremores involuntários	17	23,94
Câimbras	16	22,53
Vômito	11	15,50
Confusão mental	10	14,10
Secreção brônquica	9	12,68
Cólicas	8	11,27
Taquicardia	7	9,86
Inapetência	7	9,86
Incontinência urinária	6	8,45
Diarréia	3	4,22
Contração muscular	2	2,82

Nota: cada trabalhador poderia apresentar um ou mais sintomas

Tabela 5 – Número e porcentagem dos ACE segundo a ocorrência de sintomas de intoxicação e a inibição das colinesterases eritrocitária (AChE) e plasmática (BChE), Campo Grande/MS – 2011 (n=71)

Enzimas	Sintomas de intoxicação				<i>p</i> *
	Sim (n=64)		Não (n=7)		
	Nº.	%	Nº.	%	
AChE					
Reduzida**	16	25,0	-	-	0,337
Normal***	48	75,0	7	100,0	
BChE					
Reduzida	29	45,3	3	42,9	1,000
Normal	35	54,7	4	57,1	

\*Teste de Fisher. \*\* reduzida = inibição enzimática >25%. \*\*\* normal= inibição enzimática ≤25%.

ANEXOS

## ANEXO A - COMPOSIÇÃO DA MACRORREGIÕES DE MATOGROSSO DO SUL

**MACROREGIÃO DE DOURADOS****MICRORREGIÕES****MICRO DE DOURADOS**

Caarapó
Douradina
Dourados
Itaporã
Laguna Caarapã
Rio Brilhante
Deodápolis
Fátima do Sul
Glória de Dourados
Jateí
Vicentina

**MICRO DE NAVIRAÍ**

Eldorado
Iguatemi
Itaquiraí
Japorã
Juti
Mundo Novo
Naviraí

**MICRO DE NOVA ANDRADINA**

Anaurilândia
Angélica
Batayporã
Invinhema
Nova Andradina
Novo Horizonte do Sul
Taquarussu

**MICRO DE PONTA PORÃ**

Amambai
Antônio João
Aral Moreira
Coronel Sapucaia
Paranhos
Ponta Porã
Sete Quedas
Tacuru

**MACRORREGIÃO DE CAMPO GRANDE****MICRO DE AQUIDAUANA**

Anastácio
Aquidauana
Bodoquena
Dois Irmãos do Buriti
Miranda
Nioaque

**MICRO DE CAMPO GRANDE**

Bandeirantes
Campo Grande
Corguinho
Costa Rica
Jaraguari
Maracajú
Nova Alvorada do Sul
Ribas do Rio Pardo
Rochedo
Sidrolândia
Terenos
Camapuã
Figueirão
Rio Negro
São Gabriel d'Oeste

**MICRO DE COXIM**

Alcinópolis
Coxim
Pedro Gomes
Sonora
Rio Verde de MT

**MICRO DE JARDIM**

Bonito
Bela Vista
Caracol
Guia Lopes da Laguna
Jardim
Porto Murtinho

**MACRORREGIÃO DE CORUMBÁ**

---

Corumbá

---

Ladário

---

**MACRORREGIÃO DE TRÊS LAGOAS****MICRO DE TRÊS LAGOAS**

---

Água Clara

---

Bataguassu

---

Brasilândia

---

Santa Rita do Pardo

---

Selvíria

---

Três Lagoas

---

**MICRO DE PARANAÍBA**

---

Aparecida do Taboado

---

Cassilândia

---

Inocência

---

Paranaíba

---

Chapadão do Sul

---