

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

ALESSANDRA CRISTINA PUPIN SILVÉRIO

**APLICAÇÃO DE BIOINDICADORES E AVALIAÇÃO CLÍNICA EM
TRABALHADORES RURAIS EXPOSTOS AOS PRAGUICIDAS
ORGANOFOSFORADOS VISANDO SUBSIDIAR A IMPLANTAÇÃO DE UMA
REDE DE ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE**

Alfenas/MG

2016

ALESSANDRA CRISTINA PUPIN SILVÉRIO

**APLICAÇÃO DE BIOINDICADORES E AVALIAÇÃO CLÍNICA EM
TRABALHADORES RURAIS EXPOSTOS AOS PRAGUICIDAS
ORGANOFOSFORADOS VISANDO SUBSIDIAR A IMPLANTAÇÃO DE UMA
REDE DE ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas, como requisito para a obtenção do
título de Doutor.

Orientador(a): Profa. Dra. Isarita Martins Sakakibara.

Alfenas/MG

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Silvério, Alessandra Cristina Pupin

Aplicação de bioindicadores e avaliação clínica em trabalhadores rurais expostos aos praguicidas organofosforados visando subsidiar a implantação de uma rede de atenção primária à saúde / Alessandra Cristina Pupin Silvério. -- Alfenas/MG, 2016.
117 f.

Orientadora: Isarita Martins Sakakibara
Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Federal de Alfenas, 2016.
Bibliografia.

1. Exposição Ocupacional. 2. Praguicidas. 3. Saúde do Trabalhador. 4. Contaminação Química. I. Sakakibara, Isarita Martins. II. Título.

CDD-615.9

ALESSANDRA CRISTINA PUPIN SILVÉRIO

“Aplicação de bioindicadores e avaliação clínica em trabalhadores rurais expostos aos praguicidas organofosforados visando subsidiar a implantação de uma rede de atenção primária à saúde”

A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovada em: 24,11,2016

Profa. Dra. Isarita Martins Sakakibara
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura:

Prof. Dra. Lusânia Maria Gregg Antunes
Instituição: USP

Assinatura:

Profa. Dra. Jandira Maciel da Silva
Instituição: UFMG

Assinatura:

Prof. Dr. Fábio de Souza Terra
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura:

Profa. Dra. Luciana Azevedo
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura:

Dedico este trabalho com imenso amor e gratidão:

*A Deus e à Nossa Senhora,
Aos meus pais, Maria Teresa e Reginaldo,
aos meus irmãos, Maira, Julian, Gustavo e Rose,
ao meu marido Carlos César,
às minhas filhas, Alissa e Alana
e aos meus sobrinhos.*

AGRADECIMENTOS

- ✓ A Deus e a Nossa Senhora por conduzirem este doutorado e minha vida.
- ✓ À minha mãe e ao meu pai, por serem meus heróis e também pela presença infinita e incondicional durante todas as etapas de minha vida.
- ✓ Às minhas filhas Alissa e Alana, presentes maior de Deus, por serem meu estímulo de luta e superação a cada momento e me presentarem com suas presenças nos momentos mais difíceis.
- ✓ Ao meu marido pelo estímulo, companheirismo e amor de uma vida inteira, por cada conquista e superação.
- ✓ À minha orientadora, Profa. Dra. Isarita Martins Sakakibara, pela perfeita orientação e amizade, tornando possível a realização deste sonho e permitindo meu crescimento pessoal e científico.
- ✓ À minha amiga, Profa. Dra. Míriam Monteiro de Castro Graciano, obrigada por acreditar em mim e tornar este sonho possível.
- ✓ À Simone Caetani Machado, por toda ajuda, carinho, companheirismo e por ser um presente de Deus em minha vida.
- ✓ Ao Prof. Dr. Denismar Alves Nogueira, o meu muito obrigada por toda orientação nas análises de dados desta pesquisa.
- ✓ Obrigada Juliana, Monize, Marco Antônio, Juliane por cada dia de coleta e por se tornarem meus amigos,
- ✓ A todos os meus alunos que se tornaram o meu time, sem vocês nada disso seria possível.
- ✓ Obrigada por também fazerem parte do meu time: Nayna, Ana Beatriz, Graziela, Wallas, Pedro, Luiz Paulo e Bruna.
- ✓ Aos colegas e amigos do Laboratório de Análises de Toxicantes e Fármacos, Profa. Dra. Vanessa B. Boralli Marques, Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo, Dra. Patrícia Maia Penido, e a todos, obrigada pela contribuição de cada um.
- ✓ À professora da UNIFAL-MG, Profa. Dra. Luciana Azevedo, pelas contribuições a este trabalho.
- ✓ Ao professor da UNIFAL-MG, André Luiz Machado Viana, pelas contribuições nos exames bioquímicos.
- ✓ Meu muito obrigada a minha amiga Laila pela ajuda com as traduções.

- ✓ À Universidade Federal de Alfenas, pela oportunidade em realizar este doutorado.
- ✓ A todos os Gestores, coordenadores, professores e amigos da Universidade José do Rosário Vellano, pelo incentivo e apoio em cada etapa desta conquista
- ✓ Ao Prof Dr. Marcelo Fabiano Gomes Boriollo, Thaísia Adrielle da Silva e Maysa Eduarda de Castro pela colaboração, o meu muito obrigada.
- ✓ A todos os participantes voluntários desta pesquisa, muito obrigada.

*Enquanto estiver vivo, sinta-se vivo.
Se sentir saudades do que fazia, volte a fazê-lo.
Não viva de fotografias amareladas...
Continue, quando todos esperam que desistas.
Não deixe que enferruje o ferro que existe em você.
Faça com que em vez de pena, tenham respeito por você.
Quando não conseguir correr através dos anos, trote.
Quando não conseguir trotar, caminhe.
Quando não conseguir caminhar, use uma bengala.
Mas nunca se detenha.*

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

O uso de praguicidas cresceu no Brasil nos últimos anos e, conseqüentemente, cresceram também os quadros de intoxicação provenientes da exposição à essas substâncias, principalmente em trabalhadores rurais. A classe dos praguicidas organofosforados (OF) é uma das mais utilizadas, todavia sua toxicidade também é elevada colocando, conseqüentemente, essa população em risco. Em vista disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a exposição de trabalhadores rurais aos praguicidas OF por meio da determinação de bioindicadores associados à avaliação clínica, visando dar subsídios ao poder público para a implantação de uma rede de atenção primária à saúde. O estudo foi transversal, de base populacional e natureza avaliativa e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) e da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), pareceres nº 149718 e 415856, respectivamente) com uma amostragem total de 1027 trabalhadores rurais da Regional de Saúde de Alfenas, MG, considerando-se variáveis epidemiológicas, clínicas e riscos ocupacionais. Foram aplicados dois questionários estruturados, um para levantamento de dados epidemiológicos e clínicos dos trabalhadores rurais e o Instrumento de Avaliação da Atenção Primária (PCATool), além da determinação das colinesterases plasmática, eritrocitária e total, bem como as provas de função hepática e renal. Posteriormente, dessa população, selecionou-se dois grupos expostos ocupacionalmente à mistura complexa de praguicidas, contendo OF, (n = 94) e expostos ocupacionalmente à mistura complexa de praguicidas, sem OF, (n = 94), para a aplicação dos bioindicadores dialquilfosfatos urinários, testes de genotoxicidade (ensaios do citoma e do cometa) e análise polimórfica da CYP2C9, comparando esses resultados com aqueles obtidos em um grupo de indivíduos não expostos ocupacionalmente aos praguicidas, habitantes de zona urbana (n = 50). A partir das respostas observadas no PCATool (n = 1027), pode ser verificado que a despeito de uma alta cobertura, o risco ocupacional e suas conseqüências não têm sido detectados, pelos serviços de saúde da família, que se apresentam como não orientados à atenção primária. Quando comparado aos demais grupos de estudo, os resultados obtidos, a partir do levantamento de dados clínicos, mostraram alterações significativas no sistema nervoso central, sistema respiratório e auditivo nos trabalhadores expostos à mistura contendo OF. No tocante à determinação dos bioindicadores propostos, no grupo exposto ocupacionalmente à mistura contendo OF, a atividade da colinesterase plasmática, eritrocitária e total, encontrou-se diminuída em 63,8%, 12,8% e 14,8%, respectivamente, detecção de dialquilfosfatos na urina

de 92,6% dos voluntários desse grupo e mudança significativa em todos os parâmetros de ensaio do citoma, quando comparado com o grupo não exposto ocupacionalmente aos praguicidas. O ensaio do cometa mostrou danos ao DNA por meio da diferença significativa entre os grupos expostos e o grupo não exposto ocupacionalmente, por meio da análise do *Tail moment*. A análise polimórfica de CYP2C9 mostrou maior frequência dos alelos *1/*2 e *1/*3, nos grupos expostos aos praguicidas em relação ao grupo não exposto ocupacionalmente, todavia, não foram observadas relações significativas entre essa e a atividade das colinesterases, a concentração de dialquilfosfatos na urina e os testes de genotoxicidade. Os resultados obtidos nesse pioneiro estudo, com uma população rural brasileira, sugerem que esses trabalhadores estão expostos aos praguicidas de forma arriscada, fato este que associado ao baixo grau de escolaridade e à precariedade de ações programáticas, aumenta a probabilidade de aparecimento de quadros de intoxicação, demonstrando assim a importância do treinamento das equipes de saúde para a promoção, a prevenção e o tratamento dessa população. O emprego de bioindicadores de dose interna, de efeito, de genotoxicidade e de suscetibilidade, em combinação, como utilizado no presente trabalho, é primordial para a avaliação da população rural, diminuindo a probabilidade do aparecimento de doenças advindas da exposição ocupacional aos praguicidas.

Palavras-chave: Exposição ocupacional. Praguicidas. Saúde do Trabalhador. Contaminação química. Atenção Primária à Saúde.

ABSTRACT

The use of pesticides in Brazil has been growing recently, leading to an increase in the intoxication cases caused by the exposure, especially of farm workers, to these substances. Among all the pesticides, the organophosphates (OF) are one of the most used groups, although they present high toxicity, which is risky for population. Thus, the aim of this study was to evaluate the exposure of farm workers to organophosphates pesticides through the determination of clinical evaluation associated biomarkers, providing information for the implementation of a primary health care system by the Government. It was a cross-sectional and population-based evaluation study approved by the Ethics Committees in Research of UNIFENAS and UNIFAL-MG (Document numbers 415856 and 149718), allowing the use of a 1,027 rural workers sample from Alfenas-MG health regional, considering epidemiological, clinical and occupational risk variables. Two forms were applied, one for collection of rural workers epidemiological and clinical data, and the Primary Care Assessment Tool (PCATool), as well as the determination of plasma, erythrocyte and total cholinesterase, and the evidences of liver and kidney function. Subsequently, from this population, two groups were selected: the occupationally exposed to the complex mixture of pesticides with OF (n = 94), and the occupationally exposed to the complex mixture of pesticides without OF (n = 94). Both groups were evaluated through urinary dialkyl phosphates biomarkers, genotoxicity assays (cytome and comet), and polymorphism of CYP2C9, comparing these results with those obtained in a group of individuals not occupationally exposed to pesticides, urban residents (n = 50). From the PCATool responses (n = 1027), it was noticed that despite high coverage, the occupational risk and its consequences have not been detected by the family health services, referring to a non-oriented primary care. When compared to other study groups, the clinical evaluated data showed significant changes in the central nervous, respiratory and auditory systems in workers exposed to the mixture containing OF. In the biological monitoring of the occupationally exposed group, the plasma, erythrocyte, and total cholinesterase activities changed in 63.8%, 12.8% and 14.8%, respectively, with 92.6% of dialkyl phosphates detection in urine. Moreover, in this group it was a significant change in all the test parameters cytome when compared with the group not exposed occupationally. The comet assay showed DNA damage through significant difference between exposed and unexposed groups by *Tail moment*. CYP2C9 polymorphism presented a higher frequency of allele * 1 / * 2 and * 1 / * 3 in the exposed population in relation to the unexposed group. However, there was no significant correlation

between this test and cholinesterase activities, nor with dialkyl phosphates concentration in urine and genotoxicity tests. The results obtained in this ascertained study, with a Brazilian rural population, suggested that these workers are exposed to pesticides in a risky way. In addition to this fact, low education levels and precarious primary care actions increase the probability of intoxication events, indicating the importance of health teams training for promoting, preventing and treating this population. The combination of internal dose, effect, genotoxicity and susceptibility biomarkers can be an important tool to assess the exposure of rural population, decreasing the emergence of diseases resulting from occupational exposure to pesticides.

Keywords: Occupational Exposure. Pesticides. Worker's health. Chemical Contamination. Primary Health Care.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química geral dos OF.	23
Figura 2 - Fluxograma de amostragem, grupos de estudo e procedimentos realizados em cada população estudada.	43
Figura 3 - Porcentagem de trabalhadores rurais investigados por cidade.	53
Figura 4 - Contato e intoxicação com praguicidas e uso de EPIs.	54
Figura 5 - Parâmetros do teste de citoma de mucosa bucal para os 3 grupos avaliados.	67
Figura 6 - Imagens do teste do cometa para os 3 grupos avaliados.	71
Figura 7 - Análise de PCR-RFLP para alelos da CYP2C9.	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos estudos que avaliam os DAPs como bioindicadores da exposição aos OF.	30
Tabela 2 - Características dos ensaios de genotoxicidade em estudos encontrados na literatura, de 1993 a 2016.....	35
Tabela 3 - <i>Primers</i> e condições de PCR-RFLP para análise polimórfica.	50
Tabela 4 - Média dos escores dos atributos da APS dos serviços prestados à população de zona rural da regional de saúde de Alfenas, Minas Gerais, obtidos por meio do PACTool-Brasil.	56
Tabela 5 - Parâmetros que caracterizam a população exposta aos praguicidas.....	60
Tabela 6 - Sistemas orgânicos com alterações nos três grupos analisados.	61
Tabela 7 - Resultados de atividade das Ch e concentrações de dietilfosfato (DETP) e dietilditiofosfato (DEDTP) nos três grupos analisados.	63
Tabela 8 - Resultados do teste de citoma de mucosa bucal para os 3 grupos avaliados.	68
Tabela 9 - Análise polimórfica da enzima CYP2C9 e ensaio do cometa.	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChE -	Acetilcolinesterase ou colinesterase eritrocitária
AChE-R -	Acetilcolinesterase - “ <i>readthrough</i> ”
AChE-S -	Acetilcolinesterase-sináptica
ALT -	Alanina transaminase
APS -	Atenção primária à saúde
AST -	Aspartato transaminase
BChP -	Butirilcolinesterase ou colinesterase plasmática
BP -	Pares de Bases
Ch -	Colinesterase
ChT -	Colinesterase total
CYP -	Citocromo P450
DAPs -	Dialquilfosfato
DEDTP -	Dietilditiofosfato
DEP -	Dietilfosfato
DETP -	Dietiltiofosfato
DMDTP -	Dimetilditiofosfato
DMP -	Dimetilfosfato
DMTP -	Dimetiltiofosfato
DNA -	Ácido desoxirribonucleico
DTNB -	Ditiobisnitrobenzoico
EMX -	Enzimas de metabolização de xenobióticos
EPI -	Equipamento de Proteção Individual
ER -	Enzimas de restrição
ESFs -	Estratégia Saúde da Família
GC-MS -	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
GST -	Glutathiona-S-transferase
IARC -	Agência Internacional para pesquisa em Câncer
IBGE -	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LMP -	Agarose de baixo ponto de fusão
MN -	Micronúcleos
MS -	Ministério da Saúde

NAT -	<i>N</i> -acetiltransferase
NR-6 -	Norma Regulamentadora nº06
OF -	Organofosforados
PCATool -	<i>Primary Care Assessment Tool</i>
PCR -	<i>Polymerase chain reaction</i>
PCR-RFLP -	<i>Polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism</i>
PCR-TC -	Reação em cadeia da polimerase-condições termociclagem
PFBBr -	Pentafluorobenzil brometo
PON -	Paraoxonase
SNC -	Sistema Nervoso Central
SPE -	Extração em fase sólida
TM -	<i>Tail moment</i> (momento de cauda)
UNICAMP -	Universidade Estadual de Campinas
UNIFAL-MG -	Universidade Federal de Alfenas - Minas Gerais
UNIFENAS -	Universidade José do Rosário Vellano
γ-GT -	Gama-glutamil transferase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1	PRAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS	21
3.2	BIOINDICADORES	26
3.2.1	Atividade das enzimas colinesterases	28
3.2.2	Dialquilfosfatos urinários	29
3.2.3	Bioindicadores de Genotoxicidade	32
3.2.4	Análise polimórfica	37
3.3	AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE E AVALIAÇÃO CLÍNICA	38
4	EXPERIMENTAL	41
4.1	TIPO DE ESTUDO, AMOSTRAGEM E QUESTÕES ÉTICAS	41
4.2	AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE E AVALIAÇÃO CLÍNICA	44
4.3	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DAS COLINESTERASES	45
4.4	AVALIAÇÃO DAS FUNÇÕES HEPÁTICA E RENAL	46
4.5	DETERMINAÇÃO DE DAPS URINÁRIOS	46
4.6	ENSAIO DO CITOMA	47
4.7	ENSAIO DO COMETA	48
4.8	ANÁLISE POLIMÓRFICA	49
4.9	ANÁLISE DOS DADOS	51
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52

5.1	AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE, AVALIAÇÃO CLÍNICA E DAS FUNÇÕES HEPÁTICA E RENAL E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DAS COLINESTERASES NA POPULAÇÃO TOTAL AVALIADA	52
5.2	CARACTERIZAÇÃO DA EXPOSIÇÃO E AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS GRUPOS DE TRABALHADORES RURAIS EXPOSTOS À MISTURA DE PRAGUICIDAS	58
5.3	AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL EMPREGANDO OS BIOINDICADORES	62
6	CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
	REFERÊNCIAS	81
	APÊNDICE	94
	ANEXOS	98

1 INTRODUÇÃO

Os praguicidas ocupam uma posição especial entre vários agentes químicos que a população pode estar exposta, assim as atividades que implicam no uso destas substâncias devem ser periodicamente controladas. O Brasil utiliza 19% da produção mundial, o que corresponde a um quinto do consumo. O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) divulgou em junho de 2015 um relatório no qual foi demonstrado que, entre 2002 e 2012, a comercialização dessas substâncias no país passou de cerca de três para sete quilos por hectare (BRASIL, 2015). Dentre os praguicidas de maior utilização estão os pertencentes à classe dos organofosforados (OF), com ação sobre diferentes pragas, sendo esses responsáveis por inúmeros quadros de intoxicação, inclusive fatais, decorrentes de sua toxicidade aguda e crônica.

A exposição humana aos praguicidas pode ocorrer através do ambiente de trabalho, como observada nos trabalhadores rurais, e esse risco químico pode levar a quadros de intoxicações agudas e crônicas. Diante disso, os órgãos de saúde pública devem estar frequentemente avaliando a exposição a tais substâncias e os seus efeitos na saúde dos indivíduos e dos ecossistemas. A maioria dos estudos sobre efeitos dos praguicidas para a saúde tem se concentrado em exposições ocupacionais, para tanto aplicam-se bioindicadores e avaliação clínica.

O uso de bioindicadores de exposição é de real importância para a prevenção de intoxicações advindas do contato com as substâncias químicas no ambiente de trabalho e podem ser classificados como indicadores biológicos de dose interna, de efeito e de suscetibilidade. Somando-se a eles, o acompanhamento clínico desempenha papel fundamental na verificação da saúde dos trabalhadores. Os OF são inibidores da butirilcolinesterase (BChP) e da acetilcolinesterase (AChE), sendo a medida da atividade enzimática preconizada por órgãos regulatórios de vários países como indicador biológico de exposição a tais xenobióticos, além da determinação de seus produtos de biotransformação na urina, os dialquilfosfatos (DAPs). Ainda, sabendo-se que tais substâncias químicas são genotóxicas, indicadores desse efeito, tais como o ensaio do citoma e do cometa, também apresentam aplicação, bem como a análise polimórfica de enzimas de metabolização de xenobióticos (EMX), como citocromo P450 (CYP), paraoxonase (PON), *N*-acetiltransferase (NAT) e glutatona-S-transferase (GST), indica a suscetibilidade pré-exposição ou pós-exposição, nesse caso, podendo ser adquirida, em ambos casos implicando em uma resposta alterada na exposição a esses praguicidas.

Mediante essas colocações, identificar o grau de orientação à Atenção Primária à Saúde (APS) de cada município, no presente estudo, pertencente à Regional de Saúde de Alfenas-MG, correlacionando-o às condições clínicas de trabalhadores rurais e aos bioindicadores de exposição, de efeito, de suscetibilidade e de genotoxicidade, certamente favorecerá a definição de políticas públicas e elaboração de um plano que subsidiará a implantação de uma Rede de Atenção à Saúde do trabalhador rural, diminuindo assim os agravos decorrentes da exposição a estes agentes e propiciando segurança nestas atividades laborais e qualidade de vida para essa população.

2 OBJETIVOS

A seguir serão apresentados os objetivos desenvolvidos neste trabalho.

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo geral aplicar bioindicadores de dose interna, de efeito e de suscetibilidade e avaliar clinicamente trabalhadores rurais, visando subsidiar a implantação de uma rede de APS efetiva que atue na prevenção de intoxicações advindas da exposição aos praguicidas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos estão descritos a seguir:

- a) Avaliar efetividade da Rede de Atenção à Saúde do Trabalhador rural, por meio da aplicação do PCATool-Brasil versão adulto (PCATool – *Primary Care Assessment Tool*);
- b) Verificar as condições de saúde dos trabalhadores rurais por meio da avaliação clínica e das condições de exposição;
- c) Avaliar as funções hepática e renal, por meio da determinação das enzimas aspartato transaminase (AST), alanina transaminase (ALT), gama-glutamil transferase (γ -GT) e creatinina nestes trabalhadores;
- d) Desenvolver método para a determinação dos DAPs urinários;
- e) Avaliar a exposição aos praguicidas na população em estudo, por meio da determinação das BChP, AChE, colinesterase total (ChT) e DAPs urinários;
- f) Avaliar o efeito genotóxico na população estudada por meio dos ensaios do citoma e do cometa;

- g) Determinar a frequência alélica da enzima do sistema citocromo P450 (CYP), CYP2C9, na população estudada;
- h) Analisar estatisticamente os resultados a fim de estabelecer possíveis associações e correlações entre os dados obtidos no estudo.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Uma breve revisão de literatura é apresentada a seguir, sendo composta dos temas: praguicidas OF, bioindicadores de exposição, genotoxicidade, suscetibilidade e ainda APS de trabalhadores rurais.

3.1 PRAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (US EPA), em 2011, praguicida é "qualquer substância ou mistura de substâncias destinada a prevenir, destruir, repelir ou controlar qualquer praga. Pragas podem ser insetos, ratos e outros animais, plantas indesejáveis (ervas daninhas), fungos, ou microrganismos como bactérias e vírus". A exposição a essas substâncias pode ocorrer de diversas formas involuntárias, dentre elas ambiental e/ou ocupacional e, ainda, intencionalmente, como em casos de suicídio. Diante disso, os órgãos de saúde pública estão frequentemente avaliando os riscos de desenvolvimento de agravos à saúde, tanto no âmbito individual quanto coletivo, oriundos da potencial exposição da população a contaminantes químicos ambientais. Vários estudos sobre efeitos de praguicidas tem se concentrado em exposições ocupacionais de formuladores e agricultores (AZAROFF, 1999; COCKER, 2002; MARTÍNEZ-VALENZUELA, 2009; BOLOGNESI, 2009; SINGH, 2011a; SINGH, 2011b; SINGH, 2012; KOUREAS, 2012; SANTOS, 2012).

O uso de substâncias químicas na agricultura tem aumentado de forma significativa e, na safra de 2011, a agricultura brasileira consumiu nada menos que 936 mil toneladas de insumos químicos (KUGLER, 2011), sendo o Brasil considerado um dos maiores consumidores mundiais. O IBGE divulgou, em junho de 2015, um relatório sobre o desenvolvimento sustentável, no qual foi demonstrado que a utilização de produtos químicos para o controle de pragas, doenças e ervas daninhas aumentou, mais que o dobro, em dez anos no país. Entre 2002 e 2012, a comercialização de agrotóxicos passou de cerca de três para sete quilos por hectare, o que representa um aumento de 155%. O estado de São Paulo lidera a venda e o uso de agrotóxicos, seguido do estado de Goiás e de Minas Gerais (IBGE, 2015). Conseqüentemente, tais números devem ser considerados na avaliação do risco e da exposição, uma vez que esses compostos ocupam a

terceira posição, como agentes químicos responsáveis por quadros de intoxicação, sendo que os OF representam 73% deles (SINTOX, 2012).

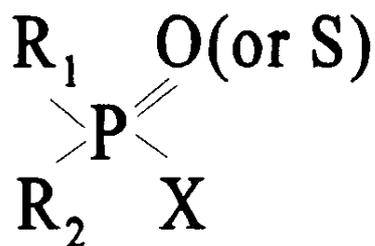
Porém, há que se discutir o binômio risco-benefício dessa utilização, uma vez que os praguicidas são, inegavelmente, substâncias químicas que atuando sobre um grande número de pragas, promovem um maior aproveitamento de diversas culturas de alimentos, em contrapartida, em vista do uso indiscriminado e por não apresentarem seletividade sobre os organismos vivos, podem contaminar os ecossistemas, aumentando a probabilidade do aparecimento de intoxicações (STORM; ROZMAN; DOULL, 2000).

Os OF são um grupo de substâncias químicas de toxicidade elevada, podendo ser veiculados à população através dos diversos compartimentos ambientais contaminados, tais como água, ar, solo e alimentos. Além disso, os trabalhadores também podem estar expostos durante a síntese, a formulação e durante, ou após, a aplicação destes compostos nas culturas agrícolas (SANTOS, 2012) e no controle de vetores de doenças (DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2009; MARTÍNEZ-VALENZUELA, 2009). Em regiões tropicais, a exposição aumenta devido à umidade e temperaturas elevadas, o que faz com que estas substâncias permaneçam na circulação de ar associadas a moléculas de água (MARTÍNEZ-VALENZUELA, 2009).

Além das exposições supracitadas, os trabalhadores rurais em sua maioria, por desconhecimento e/ou falta de treinamento, não seguem as normas de segurança, tais como o uso de equipamento de proteção individual e higienização correta destes equipamentos, instruções corretas de aplicação dos praguicidas e tempo adequado para colheita, o que torna a exposição arriscada (MARTÍNEZ-VALENZUELA, 2009).

Todos os compostos OF apresentam, como fórmula geral, a estrutura apresentada na Figura 1, na qual o grupo X pode ser oxigênio ou enxofre, os grupos R1 e R2 podem ser alquil, amino, tioalquil, fenil ou outros grupos substituintes, sendo compostos bem caracterizados a partir da natureza dos átomos circundantes ao átomo central de fósforo (STORM; ROZMAN; DOULL, 2000). Os derivados do ácido fosfórico são o protótipo desta classe e os quatro átomos circundantes ao fosfato são oxigênio (diclorvos e mevinfós), os OF que contém enxofre, derivados do ácido tiofosfórico, são mais numerosos que os que só possuem fósforo (paration, diazinon e clorpirifós), e outro grupo desses praguicidas são os derivados do ácido ditiofosfórico, contendo 2 enxofres na molécula (dissulfoton, azinfós e fentoato). Outros representantes, não classificados de acordo com a estrutura química, são triclorfon, acefato, metamidofós (STORM; ROSMAN; DOULL, 2000).

Figura 1 - Estrutura química geral dos OF.



Fonte: STORM; ROSMAN; DOULL, 2000.

Os OF são líquidos de alta pressão de vapor e lipossolúveis, apresentando massa molecular que varia entre 183 a 466 daltons, são estáveis em pH neutro, todavia em pH alcalino tem degradação acelerada, sendo pouco persistentes no ambiente, entre 2 a 12 semanas, não sofrendo bioacumulação na cadeia alimentar (LARINI, 1997; VALE, 1998, SANTOS, 2012). São compostos de ampla ação praguicidas, mas empregados, principalmente como inseticida e acaricida e podem ser absorvidos pelas vias dérmica, respiratória e oral sendo essa, muitas vezes, favorecida pelos solventes presentes na formulação (AZAROFF, 1999; STORM; ROSMAN; DOULL, 2000; SANTOS, 2012). A via oral/ trato gastrointestinal apresenta importância secundária, sob o ponto de vista ocupacional (SANTOS, 2012). Para a maioria destes compostos, a absorção é rápida e completa, com ampla distribuição para diversos órgãos e tecidos e a biotransformação pode levar à bioativação ou à detoxificação. A meia-vida de eliminação pode variar de alguns minutos a cerca de 3 dias, não apresentando efeitos acumulativos (STORM; ROSMAN; DOULL, 2000).

Em relação à biotransformação, numa primeira fase esses compostos podem sofrer reações de oxidação, catalisadas pelo CYP, principalmente a enzima CYP3A4, redução e hidrólise, (COCKER et al., 2002). Os fosforotioatos podem sofrer dessulfuração oxidativa (P = S), processo no qual as formas tions são convertidas em oxons (P = O), sendo essas de maior toxicidade (LARINI, 1997). As formas oxons são hidrolisadas por paraoxonases a dietilfosfatos (DEP) e 4-nitrofenol ou conjugada com glutathiona, apresentando subsequente catálise através de glutathionas-S-transferases (SINGH et al., 2011b; SINGH et al., 2012).

A *O*-desalquilação oxidativa acontece para vários fosfatos com exceção dos fosforotioatos e transforma triésteres em diésteres, com formação de compostos inativos. A desarilação oxidativa parece acontecer somente para os fosforotioatos e a oxidação do grupo tioéter resulta em compostos mais ativos, com a formação de sulfóxidos e sulfonas (LARINI, 1997). Outro processo de biotransformação bem conhecida para estes compostos é a oxidação de grupos alquila. As hidrolases teciduais como as carboxilesterases, fosforilesterases e

carboxilamidases são responsáveis pela hidrólise dos ésteres fosforados (ECOBICHON, 2003; SANTOS 2012).

Todavia, a maioria dos produtos de biotransformação encontrados na urina são obtidos pela ação das enzimas A-esterases e fosforilfosfatases amplamente encontradas no fígado, intestino e plasma (SANTOS, 2012). A fase II da biotransformação ocorre por glicuronidação e sulfatação, originando produtos de baixa toxicidade (LARINI, 1997; SILVA, 2008; MARONI et al., 2000; SANTOS, 2012).

Os DAPs são originados a partir da hidrólise de ésteres fosfórico pela A-esterase e outras enzimas, como produtos terminais (MARONI et al., 2000; APREA et al., 1996). A partir da exposição, o dimetilfosfato (DMP), dimetiltiofosfato (DMTP), dimetilditiofosfato (DMDTP), DEP, dietiltiofosfato (DETP), dietilditiofosfato (DEDTP), são excretados na urina em uma proporção de 80 a 90% da dose total, dentro de 48 horas (WU et al., 2010).

Estes praguicidas apresentam como principal mecanismo de ação a inibição das enzimas colinesterases (Ch), por reação do átomo de fósforo da molécula com o grupo nucleofílico do fragmento serina, localizado no sítio ativo da colinesterase, originando uma ligação covalente (STORM; ROSMAN; DOULL, 2000). Por esta razão, diz-se que a ligação é irreversível, podendo a enzima perder sua atividade de hidrólise dos substratos, tais como a acetilcolina na fenda sináptica (ECOBICHON, 2003; STORM; ROSMAN; DOULL, 2000; MARGARITI; TSATSAKI, 2009). Eles podem também se ligar a uma variedade de esterases presentes no sangue e tecidos, todavia essa ligação não está diretamente ligada a neurotoxicidade, podendo afetar a toxicidade total. A taxa de remoção hidrolítica varia com o composto, uma vez que alguns complexos colinesterase-fosforados sofrem processo denominado envelhecimento, no qual a taxa de reativação diminui depois da exposição, devido à reação de desalquilação. A síntese *de novo* da butirilcolinesterase, ou colinesterase plasmática (BChP), ocorre dentro de 12 a 24 horas, da AChE cerebral dentro de 5 a 7 dias e da eritrocitária é dependente da meia vida das hemácias (STORM; ROSMAN; DOULL, 2000; SILVA, 2016).

Os efeitos dos OF podem ser classificados, quanto à duração da exposição, em agudos ou crônicos, e em imediatos ou retardados, quanto ao tempo decorrido entre a exposição e o aparecimento dos sintomas. A neurotoxicidade dos OF é devido à inibição da acetilcolinesterase, ocorrendo como consequência um aumento do neurotransmissor acetilcolina no sistema nervoso central (SNC) e periférico, o que resulta na síndrome colinérgica, causada por uma hiperestimulação nas sinapses. Essa, quando nas sinapses muscarínicas, resulta em miose, sialorreia, lacrimejamento, sudorese excessiva, vômito, diarreia, incontinência fecal e urinária, aumento de secreção brônquica e broncoconstrição e,

nas nicotínicas, resulta em sialorreia, espasmos musculares, fasciculações, fraqueza, paralisia e palidez (STORM; ROSMAN; DOULL, 2000; KOUREAS et al., 2012).

No sistema nervoso central, os efeitos dos OF incluem ansiedade, confusão, ataxia, inquietação, vertigem, convulsões e depressão circulatória e respiratória. Os sintomas apresentam diferentes graus de severidade dependendo do composto, dose, via de absorção, frequência e duração da exposição (STORM; ROSMAN; DOULL, 2000).

A toxicidade dos OF depende da classe e da afinidade pela enzima Ch, na qual forma oxon, geralmente, apresenta maior potencial tóxico devido a maior eletronegatividade e consequente maior afinidade pelo sítio esterásico das Ch, sendo ainda importante considerar o tamanho da cadeia alquílica, que quanto maior torna o composto mais potente (STORM; ROSMAN; DOULL, 2000).

A inibição das Ch sempre norteou os efeitos de neurotoxicidade apresentados por estas substâncias, todavia na década de 90 foram iniciadas pesquisas mostrando efeitos neurotóxicos por outros mecanismos, tais como a inibição de síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA) e proteínas e inibição do crescimento de neuritos e alterações de sinaptogênese, o que leva a alteração da proliferação e diferenciação neuronal. Os OF também podem alterar a atividade da enzima adenilato ciclase e, conseqüentemente, a concentração de AMPc, que é responsável por processos de crescimento e diferenciação celular, apoptose, regulação de metabolismo e expressão de diversos genes. Estas interferências na sinalização celular, com repercussões sobre a expressão gênica de proteínas essenciais ao processo de desenvolvimento do SNC, podem ajudar a explicar os danos comportamentais, tais como alterações de memória, aprendizado, atenção, coordenação motora, entre outros (MEYER, 2003; MEYER, 2004).

Mostafalou e Abdollahi (2013), em uma revisão sobre processos que podem desencadear doenças crônicas relacionadas à exposição aos praguicidas, apresentaram como principais mecanismos de indução os danos genéticos, danos epigenéticos, desregulações endócrinas, disfunções mitocondriais e de retículo endoplasmático, alterações de ubiquitinação e estresse oxidativo, decorrentes da exposição a baixas doses de praguicidas, em um tempo prolongado. Este tipo de exposição a OF pode levar a desregulação de sistemas endócrinos e pode alterar níveis dos hormônios tireoidianos e estrógenos (MCKINLAY, 2008; SINGH, 2011b; KOUREAS et al., 2012; MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013). Estudos têm demonstrado alterações significativas entre a exposição a inseticidas OF e sistema reprodutor masculino como diminuição na concentração e número de espermatozoides e volume de esperma assim como espermatozoides aneuploides (KOUREAS et al., 2012). Alterações de sistema imunológico e reações de hipersensibilidade foram relatadas (SINGH, 2011b).

Alterações neurológicas e comportamentais foram observadas em exposições crônicas, em adultos e crianças, em períodos pré e pós-natal, levando a alterações no neurodesenvolvimento, no perímetro cefálico, no peso ao nascer, aumento de serotonina, modificação de comportamento emocional, das habilidades cognitivas, no desenvolvimento intelectual e mental, no déficit de atenção e hiperatividade, na coordenação motora e ainda ansiedade e depressão (SINGH, 2011b; HUEN et al., 2012; KOUREAS et al., 2012).

Recentes estudos também têm evidenciado uma indução no estresse oxidativo, na exposição aos OF, com aumento de níveis de radicais livres e diminuição de níveis de glutatona e outros mecanismos antioxidantes, o que resulta em danos em proteínas, lipídeos, DNA, RNA e macromoléculas e interferência em processos bioquímicos e moleculares. O aumento de estresse oxidativo é condição associada às doenças cardiovasculares, diabetes, mieloma múltiplo, mal de Parkinson, envelhecimento, câncer, entre outras (MUNIZ et al., 2008; HUEN et al., 2012; KOUREAS et al., 2012). Os tipos de cânceres já associados à exposição aos OF foram de pulmão, de próstata, de reto, tumores cerebrais, leucemia e linfoma (LEE, 2004a, 2004b; SINGH, 2011b; KOUREAS et al., 2012; SINGH, 2012; MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013). Podem causar efeitos tóxicos no fígado e nos rins, agudos e crônicos, e ainda alterações respiratórias, tais como asma e doença pulmonar obstrutiva (KOUREAS et al., 2012; MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013; VIKRANT, 2015).

3.2 BIOINDICADORES

Na Toxicologia Ocupacional o maior objetivo é a prevenção de alterações da saúde dos trabalhadores expostos a fatores de risco diversos. Fatores estes, como a exposição às substâncias químicas, impõem que a avaliação dos xenobióticos no ambiente de trabalho seja sistemática. As medidas preventivas destinadas a esse fim são conhecidas como monitoramento ambiental e biológico (DELLA ROSA et al.; 2014).

A avaliação da exposição, pela determinação do xenobiótico e de seu(s) produto(s) de biotransformação no organismo, é realizada pelo monitoramento biológico. Por meio deste, a avaliação da magnitude das interações entre um sistema biológico e o agente ambiental pode ser obtida por medições específicas, denominadas bioindicadores que, pela comparação dos seus níveis com valores de referência, pode ser usada na avaliação do risco à saúde (JAKUBOWSKI; TRZCINKA-OCHECKA, 2005; DELLA ROSA et al.; 2014).

Para o biomonitoramento, as amostras mais utilizadas são sangue, urina e ar expirado, em função da facilidade da obtenção e das informações obtidas com os resultados das análises, uma vez que, além de demonstrarem a exposição, alguns indicadores permitem também, verificar alterações biológicas precoces advindas da exposição ao(s) xenobiótico(s). A avaliação da absorção, em seguida à uma exposição, é realizada através dos chamados indicadores de dose interna (de exposição). Já as avaliações dos efeitos precoces são efetuadas através dos indicadores de efeito (de efeito), os quais são capazes de evidenciar as alterações reversíveis que ocorrem no órgão crítico. Existem ainda, os indicadores de suscetibilidade, os quais estão relacionados às características congênitas ou adquiridas de cada indivíduo que, de alguma forma, podem influenciar na maneira como o organismo reage em situações de exposição aos xenobióticos. O monitoramento, ambiental e biológico e, além desses, a vigilância da saúde, são atividades complementares destinadas a um único objetivo: a prevenção de doenças produzidas pela exposição ocupacional a agentes químicos (JAKUBOWSKI; TRZCINKA-OCHOCKA, 2005; ANGERER et al., 2007; MANNO et al., 2010; DELLA ROSA et al., 2014; LEITE, 2016).

Para avaliar a exposição aos OF, vários bioindicadores tem sido propostos, dentre esses a determinação da atividade das Ch em sangue (SINGH, 2011a; BENEDETTI et al., 2013; LIONETTO et al., 2013), resíduos da forma inalterada em soro (LACASSIE et al., 2001) e tecidos (RICHARDSON; SEIBER, 1993), produtos de biotransformação em urina (OLSSON et al., 2003; SANTOS, 2012) e sangue (CORRION et al., 2005), plasma (DREVENKAR; STENGL; FROBE, 1994), tecidos (RICHARDSON; SEIBER, 1993), cabelo humano (TSATSAKIS et al., 2010) e pelos de animais (MARGARITI; TSATSAKI, 2009; MARAVGAKIS et al., 2012). A avaliação da genotoxicidade destes compostos também tem sido realizada por meio de testes, tais como o ensaio do cometa e do citoma (GÓMEZ-ARROYO et al., 2000; SHADNIA et al., 2005; SAILAJA, 2006; PIPERAKIS et al., 2006; MCCAULEY et al., 2008; MUNIZ, 2008; BOLOGNESI, 2009; MARTÍNEZ-VALENZUELA, 2009; SINGH, 2011a; SINGH, 2012; BENEDETTI, 2013; KAUSAR et al., 2014; ZELJEZIC et al., 2015). Bioindicadores de suscetibilidade, como a análise polimórfica de enzimas metabolizadoras de CYP1A1, CYP3A5, CYP2C9, CYP2D6, PON1, GSTM1, GSTT1 e NAT2 também têm sido propostos (SINGH et al., 2012, SINGH, 2011a).

3.2.1 Atividade das enzimas colinesterases

A determinação da atividade das ChT, BChP e AChE é utilizada como bioindicador de exposição e de efeito aos OF, recomendada pela *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH). As BChP são consideradas indicadores de dose interna, mostrando a biodisponibilidade dos praguicidas e avaliando a exposição, por outro lado, as AChE podem ser classificadas como indicadores de efeito, uma vez que refletem a inibição correlacionada ao sistema nervoso central, tendo grande importância na avaliação da exposição crônica aos OF, com resposta dose-dependente e correlação com os efeitos tóxicos (GARFITTI et al., 2002; SANTOS, 2012; LIONETTO et al., 2013).

Em uma revisão conduzida por Lionetto et al. (2013), é discutida a produção, por um único gene, de três tipos de acetilcolinesterases, as quais são expressas em diferentes tecidos por diferentes “*splicing*”, a acetilcolinesterase-sináptica (AChE-S), a acetilcolinesterase-“*readthrough*” (AChE-R) e a AChE, sendo essas encontradas no SNC e músculo, em situações de estresse físico e químico, e em hemácias e linfócitos, respectivamente. A função da acetilcolinesterase é a hidrólise da acetilcolina na fenda sináptica no SNC e junção neuromuscular, nas hemácias constitui o antígeno Yt (*cartwright*), mas sua função não é conhecida. Já, a BChP é encontrada no plasma, fígado pâncreas, intestino delgado e pequenas concentrações no SNC e periférico, atuando sobre outros substratos, tais como a butirilcolina, não tendo correlação com a enzima expressa no sistema nervoso (LIONETTO et al., 2013).

Durante o estresse, como exposição aos praguicidas, há alteração na razão entre as formas AChE-S e AChE-R, com aumento na AChE-R, que apresenta ação de reparo e proteção contra a neurodegeneração. Isto posto, a determinação de sua expressão gênica pode ser considerada um importante indicador de suscetibilidade. Ainda, a determinação da atividade da AChE está sendo considerada no biomonitoramento e avaliação de risco em áreas contaminadas por várias classes de poluentes, proporcionando assim uma medida interativa de risco neurológico global, já que substâncias como metais pesados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, detergentes e praguicidas como piretróides, triazinas e paraquat também são considerados inibidores desta enzima (LIONETTO et al., 2013).

Porém, essas enzimas apresentam limitações, que podem influenciar os resultados do monitoramento biológico dos trabalhadores expostos aos OF, como variação intra e interindividual e inespecificidade. Alguns fatores, tais como idade, sexo, raça, estado nutricional e presença de patologias, principalmente hepatopatias, podem afetar a atividade das

Ch (MARONI et al., 2000; COCKER et al., 2002). A capacidade de inibição também varia entre os OF, dificultando assim a correlação desse bioindicador com a biodisponibilidade destes compostos no organismo humano (COCKER et al., 2002).

Segundo HE (1999), para uma correta interpretação, deve ser considerado que (1) a inibição das BChP e AChE reflete a absorção de quantidade significativa de OF e pode indicar um possível efeito tóxico, em níveis de exposição altos, mas não há sensibilidade em baixos níveis de exposição, (2) conseqüentemente, não há sempre uma relação direta e estreita entre o grau de inibição e a ocorrência de sintomas do sistema nervoso central, (3) devido a uma considerável variabilidade interindividual nos valores de referência, é prudente comparar o valor obtido em situação de pós-exposição com o valor de referência individual, em situação de pré-exposição e (4) na ausência de medições pré-exposição, medições em pós-exposição, em diferentes períodos, deverão ser obtidos.

3.2.2 Dialquilfosfatos urinários

A determinação de produtos de biotransformação dos OF, em amostras de urina, é uma ferramenta útil e apropriada na obtenção de informações, tanto no que se refere à exposição ocupacional, quanto ambiental, uma vez que reflete exposição por todas as vias de exposição e os estudos têm relatado associações entre o aparecimento de efeitos tóxicos e o aumento dos níveis de DAPs urinários (APREA et al., 1996; COCKER et al., 2002; WU et al., 2010; TSATSAKIS et al., 2010; KOUREAS et al., 2012; SANTOS, 2012; HUEN et al., 2012). Os DAPs não são específicos para um único OF (MARGARITI; TSATSAKI, 2009) e, sim, refletem a exposição recente para cerca de 85% dos OF (COCKER et al., 2002; KRIEGER et al., 2012).

Os resultados desses bioindicadores devem ser expressos em função da excreção de creatinina, uma vez que a amostra de urina é coletada de forma isolada, no pré-exposição ou no pós-exposição (LEITE, 2016). O estudo de Garfitti et al. (2002) mostrou que os DAPs são excretados de forma correlacionada à creatinina, o que demonstra a validade dessa correção. Esse mesmo estudo demonstrou que o horário de coleta da amostra deve ser o final da jornada de trabalho, devido a meia-vida curta desses compostos. Vários estudos aplicam esses bioindicadores em diferentes populações, conforme demonstrado na Tabela 1, da forma total (DAPs totais) ou cada metabólito específico, dependendo do OF avaliado no estudo.

Tabela 1 - Características dos estudos que avaliam os DAPs como bioindicadores da exposição aos OF.

(continua)

Referências	Metabólito detectado	Tipo de exposição	Via de exposição	População estudada ou amostras analisadas	OF	Observações
HUEN, 2012	DAPs	Crônica	Oral, dérmica e pulmonar	Cordão umbilical e sangue materno	Clorpirifós e diazinon	99% positivo
SANTOS, 2012	DETP e DEDTP	Aguda	Intraperitoneal	Ratos	Dissulfoton	Correlação linear dose e excreção dos DAP
GRIFFITH et al., 2011	DAPs	Crônica	Oral e dérmica	Criança comunidade rural		Grandes variações
REEMTSSMA et al., 2011	DEP e DETP	Crônica	Oral, dérmica e pulmonar	População geral		Análise de nove DAPs
WU et al., 2010	DMTP e DEDTP	Crônica	Oral, dérmica e pulmonar	População geral		100% positivo
TIMCHALK et al., 2007	DEP e DETP (pico 3 h); DEP e DETP (pico 12 h)	Aguda	Oral	Ratos	Clorpirifós	Farmacocinética semelhante entre ratos e humanos

Tabela 1 - Características dos estudos que avaliam os DAPs como bioindicadores da exposição aos OF.

(conclusão)

Referências	Metabólito detectado	Tipo de exposição	Via de exposição	População estudada ou amostras analisadas	OF	Observações
COCKER et al., 2002	DAPs	Crônica	Oral, dérmica e pulmonar	Ocupacional	Vários	Concentração média do grupo exposto, 33 $\mu\text{mol/mol}$ creat.; não exposto, 22 $\mu\text{mol/mol}$ creat.
GARFITTI et al., 2002	DAPs (pico 14 h e detecção até 46 h)	Aguda	Oral e dérmica	Adultos voluntários	Diazinon	Meia-vida: via oral 2 h e dérmica, 9 h
APREA, 1996	DMTP, DMP, DMDTP, DEP, DETP e DEDTP	Crônica	Oral, dérmica e pulmonar	População geral		Altamente positivo DAPs
MOUNT, 1984	DMDTP	Aguda	Oral	Cabras	Imidan	Presença de DAP no leite

Nota: Organofosforados (OF); creatinina (creat.); Dialquilfosfato (DAPs); Dietiltiofosfato (DETP); Dietilditiofosfato (DEDTP); Dietilfosfato (DEP); Dimetiltiofosfato (DMTP); Dimetilfosfato (DMP); Dimetilditiofosfato (DMDTP).

3.2.3 Bioindicadores de Genotoxicidade

Os carcinógenos químicos podem acelerar ou aumentar o aparecimento de mutações no DNA, sendo esse um dos processos pelo qual há a iniciação na formação de tumores. Os OF, como já mencionado, são indutores de estresse oxidativo, podendo levar a danos ao DNA e interrompendo seus mecanismos de reparo (BOLOGNESI, 2003; MUNIZ et al., 2008; BENEDETTI et al., 2013). Podem ser detectadas quebras de fita simples e dupla do DNA no ensaio de cometa, e quebras cromossômicas no ensaio do citoma que podem gerar instabilidade genômica que pode contribuir para a mutagênese e carcinogênese (SANTOS, 2012).

Assim, indicadores biológicos de efeito genotóxico são importantes ferramentas aplicadas no monitoramento biológico e nos programas de vigilância à saúde, uma vez que permitem avaliar os riscos químicos ocupacionais (HERNÁNDEZ et al., 2005; VALVERDE; ROJAS, 2009; BENEDETTI et al., 2013).

Vários estudos empregam, para a avaliação do efeito genotóxico dos OF, em indivíduos expostos ocupacionalmente, o ensaio do citoma, presença de troca de cromátides irmãs, de aberrações cromossômicas, de micronúcleo (MN), o ensaio do cometa e a determinação de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina, em urina, e de peróxidos lipídicos, em sangue, sendo esses dois últimos considerados marcadores de estresse oxidativo (GÓMEZ-ARROYO et al., 2000; SHADNIA et al., 2005; SAILAJA, 2006; PIPERAKIS et al., 2006; MCCAULEY et al., 2008; MUNIZ, 2008; BOLOGNESI, 2009; MARTÍNEZ-VALENZUELA, 2009; SINGH, 2011a; SINGH, 2012; BENEDETTI, 2013; KAUSAR et al., 2014; ZELJEZIC et al., 2015).

Tanto os trabalhadores rurais quanto a população em geral estão expostos por longos períodos à mistura de praguicidas e de substâncias genotóxicas. Sendo assim, esses bioindicadores, isoladamente, bem como os testes *in vitro*, com substâncias específicas, não permitem avaliar o risco real de mutações correlacionadas à exposição ocupacional (SCARPATO et al., 1996). A literatura sobre biomonitoramento de indivíduos expostos a praguicidas têm demonstrado a presença de alterações nos ensaios do citoma e do cometa, em relação às populações não-expostas. No entanto, ao comparar esses resultados, há que se considerar vários fatores que podem influenciar no estudo, tais como as diferenças nos períodos de aplicação, nos níveis de exposição, nos tipos de praguicidas, nas misturas utilizados no campo e nas características geográficas e meteorológicas, das áreas agrícolas (MARTÍNEZ-VALENZUELA et al., 2009).

O ensaio de MN tornou-se um dos métodos mais utilizados para medição de alterações cromossômicas numéricas e estruturais e também efeitos aneugênicos e clastrogênicos em células humanas *in vitro* e *in vivo* na avaliação da genotoxicidade de substâncias químicas (KIRSCH-VOLDERS et al., 2014; FENECH, 2003a; FENECH et al., 2003b). Em vista disso, o guia da *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) foi criado para estabelecer procedimentos padronizados para realização desse ensaio (OECD, 2004).

Células provenientes da mucosa bucal são a primeira barreira na ingestão e inalação de xenobióticos e, devido à presença de enzimas, nessa cavidade, há probabilidade de biotransformação, levando à bioativação de substâncias químicas (HOLLAND et al., 2008). Portanto, as células epiteliais orais representam um sítio de destino preferido para o início de eventos genotóxicos, induzidos por agentes químicos. Uma vez que as células basais são renovadas dentro de uma a quatro semanas, a detecção de alterações nos parâmetros do ensaio do citoma, em mucosa oral, deve ser interpretado como resultado da exposição recente aos praguicidas (MARTÍNEZ-VALENZUELA et al., 2009; BONASSI et al., 2011; BENEDETTI et al., 2013). Esse tipo de amostra é uma alternativa importante, para a análise de MN, uma vez que estudos demonstram um aumento estatisticamente significativo dos seus níveis, em indivíduos expostos aos praguicidas, com possibilidade de uma coleta não-invasiva e sem riscos (HOLLAND et al., 2008; CELIK; CAVAS; ERGENE-GOZUKARA, 2003).

No ensaio do citoma, as outras alterações, que não o MN, são denominadas metanucleares e representam fenômenos celulares degenerativos e/ou adaptativos do tecido epitelial. A análise dessas alterações tem se mostrado efetiva, na avaliação do efeito genotóxico dos xenobióticos, visto que relaciona-se à morte celular. Destacam-se como alterações os marcadores para danos de DNA (MN e/ou brotos e pontes), defeitos de citocinese (células binucleadas), potencial proliferativo (frequência de células basais) e/ou morte celular (cromatina condensada, núcleo picnótico, células em cariorrexe e célula cariolítica) (BONASSI et al., 2011; BENEDETTI et al., 2013).

Os MN podem originar de fragmentos acêntricos (fragmentos de cromossomos com a falta de centrômero) ou cromossomos inteiros, que são incapazes de migrar com o resto dos cromossomos, durante a anáfase na divisão celular, tendo assim o potencial para detectar a atividade de agentes clastrogênicos e aneugênicos. Os MN aparecem como pequenos grânulos extranucleares que contêm esses elementos fragmentados (ou não) de cromossomos não incluídos em nenhum dos núcleos das células filhas durante a anáfase (KIRSCH-VOLDERS, 1997; PARRY; SORRS, 1993).

Ostling e Johanson, em 1984, desenvolveram uma técnica de eletroforese em microgel conhecida como ensaio do cometa. Várias versões desse ensaio foram desenvolvidas, dentre elas a introduzida por Singh et al. (1988), que utilizaram eletroforese alcalina ($\text{pH} > 13$). A partir dessa modificação, foi possível detectar quebras de DNA de cadeia simples, locais alcalinos instáveis, ligações cruzadas e sítios de reparo de DNA incompletos, em células individuais. O emprego deste ensaio vem crescendo no monitoramento da exposição ocupacional e ambiental, o que pode ser explicado por sua maior sensibilidade, utilização de pequeno volume de amostra e aplicação em diferentes tipos de células (ANGERER et al., 2007; VALVERDE; ROJAS, 2009; ALBERTINI et al., 2000).

Há, no meio científico, uma discussão sobre parâmetros apropriados e métodos estatísticos para a análise de danos no DNA, segundo Burlinson et al. (2007). Valverde e Rojas, (2009), em uma revisão sobre biomonitoramento empregando ensaio do cometa, destacam como os parâmetros mais utilizados para análise e comparação de resultados o momento da cauda – *Tail moment* (TM) e a porcentagem de DNA na cauda, e como testes estatísticos o *Mann-Whitney* e *Kruskal-Wallis*, para a verificação de possíveis associações.

A Tabela 2 apresenta características dos ensaios de genotoxicidade na avaliação de populações expostas a praguicidas.

Tabela 2 - Características dos ensaios de genotoxicidade em estudos encontrados na literatura, de 1993 a 2016.

(continua)

Referências	Tipo de parâmetro avaliado	Amostra avaliada	Tipo de população	Resultado em exposição aos OF	OF
BENEDETTI, 2013	Cometa Citoma	Linfócito de sangue periférico; mucosa bucal	Trabalhador rural	Maior TM maior número de MN	Vários
SANTOS, 2012	MN	Eritroblásto policromático	Ratos	Maior número de MN	Dissulfoton
SINGH, 2012	Cometa	Linfócito de sangue periférico	Trabalhador rural	Maior cauda	Vários
SINGH, 2011a	Cometa	Linfócito de sangue periférico	Trabalhador rural	Maior cauda	Vários
MARTINEZ- VALENZUELA, 2009	Cromátides irmãs, MN	Mucosa bucal	Trabalhador rural	Alterações; maior número de MN	Vários
MCCAULEY et al., 2008	Cometa	Linfócito de sangue periférico	Trabalhador rural	Maior cauda	Vários
MUNIZ, 2008	Cometa	Linfócito de sangue periférico	Rato	Maior cauda	Vários

Tabela 2 - Características dos ensaios de genotoxicidade em estudos encontrados na literatura, de 1993 à 2016.

Referências	Tipo de parâmetro avaliado	Amostra avaliada	Tipo de população	(conclusão)	
				Resultado em exposição aos OF	OF
SAILAJA, 2006	Cometa MN Aber. Crom.	Linfócito de sangue, Mucosa bucal	Trabalhador; indústria de síntese	Maior número de MN	Vários
GÓMEZ- ARROYO, 2000	Cometa MN cromátides irmãs	Linfócito de sangue, Mucosa bucal	Floristas	Aumento em todos os ensaios	Vários
CICCHETTI et al., 1999	MN	Eritroblásto policromático	Ratos	Maior número de MN	Malation
TITENKO- HOLLAND, 1997	MN	Linfócito de sangue periférico <i>in vitro e in vivo</i>	Trabalhador rural	<i>In vitro</i> maior número de MN	Malation
BHUNYA e JENA, 1993	MN	Sangue de medula óssea e periférico	Pintos	Maior número de MN	Monocrotofós

Nota: Organofosforados (OF); *Tail moment* (TM), Micronúcleos (MN), Aberrações Cromossômicas (Aber. Crom).

3.2.4 Análise polimórfica

A análise polimórfica de enzimas que metabolizam xenobióticos pode ser empregada no biomonitoramento da exposição ocupacional aos agentes químicos, como um bioindicador de suscetibilidade, uma vez que variantes alélicas podem alterar a biotransformação dos seus substratos, levando a uma rápida excreção ou à bioacumulação de agentes químicos (SINGH, 2011a).

Ainda, no cenário atual, alguns poucos estudos têm explorado a análise de polimorfismo genético de enzimas que metabolizam os OF e a sua correlação com os outros bioindicadores de exposição (SINGH, 2011a; ABHISHEK et al., 2010; DA SILVA et al., 2008; LIU et al., 2006; ROHR et al., 2011; WONG et al., 2008). Estudos têm mostrado que alguns genótipos de CYP3A5, GSTP1 (LIU et al., 2006), GSTT1 (ABHISHEK et al., 2010) e PON1 QQ e MM (SINGH et al., 2011b) estão associados ao aumento de danos ao DNA. Lacasanã et al. (2010), demonstraram relação entre a presença de polimorfismo da PON e alterações nos níveis de hormônios tireoidianos.

Os genótipos que podem estar envolvidos no polimorfismo de enzimas metabolizadoras de OF são CYP1A1, CYP3A5, CYP2C9, CYP2D6, PON1, GSTM1, GSTT1 e NAT2 (SINGH et al., 2012; SINGH, 2011a). O CYP1A1 é um importante metabolizador, de fase I, para vários xenobióticos. Ele pode contribuir para a formação de intermediários tóxicos e formação de compostos eletrofílicos, responsáveis por carcinogênese, sendo que três variantes alélicas, m1, m2 e m4, desta CYP, são conhecidas por causarem variações na atividade enzimática e possibilitar alterações na biotransformação de substâncias químicas (SINGH, 2011a).

O CYP3A5 representa mais de 50% do total do citocromo P450 hepático e é, também, responsável pela biotransformação dos OF. Um polimorfismo A44G, na região promotora do pseudogene CYP3AP1, tem mostrado estar ligado a um defeito no CYP3A5, resultando na ausência dessa enzima em tecidos (SINGH, 2011a). A enzima CYP2D6 também metaboliza vários OF e seu polimorfismo pode levar a fenótipos variáveis quanto à velocidade de biotransformação dos seus substratos, sendo identificados metabolizadores rápidos, normais e lentos (SINGH, 2011a).

A PON1 é uma enzima associada a lipoproteína envolvida na detoxificação de OF, pela hidrólise da forma ativa oxon. O polimorfismo desse gene é responsável pela variação na expressão da atividade catalítica dessa enzima. No entanto, poucos dados clínicos e

epidemiológicos estão disponíveis para inferir a relação entre atividade da paraoxonase e toxicidade aos OF, em trabalhadores expostos aos praguicidas (SINGH et al., 2011a).

Em uma pesquisa conduzida com trabalhadores rurais expostos a praguicidas, foi verificado que todos os indivíduos apresentaram maiores índice e frequência de danos ao DNA, com aumento da cauda no ensaio do cometa, em comparação com o grupo controle e, além disso, a deleção do gene GSTT1 e deleções simultâneas nos genes GSTM1 e GSTT1 mostraram danos crescentes de DNA no grupo exposto (ABHISHEK et al., 2010).

Em um estudo conduzido no Brasil, em trabalhadores de cultura de uva, foi demonstrada elevada taxa de MN e danos ao DNA em voluntários que apresentaram polimorfismos genéticos para a PON e CYP2E1 (DA SILVA et al., 2008).

A enzima CYP2C9 é responsável por 20% do citocromo P450 hepático, em humanos, e também metaboliza os OF. Seng et al. (2003), mostraram que o polimorfismo desta enzima é em um único nucleotídeo, sendo identificados seis mutantes diferentes, sendo os alelos CYP2C9*2 e CYP2C9*3, os mutantes mais frequentemente identificados. Esses reduzem significativamente a atividade enzimática, o que levaria ao acúmulo de substâncias químicas inalteradas nos organismos expostos, tais como aqueles com o grupo oxon, de alta toxicidade e com capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio (SINGH, 2011a). O polimorfismo da CYP2C9 pode resultar em efeitos clínicos alterados e o alelo CYP2C9*3/*3 tem redução substancial na atividade enzimática com alterações cinéticas e clínicas (SINGH, 2011b). A presença desse alelo e de mutantes da enzima *N*-acetiltransferase está relacionada aos ensaios de genotoxicidade, em indivíduos expostos a praguicidas, segundo Singh (2012).

3.3 AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE E AVALIAÇÃO CLÍNICA

A Constituição Brasileira de 1988 estabeleceu a saúde como direito de cidadania e dever do Estado, garantindo ao cidadão o atendimento de suas necessidades por meio de serviços de qualidade. Não obstante, o que se tem observado anos após a consolidação do direito universal à saúde no Brasil, é que a equidade e a integralidade do cuidado permanecem como grandes desafios. A equidade no acesso, por exemplo, vem sendo apontada há décadas como um importante componente da qualidade da assistência à saúde que merece especial atenção (BARBIANI et al., 2014).

É também reconhecido o fato de que as regiões rurais do país têm menor oferta de serviços de saúde, maior dificuldade de acesso geográfico e menor qualidade na atenção prestada, que se traduzem em uma disparidade entre serviços de saúde ofertados e buscados nas áreas urbana e rural. No meio rural a procura por atendimento é quase que em sua totalidade devido à percepção de alguma doença (KASSOUF, 2005). Ou seja, à população rural disponibilizam-se serviços de saúde pautados na demanda e não na oferta organizada em função de suas necessidades supostas ou percebidas. Ademais, no Sul de Minas Gerais, assim como em outras regiões do país, intoxicações crônicas e agudas por uso de praguicidas têm sido subnotificadas (FARIA et al., 2007).

Outro aspecto relevante a ser focado é a histórica negligência com relação à associação entre o mundo do trabalho e o processo saúde-doença. Embora a primeira obra publicada sobre doenças ocupacionais date de 1.700 d.C., foi na pós-modernidade, com o advento da revolução industrial, que a saúde do trabalhador passou a ser objeto de estudo e atenção médica, não por uma preocupação essencial e primordial com este grupo populacional, mas por questões de ordem econômica e interesse capitalista. A Revolução Industrial trouxe à medicina o desafio de manter e melhorar a força de trabalho (PIGNATI et al., 2013).

Desde a Conferência de Alma-Ata, em 1978, que a APS vem sendo apontada como pilar central dos sistemas nacionais de saúde. De acordo com a Política Nacional de Atenção Básica, a APS e Atenção Básica são tomadas como sinônimos tendo como conceito "conjunto de ações para a saúde, a nível individual e coletivo, que consiste de promoção de saúde e proteção, prevenção de complicações, diagnóstico, tratamento, reabilitação, redução de danos e manutenção da saúde com o objetivo de desenvolver um cuidado integrado que gera um impacto sobre a saúde e a autonomia das pessoas e dos determinantes e condicionantes de saúde nas comunidades" (PAULA et al., 2016). Em linhas gerais, a APS apresenta quatro atributos fundamentais – o acesso de primeiro contato, a integralidade, a longitudinalidade, a coordenação do cuidado – e três atributos derivados – orientação familiar, orientação comunitária e competência cultural (CASTRO et al., 2012). E desde o início do século XXI que se tem apontado, no Brasil, para a criação de uma rede poliárquica de atenção à saúde, vinculando serviços entre si, com atuação cooperativa e interdependente, coordenada pela APS (MENDES, 2010).

A avaliação dos atributos da APS permite verificar a efetividade da atenção sobre a saúde da população. Ademais, avolumam-se evidências da crescente associação entre melhores desfechos de saúde e maior presença e extensão dos atributos da APS (HARZHEIM et al., 2006). Para avaliar a extensão dos atributos da APS foi desenvolvido por John Hopkin et al.,

uma ferramenta auto-aplicável chamada “Primary Care Assessment Tool” (PCATool) (ANEXO A), que permite medir os atributos de APS sendo baseado no modelo de avaliação da qualidade dos serviços de saúde introduzida por Donabedian, que usa a tríade estrutura, processo e resultado (STARFIELD, 2002; BRASIL, 2010). Mesmo com a disponibilidade de outras ferramentas para avaliar a APS, o PCATool foi considerado como o mais abrangente e adequado para medir os atributos necessários para a APS e esta ferramenta tem versões adaptadas e validadas para a realidade brasileira (PAULA et al., 2016).

Deste modo, o presente trabalho de pesquisa teve seu foco em duas importantes, porém negligenciadas questões de saúde pública, a saber: a avaliação diagnóstica do acesso e qualidade dos serviços de atenção primária ofertados a uma população rural e os riscos ocupacionais e condições de saúde desta mesma população.

A avaliação clínica de trabalhadores rurais foi realizada em poucos trabalhos, sendo designado como importante ferramenta associada aos bioindicadores no estabelecimento da saúde destes trabalhadores. As relações entre os sinais e sintomas clínicos e bioindicadores de dose interna e efeitos tóxicos precoces são narrados serem essenciais para avaliar a exposição a praguicidas, assim como, bioindicadores de efeito e toxicidade crônica e suscetibilidade (HE, 1999; STORM; ROZMAN; DOULL, 2000; COCKER, 2002; KOUREAS et al., 2012).

4 EXPERIMENTAL

O capítulo “Método” abrange o desenho do estudo, bem como todos os reagentes e métodos empregados.

4.1 TIPO DE ESTUDO, AMOSTRAGEM E QUESTÕES ÉTICAS

Trata-se de um estudo do tipo transversal de base populacional e natureza avaliativa. Para melhorar o planejamento e gerenciamento dos sistemas de saúde, o SUS adotou a regionalização como estratégia para estender estes serviços a uma maior parcela da população. Assim, o estado de Minas Gerais encontra-se dividido em Superintendências Regionais de Saúde e Gerências Regionais de Saúde sendo em número de vinte e oito, dentre elas, a Regional de Saúde de Alfenas que é constituída por 26 municípios. Segundo dados do IBGE, em 2010 (BRASIL, 2012), essa regional possuía uma população de 66266 moradores rurais em idade produtiva, sendo 28837 mulheres, entre 18 e 60 anos, e 37429 homens, entre 18 e 65 anos, sendo a população em estudo amostrada, aleatoriamente, proveniente desse universo, adotando-se margem de erro máximo de 3%. Para um estudo com proporções o tamanho da amostra foi definido pela seguinte equação 1 (MEDRONHO et al., 2009):

$$erro = Z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}} \quad n \cong \frac{1}{erro^2} \quad (1)$$

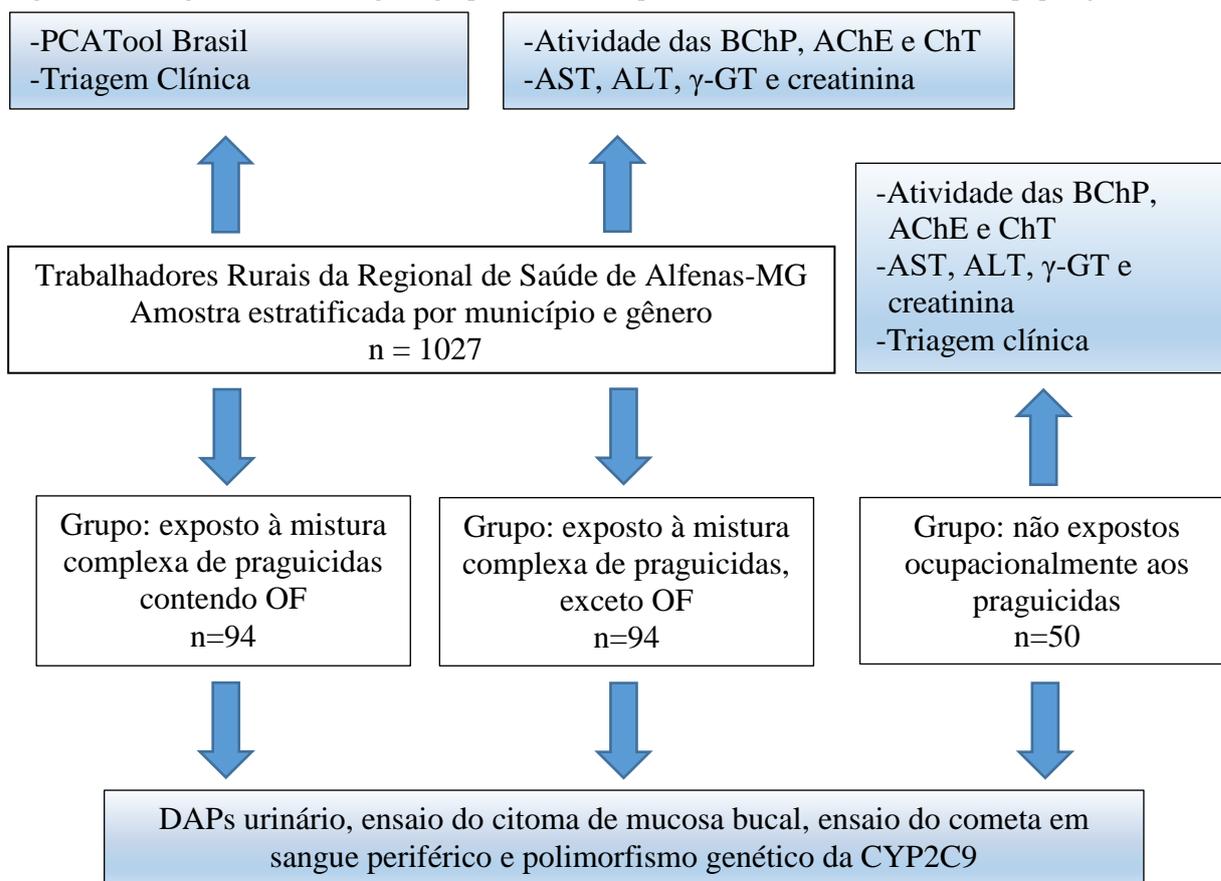
Assim, o tamanho da amostra calculada foi de 1038 pessoas, dentre elas 519 homens e 519 mulheres. Uma vez determinado o tamanho da amostra, realizou-se uma amostragem estratificada das microrregiões de Alfenas e Guaxupé, em função do número de municípios a cada um deles pertencentes, perfazendo um total de 26 setores. O tamanho da amostra em cada setor foi determinado proporcionalmente ao número de população residente em zona rural em idade produtiva por município. O sorteio de cada unidade amostral (entrevista) dentro de cada município foi realizado de maneira aleatória, partindo-se da listagem de comunidades rurais, obtidos nas Secretarias Municipais de Fazenda e Planejamento. Após definição dos pontos geográficos a serem visitados, proceder-se a divisão do número de homens e mulheres a serem

entrevistados em cada setor. A população final do estudo foi constituída por 1027 sujeitos de pesquisa, pois em um dos setores, após um ano e meio de tentativas frustradas junto a diferentes instâncias não se obteve cooperação para a identificação e seleção dos sujeitos de pesquisa tendo um déficit de onze sujeitos neste setor.

Deste universo amostral supracitado foram retirados dois grupos para estudo de comparação com os seguintes critérios e características: indivíduos expostos aos inseticidas OF dentro de 60 dias anteriores a pesquisa e segundo grupo, indivíduos não expostos por pelo menos 1 ano, aos inseticidas OF. Estes grupos de comparação no estudo foram denominados: expostos à mistura complexa de praguicidas, contendo OF (n = 94), expostos a misturas complexa de praguicidas, sem OF (n = 94) e não expostos ocupacionalmente aos praguicidas, moradores da zona urbana (n = 50). Na mistura complexa de praguicidas estão incluídas as classes dos compostos triazois, ditiocarbamatos, glifosato, carbamatos, piretroides e neonicotinoides, entre outras.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) (parecer nº 149718) e da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) (parecer nº 415856) e todos os voluntários assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, pós-informação. Na Figura 2, pode ser observada a divisão dos grupos de estudo e procedimentos realizados na população avaliada.

Figura 2 - Fluxograma de amostragem, grupos de estudo e procedimentos realizados em cada população estudada.



Fonte: Do Autor.

4.2 AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE E AVALIAÇÃO CLÍNICA

No universo total da amostra, foi realizada a análise do PACTool, avaliação clínica, determinação da atividade das Ch e avaliação laboratorial da função hepática e renal. As variáveis de exposição foram epidemiológicas de pessoa (sexo, idade etc.), sinais e sintomas clínicos auto-referidos, acesso e qualidade da rede de atenção à saúde.

O PCATool foi criado por Starfield et al. (2002) e validado no Brasil por Harzheim et al. (2006), recebendo o nome de PCATool-Brasil. Este instrumento mede a presença e a extensão dos atributos essenciais e derivados da APS, a partir da análise do grau de afiliação ao serviço, acesso de primeiro contato-utilização, acesso de primeiro contato-acessibilidade, longitudinalidade, coordenação-integração de cuidados, coordenação-sistema de informação, integralidade-serviços disponíveis, integralidade-serviços prestados, orientação familiar e orientação comunitária (PAULA et al, 2016).

A avaliação da APS foi feita em escala do tipo Likert, com intervalo de um a quatro para cada item. O grau de afiliação ao serviço de saúde é calculado em função de diferentes possibilidades de respostas às três perguntas iniciais, sendo considerado valor = 1 quando todas as respostas são “não”, valor = 2 quando ao menos uma resposta a essas mesmas perguntas é “sim”, ou embora mais de uma delas seja “sim”, mas os serviços aos quais se referem sejam diferentes; valor = 3 na presença de pelo menos duas respostas “sim” que se referem ao mesmo serviço e; valor = 4 quando todas as respostas são “sim” e se referem ao mesmo serviço. Já as respostas aos atributos da APS (do item B ao J) são “com certeza sim” (valor = 4), “provavelmente sim” (valor = 3), “provavelmente não” (valor = 2), “com certeza não” (valor = 1) e “não sei/não lembro” (valor = 9).

Para cálculo do escore dos atributos da APS, segundo Lima et al. (2015), recomenda-se a inversão dos valores de quatro itens do atributo “Acesso de Primeiro Contato – Acessibilidade” (C9, C10, C11 e C12) e de um item do atributo “Longitudinalidade” (D14), uma vez que quanto maior for o valor da resposta, menor será a orientação para APS. Em acréscimo, quando a soma de respostas em branco e respostas “não sei/não lembro” for inferior a 50% do total de itens de um componente, o valor “9” deverá ser interpretado como “2” (provavelmente não). Esta transformação é necessária para pontuar negativamente algumas características do serviço de saúde que não são conhecidas pelo entrevistado. Já quando a soma de respostas em branco e respostas “não sei/não lembro” atingir 50% ou mais do total de itens de um componente de B a J, o escore deste componente deverá ser considerado como “missing”

no banco de dados. Por essa razão alguns dos itens analisados nesta pesquisa não correspondem ao número total da amostra.

O cálculo dos escores para cada atributo da APS foi obtido a partir da média aritmética da pontuação total de cada conjunto de itens, tendo sido tomado como “Primeiro contato” a soma dos itens dos componentes B e C; Coordenação do cuidado, a soma dos itens dos componentes E e F; o escore essencial, correspondente à média obtida no grau de afiliação (A) e atributos essenciais (B a H); o escore dos atributos derivados (I e J) e; o escore geral, que corresponde ao valor médio do grau de afiliação, atributos essenciais e derivados. Os escores obtidos foram escalonados como alto (≥ 3) ou baixo (< 3), conforme proposto por Leão et al. (2011).

O instrumento utilizado para levantamento de dados epidemiológicos e clínicos dos trabalhadores rurais, foi obtido junto a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e modificado pelos pesquisadores no qual foi realizado o processo de Refinamento por Juízes e também um teste piloto com 50 trabalhadores rurais do município de Alfenas-MG (APÊNDICE A). Mediante estas intervenções foram realizadas mudanças e inserido questões neste instrumento para melhor avaliação clínica e coleta dos dados de exposição. A aplicação do instrumento e avaliação clínica foram realizados por médicos e uma equipe de aplicadores treinados para tal finalidade. O PCATool-Brasil versão adulto, foi validada e disponibilizada para pesquisadores brasileiros pelo Ministério da Saúde (MS) (BRASIL, 2010).

4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DAS COLINESTERASES

Para a determinação da atividade das Ch, empregou-se o método desenvolvido por Ellman et al. (1961) e modificado por Harlin e Ross (1990), o qual baseia-se na medida colorimétrica da velocidade de hidrólise da acetiltiocolina (Sigma-Aldrich[®]) pelas Ch sanguíneas. A tiocolina liberada reage com o ácido ditiobisnitrobenzoico (DTNB) (Sigma-Aldrich[®]) liberando um composto de cor amarela que é quantificado espectrofotometricamente em comprimento de onda de 430 nm. A variação de absorbância por minuto é diretamente proporcional à atividade enzimática, sendo os cálculos (equações 2, 3 e 4):

$$\% \text{ Atividade ChT} = \Delta \text{Abv} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{ Atividade BChP} = \Delta \text{Abv} \times 25 \quad (3)$$

$$\% \text{ Atividade AChE} = \frac{100}{\text{Ht}} \times \text{ChT} - \text{BChP} \left(\frac{1 - \text{Ht}}{100} \right), \text{ onde Ht} = \text{hematócrito} \quad (4)$$

A determinação da atividade das Ch foi realizada no universo total amostral (n = 1027), em sangue coletado em tubo com heparina, Laboratório de Análises Toxicológicas da UNIFENAS.

4.4 AVALIAÇÃO DAS FUNÇÕES HEPÁTICA E RENAL

Para a avaliação da função hepática foram realizadas as determinações da atividade das enzimas AST, ALT e γ -GT, por meio de kits da marca Labtest[®] e para a avaliação da função renal, utilizou-se a determinação da creatinina sérica por meio de kit, da marca Labtest[®], em todos os trabalhadores participantes da pesquisa (n = 1027). A amostra de soro foi coletada em sistema de vácuo. Estes exames foram realizados no Laboratório Central de Análises Clínicas, da UNIFAL-MG.

4.5 DETERMINAÇÃO DE DAPS URINÁRIOS

O preparo de amostra de urina foi realizado empregando extração em fase sólida (SPE), em cartuchos da marca Supelco[®], do tipo Supelclean[™] LC-Sax SPE, para os analitos DETP (Sigma-Aldrich[®]) e DEDTP (Sigma-Aldrich[®]). A urina foi acidificada com ácido clorídrico (Vetec[®]) 0,1 mol L⁻¹ até pH 4. O condicionamento do cartucho foi feito com 2 mL de metanol (Vetec[®]), 2 ml de água ultrapurificada (Milli-Q[®]) e 2 ml de acetonitrila (Vetec[®]), em seguida 2 mL de urina foram percolados sobre a fase. A lavagem foi realizada com 2 ml de *n*-hexano (Vetec[®]) e a eluição com 3 mL de solução de metanol: cloreto de sódio (Vetec[®]) a 1% (2:1 v/v). O eluato foi evaporado em banho de água a 55°C sob corrente de nitrogênio (N₂). Na sequência,

a derivatização foi feita com pentafluorobenzil brometo (PFBBr) (Sigma-Aldrich[®]) conforme desenvolvido por Silvério et al. (2015). O derivatizado foi evaporado sob corrente de nitrogênio e ressuspensão em 75 µL de tolueno (Vetec[®]), que foram submetidos à análise por GC-MS nas condições especificadas por Santos (2012). Estes procedimentos foram realizados no Laboratório de Análises de Toxicantes e Fármacos, da UNIFAL-MG.

4.6 ENSAIO DO CITOMA

Para a obtenção das células da mucosa bucal foi utilizado um *swab*, para coleta no interior das bochechas, dos lados direito e esquerdo, que foi imerso em 5 mL de solução de NaCl (Sigma-Aldrich[®]) 0,9% em tubo, do tipo Falcon. O ensaio do citoma foi realizado como descrito por Benedetti et al. (2013). Resumidamente, a solução foi centrifugada a 68 força gravitacional por 8 minutos, em seguida, desprezou-se o sobrenadante. Posteriormente, ressuspendeu-se o *pellet* de células com solução salina, sendo esse procedimento realizado duas vezes. As células foram lavadas com fixador de Carnoy's (solução de ácido acético (Vetec[®]): metanol (Vetec[®]), 1:3 v/v), sob as mesmas condições de centrifugação. A solução fixadora foi então descartada, deixando-se 1 mL no tubo, com posterior agitação, para a ressuspensão do *pellet* de células. A seguir, foi colocada uma gota desse *pellet* em cada extremidade da lâmina, deixando secar. Foram confeccionadas três lâminas, sendo uma para armazenamento. As lâminas foram coradas com laranja de acridina (Sigma-Aldrich[®]) 2%, durante 5 minutos, enxaguadas em água destilada, durante 2 minutos e cobertas com lamínula. A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência, da marca Nikon[®] Eclipse 50i. Para cada indivíduo, a frequência dos vários tipos de células no ensaio é representada como o número de células em um total de 2000 analisadas, como sugerido por Thomas et al. (2008) e Benedetti et al. (2013). Para cada voluntário, 2000 células bucais foram analisadas (1000 células em cada lâmina) sob uma ampliação de 1000 x. Os parâmetros do citoma analisados foram MN, broto, células binucleadas, cromatina condensada, núcleo picnótico e células em cariorrexe e cariólíticas. Este ensaio foi realizado no laboratório de Análises Nutricionais e Toxicológicas *in vivo*, da UNIFAL-MG.

4.7 ENSAIO DO COMETA

As análises foram realizadas de acordo com Collins et al. (2008). O guia da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico, para testes de substâncias químicas (OECD, 2014) apresenta protocolos para diferentes tipos de amostras. Uma alíquota de 15 μL de sangue total recém-coletado foi adicionada a 135 μL de solução de agarose 0,5%, de baixo ponto de fusão (LMP) (Invitrogen[®]), e essa mistura foi distribuída em duas lâminas. As lâminas foram cobertas com lamínulas e levadas à geladeira, por cerca de 40 minutos, ou até que estivessem gelatinizadas. A seguir as lamínulas foram retiradas e as lâminas foram submersas em solução de lise por 36 horas (NaCl 2,5 mol L^{-1} , EDTA 100 mmol L^{-1} , Tris 10 mmol L^{-1} , DMSO 10%, Triton X-100 1%, pH 10, todos reagentes da marca Sigma-Aldrich[®]). Após o tratamento, as lâminas foram estabilizadas em solução tampão gelada (NaOH 300 mmol L^{-1} , EDTA 1 mmol L^{-1} , pH >13, todos da marca Sigma-Aldrich[®]) durante 20 minutos. A seguir, foi realizada a eletroforese por 20 minutos (25 V, 300 mA e 30 W) sendo a cuba colocada em banho de gelo. Após a corrida, as células foram neutralizadas com solução tampão Tris (0,4 mol L^{-1} , pH 7,5) (Sigma-Aldrich[®]) ao abrigo da luz, a 4°C, durante 20 minutos e, após esse tempo, as lâminas foram colocadas para secar à temperatura ambiente. Após a secagem completa, essas foram fixadas em etanol 99% (Vetec[®]), por 5 minutos e armazenadas para posterior análise em microscopia de fluorescência. Foram analisadas em número de 150 células por voluntário, selecionadas aleatoriamente (75 células em cada lâmina), coradas com GelRed[™] (Biotium[®]) (1:10000).

As leituras das lâminas foram realizadas em microscópio de fluorescência (Nikon[®] Eclipse 50i), utilizando filtro verde, com ampliação de 400 x. O software de captura de dados utilizado foi o Nis Element (Nikon[®]). Para a leitura e análise dos dados foi utilizado o software CometScore (versão 1.5). O TM, que é a razão do comprimento da cauda pela fração de DNA na cauda, foi o parâmetro escolhido para a comparação dos resultados dos diferentes grupos. Os ensaios foram realizados no laboratório de Análises Nutricionais e Toxicológicas *in vivo*, da UNIFAL-MG.

4.8 ANÁLISE POLIMÓRFICA

Para cada indivíduo, a amostra de sangue foi coletada em sistema de vácuo, em tubo contendo EDTA. O DNA genômico do sangue total foi extraído por procedimento padrão usando o PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen®, Cat. # K1820-01) e armazenado a -20 °C até a análise.

A genotipagem de CYP2C9 foi realizada usando o método *polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism* (PCR-RFLP). Todas as amplificações de *polymerase chain reaction* (PCR) foram realizadas em termociclador (Veriti® ThermalCycler, AppliedBiosystems®). Os *amplicons* e seus produtos digeridos (Termomixer digital, EppendorfThermoStatplus, Cat. # 5352000010, BioResearch do Brasil Instrumentação Científica Ltda.) foram submetidos aos procedimentos de eletroforese (E-Gel iBase® e E-Gel Safe Imager® Combo Kit, Invitrogen®, Cat # G6465) em gel de agarose 2% (E-Gel® 2% com SYBR Safe®, Invitrogen®, Cat. # G6206-02) e corados com SYBR® Green e submetidos à captação de imagem (E-Gel® Imager System with UV Light Base, Life Technologies, Cat. # 4466611, E-Gel Imager Blue Light Base, Life Technologies, Cat. # 4466603). Os *primers* utilizados, as condições de PCR, segundo a literatura consultada, encontram-se na Tabela 3. O teste para determinação das variantes polimórficas enzimáticas foi realizado no laboratório de Farmacogenética e Biologia Molecular, da UNIFENAS.

A genotipagem de alelos CYP2C9 foi realizado como descrito por Seng et al. (2003) e Singh et al. (2011) com algumas modificações. Em cada reação, molde de DNA foi amplificado utilizando iniciadores específicos para CYP2C9 exon 3 ou 7 do gene de CYP2C9. Os produtos de PCR amplificados foram então digeridos com Eco471 (Thermo scientific®) para CYP2C9*2 e KpnI (Thermo scientific®) para CYP2C9*3, o que resultou em fragmentos resumidos na Tabela 3. Os alelos foram genotipados CYP2C9*1 ou CYP2C9*3, a 375 pb produtos de PCR gerados usando 1F e 1R iniciadores e foram cortados por Eco471 em dois fragmentos de 296 pb e 79 pb, respectivamente. O alelo CYP2C9*2 foi resistente a clivagem e manteve-se em 375 pb. O produto de PCR gerado usando os iniciadores 2F e 2R foi 105 pb. Este foi o tamanho correto para alelos CYP2C9*1 e CYP2C9*2. O alelo CYP2C9*3 é passível de digestão pela KpnI em dois fragmentos de 85 pb e 20 pb.

Tabela 3 - *Primers* e condições de PCR-RFLP para análise polimórfica.

Variantes alélicas com <i>primer</i> iniciador	PCR-TC	ER	Pares de bases (BP)	Referências
CYP2C9*2	94 °C/5 min	Eco47I	AF: 375	Seng et al. (2003)
1F 5'-CAC TGG CTG AAA GAG CTA ACA GAG	35×94 °C, 60 s		CYP2C9*1: 296, 79	Singh et al. (2011)a
1R 5'-GTG ATA TGG AGT AGG GTC ACC CAC	65 °C, 60 s 72 °C, 60 s 72 °C/7 min		CYP2C9*3: 296, 79 CYP2C9*2: 375	
CYP2C9*3	94 °C/5 min	KpnI	AF: 105	Seng et al. (2003)
2F 5'-TGC ACG AGG TCC AGA GGT AC	35×94 °C, 45 s		CYP2C9*1: 105	Singh et al. (2011)a
2R 5'-ACA AAC TTA CCT TGG GAA TGA GA	57 °C, 45 s 72 °C, 45 s 72 °C/7 min		CYP2C9*2: 105 CYP2C9*3: 85, 20	

Nota: Reação em cadeia da polimerase-condições termociclagem (PCR-TC); Enzimas de restrição (ER).

4.9 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram analisados pelo programa SPSS[®], versão 17.0 para Windows[®], a partir do qual se realizaram as análises de frequências das variáveis categóricas e de medidas de posição e dispersão das variáveis quantitativas. As relações entre diferentes variáveis qualitativas foram determinadas pelo teste do Qui-quadrado, Exato de Fisher e teste *t*. Os testes de *Kruskal-Wallis* e *Mann-Whitney* foram utilizados para comparar os indicadores biológicos e teste do citoma. A correlação entre variáveis foi realizada pelo teste Correlação de Spearman. O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, os dados foram estatisticamente significantes para $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa com as respectivas discussões são apresentados neste capítulo.

5.1 AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE, AVALIAÇÃO CLÍNICA E DAS FUNÇÕES HEPÁTICA E RENAL E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DAS COLINESTERASES NA POPULAÇÃO TOTAL AVALIADA

A importância desta pesquisa na região sul de Minas Gerais está pautada no fato da agricultura ser atividade econômica tradicional e extensamente distribuída, sendo o estado de Minas Gerais o maior estado produtor de café do Brasil, respondendo por cerca de 50% da produção nacional e por 2/3 da produção total de café Arábica. A produção de Minas Gerais foi estimada em 25.155.308 sacas de café, na safra 2010. Nas regiões Sul e Centro-Oeste do estado encontram-se a maior parte do parque cafeeiro de Minas Gerais, com uma área de 509.687 hectares em produção, de um total de 1.006.719 hectares (CONAB, 2010). Para a maioria das propriedades agrícolas desta região, as pragas que causam mais danos à lavoura cafeeira são a ferrugem (87%), seguida pela cercosporiose (60%) e pela phoma (40%), justificando, muitas vezes, o uso intensivo de praguicidas pela agricultura familiar (VILELA et al., 2010).

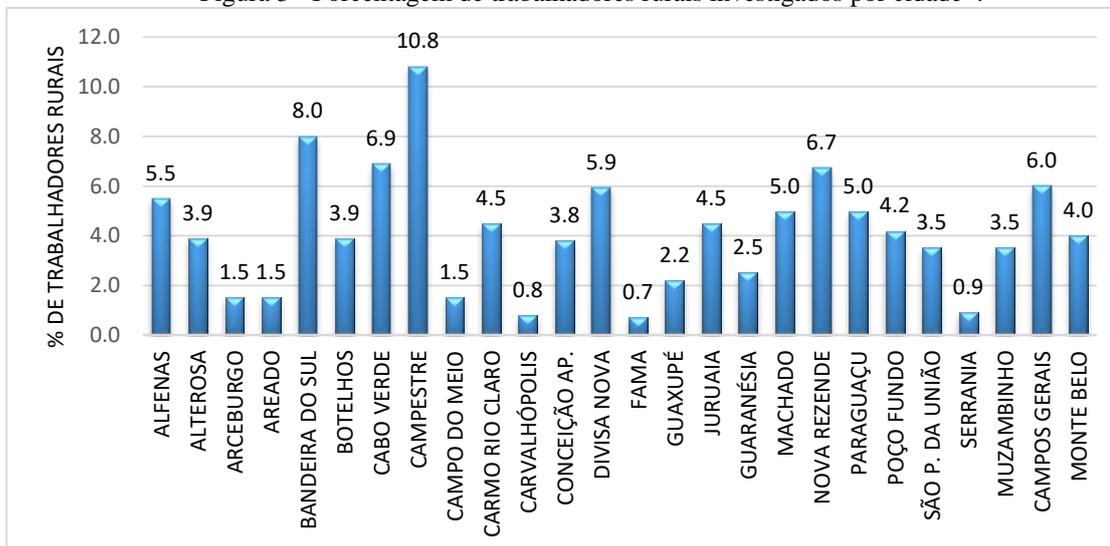
A Regional de Saúde de Alfenas é constituída por 26 municípios, cuja população rural desses foi amostrada (n = 1027) e analisada no PACTool Brasil, na avaliação clínica, nas funções hepática e renal e na determinação da atividade das Ch.

Na Figura 3 é demonstrada a divisão dos sujeitos da pesquisa, por cidade. De acordo com os cálculos estatísticos prévios, da amostragem aleatória estratificada por municípios, considerou-se a amostra representativa para os objetivos propostos, com 62% de voluntários sendo do sexo masculino, com idade média de 43,2 anos. Já, a idade média das mulheres foi de 40,8 anos. A agricultura familiar foi predominante em 74,3% dos relatos no questionário.

Após a avaliação das respostas dadas às perguntas no questionário, foi possível evidenciar que esses trabalhadores possuem escolaridade média de 5,6 anos para homens e 6,0 anos para mulheres. O contato intenso e prolongado com praguicidas foi constatado com uma

média de 17,4 anos, para os homens, e 16,8 anos, para as mulheres, sendo que 31% dos trabalhadores relataram ter mais do que 20 anos de exposição.

Figura 3 - Porcentagem de trabalhadores rurais investigados por cidade*.

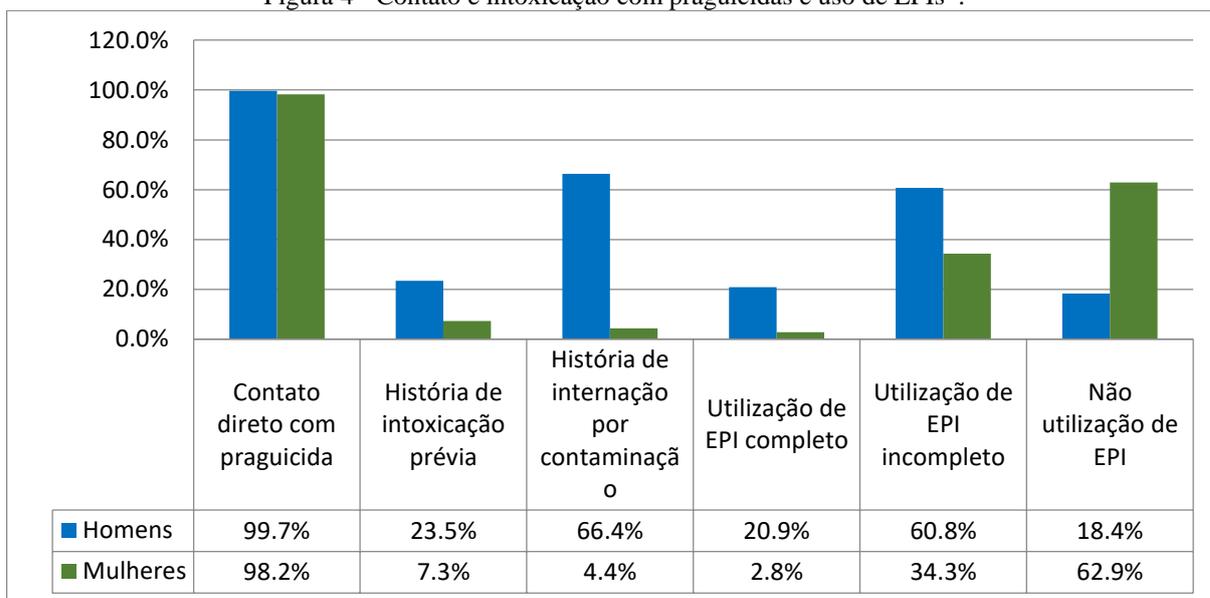


Fonte: Do Autor.

Nota: *Regional de Saúde de Alfenas-MG, ano de 2014-2015 (n = 1027).

Os homens relataram utilizar os equipamentos de proteção individual (EPIs), mais frequentemente, em relação às mulheres, que em sua maioria não os utilizam, embora a exposição seja similar em termos de tempo e frequência. Também é mais frequente a história de diagnóstico de intoxicação por praguicidas, levando a internações hospitalares, em homens. Estas diferenças são todas estatisticamente significativas quando comparado homens e mulheres (Teste exato de Fisher $p = 0,001$) (FIGURA 4). A exposição dos homens mostrou ser principalmente no preparo da calda e aplicação dos praguicidas; já as mulheres, na colheita do café e lavagem dos EPIs. Sendo o não uso destes equipamentos mais negligenciados pelas mulheres, e as intoxicações mais frequentes nos homens.

Figura 4 - Contato e intoxicação com praguicidas e uso de EPIs*.



Fonte: Do Autor.

Nota: *Regional de Saúde de Alfenas-MG, ano de 2014-2015 (n = 1027).

O uso do EPI é questionável quanto à sua eficiência e adequação, apesar de obrigatório pela legislação brasileira, conforme descrito na Norma Regulamentadora nº6 (NR-6) (BRASIL, 2001). A Organização Internacional do Trabalho, por sua vez, estabelece que os perigos e riscos à segurança e à saúde dos trabalhadores devem ser identificados e avaliados de forma contínua e que eliminar, controlar e minimizar os riscos e perigos deve ser prioridade, e que o uso de EPIs só são aceitos onde os riscos e perigos não podem ser evitados ou controlados. Oliveira e Machado Neto (2005), ao avaliarem a segurança do trabalho relacionada ao uso de EPIs na aplicação de agrotóxicos, constataram que o tipo e a forma de uso do EPI influenciam diretamente na possibilidade de exposição dos trabalhadores rurais e, ainda, que mesmo utilizando os EPIs recomendados, os trabalhadores rurais continuavam se contaminando, uma vez que os equipamentos recomendados não eram adequados. Inadequação e dificuldades no uso destes equipamentos, tais como desconforto térmico, peso, tamanho, embaçamento do visor, dentre outros, são os principais determinantes para inadequações e a resistência ao uso dos EPIs por parte de trabalhadores rurais (VEIGA et al., 2006).

Ademais, como os trabalhadores rurais não seguem as recomendações quanto à manutenção, lavagem, vestir/despirm, descarte, armazenagem dos EPIs, eles acabam por se tornar fonte adicional de risco (VEIGA et al., 2006, 2007). Em estudo conduzido por Baldi et al. (2006), foi demonstrada a ineficiência do EPI, quando utilizado de forma e tipo inadequados, alcançando o objetivo da proteção somente na fase de preparo do praguicida, corroborando os achados do presente trabalho.

Embora, a população do presente estudo, seja de certo modo composta por, principalmente, sujeitos autônomos em seu processo de trabalho, isto é, não subordinada às decisões de gestão dos proprietários do capital, que fornecem e controlam os EPIs, ela está do mesmo modo sujeita à lógica do mercado cafeicultor que força o uso de praguicidas nas lavouras. Conseqüentemente, esta população não tem acesso a orientações e exigências para o uso correto desses equipamentos, quando necessários. Associa-se a isso, o fato dos trabalhadores rurais do sul de Minas Gerais possuírem, em sua grande maioria, uma escolaridade restrita ao Ensino Fundamental I, que atrelada ao desconforto e comprometimento no desempenho das suas atividades, mediante o uso EPIs, pode estar influenciando sua adesão, levando até mesmo à rejeição de uso, observados na população estudada, que apresentou baixa escolaridade.

Em relação aos atributos da APS, pode-se observar na Tabela 4, que apenas o “Grau de afiliação” possui um escore elevado (≥ 3), bem como uma diferença estatisticamente significativa na avaliação que homens e mulheres fazem do atributo “Integralidade: ações de promoção e prevenção”. Outra questão a ser discutida é a procura por atendimento ser quase que em sua totalidade devido à percepção de alguma doença nesta população. Ou seja, para a população rural são disponibilizados serviços de saúde pautados na demanda e não na oferta organizada, em função de suas necessidades supostas ou percebidas.

Outro ponto importante é o horário de atendimento nas Estratégias Saúde da Família (ESFs) que nesta pesquisa mostrou ser o comercial, no qual coincide com o turno de trabalho, impossibilitando assim o acesso do agricultor aos profissionais de saúde.

Não foram encontrados na literatura trabalhos de avaliação da APS, em zona rural, não sendo assim possível comparações com outras Regionais de Saúde do país ou mundo. Paula et al. (2016), em uma revisão sobre APS empregando o PACTool, todavia em populações urbanas, relataram as mesmas observações do presente estudo, em relação ao acesso de primeiro contato e à abrangência dos serviços prestados, com escores de baixa pontuação. Quanto ao atributo longitudinalidade, esse foi bem avaliado, diferindo do encontrado no meio rural, nessa pesquisa.

Ao se levar em conta as evidências da associação entre a extensão dos atributos da APS e melhores desfechos de saúde, verifica-se que a simples presença de serviços não orientados à atenção primária não resultará em melhoria nas condições de vida e saúde da população, o que já foi discutido por Lima et al. (2008).

Entretanto, não só o modelo assistencial adotado pelo sistema de saúde de um país ou região influencia diretamente os níveis de saúde e a qualidade de vida de uma população, sendo tão importante também o grau de escolaridade da mesma. Em um estudo de *coorte* ($n = 18825$),

desenvolvido por Seeman et al. (2008), foi demonstrada que quanto menor a escolaridade maior o risco biológico na exposição aos praguicidas. Yuan (2015) relatou a associação entre escolaridade, grau de informação e conscientização dos riscos ocupacionais. Ou seja, esse parâmetro é determinante na obtenção de informação sobre os riscos de exposição a praguicidas, até mesmo pelo entendimento das informações presentes nos rótulos dos produtos, o que influencia diretamente os níveis de exposição aos agentes químicos e, conseqüentemente, os quadros de intoxicação (JACOBSON et al., 2009).

Tabela 4 - Média dos escores dos atributos da APS dos serviços prestados à população de zona rural da regional de saúde de Alfenas, Minas Gerais, obtidos por meio do PACTool-Brasil.

Escores	Homens			Mulheres			p*
	\bar{X}	MD	\pm DP	\bar{X}	MD	\pm DP	
Grau de afiliação	2,74	3,00	1,05	3,05	3,00	0,91	< 0,001
Primeiro contato	2,76	2,83	0,52	2,76	2,83	0,48	0,686
Longitudinalidade	2,83	2,86	0,67	2,83	2,93	0,66	0,884
Coordenação do Cuidado	2,47	2,50	0,7	2,58	2,61	0,63	0,108
Integralidade: serviços disponíveis	1,88	1,82	0,55	1,88	1,82	0,54	0,962
Integralidade: ações de promoção e prevenção	2,03	2,00	0,72	1,97	1,92	0,70	< 0,001
Orientação familiar	2,31	2,00	0,93	2,29	2,33	0,91	0,839
Orientação comunitária	2,46	2,50	0,88	2,50	2,50	0,89	0,560
Essencial	2,55	2,54	0,43	2,57	2,53	0,40	0,710**
Derivado	2,38	2,42	0,74	2,40	2,33	0,75	0,985
Geral	2,52	2,50	0,45	2,53	2,51	0,43	0,806**

Fonte: Do Autor.

Nota: Média (\bar{X}). Mediana (MD). Desvio padrão (\pm DP).

* Teste *Mann-Whitney*.

** Teste *t*.

Em nenhum dos 26 municípios visitados, era de conhecimento das equipes de saúde da família, da zona rural, a importância clínica do monitoramento de trabalhadores rurais que manuseiam rotineiramente substâncias anticolinesterásicas, por meio das dosagens de BChP, AChE e ChT. Em acréscimo, a população em estudo avaliou mal a integralidade do cuidado, especialmente em relação ao quesito “ações de promoção e prevenção”, gerando uma mediana de escore menor que 2 (TABELA 4). Ou seja, a população de trabalhadores rurais encontra-se vulnerável à exposição e, conseqüentemente, às intoxicações por praguicidas, não só devido ao

grau de toxicidade das substâncias por eles manuseadas, como também por uma baixa escolaridade, uso inadequado ou mesmo não uso de EPIs e despreparo dos serviços de saúde para abordagem qualificada desta população.

Segundo Mann, Tarantola e Netter (1993), mais grave ainda torna-se a ausência de Estratégia de Saúde da Família rural que sensibilize os trabalhadores para os riscos ocupacionais associados à saúde. Assim, justamente nos locais em que a vulnerabilidade individual e social se faz mais proeminente é que o eixo programático deve intervir em uma política consistente de redução de danos (AYRES, 2009).

Quanto à atividade das enzimas Ch, na população em estudo, 19,4% e 14,2% apresentaram alteração da AChE e 3,6% e 2,1%, da BChP, respectivamente em homens e mulheres. Já, 15% dos trabalhadores apresentaram alterações na avaliação da função hepática e 3,5% da função renal. Embora o grau de exposição ocupacional seja semelhante, entre homens e mulheres, sinais de hepatotoxicidade, verificados pelos testes bioquímicos realizados, são significativamente mais frequentes em homens. Esta diferença não se associou de forma significativa ao grau de exposição, ao tempo de contato, nem ao consumo de álcool.

Nos procedimentos de serviços prestados pelo sistema de saúde brasileiro, faz parte apenas a determinação da atividade da BChP, cujos resultados do presente estudo demonstraram uma diminuição da atividade média de 2,85%, enquanto porcentagem média de diminuição de atividade da AChE foi de 16,8% na população estudada, demonstrando a limitação da análise das enzimas na fração plasmática, em relação à avaliação da exposição crônica aos praguicidas.

A avaliação clínica realizada nos 1027 trabalhadores rurais, por meio de respostas ao questionário (APÊNDICE A) mostrou alterações importantes em sistemas orgânicos, oriundas da exposição aos praguicidas podendo indicar intoxicações crônicas e agudas. As porcentagens de trabalhadores rurais que apresentaram alterações de saúde nos sistemas cardiovascular, SNC, digestivo, respiratório, auditivo, membranas, pele e mucosas e urinário foram 45,0, 75,5, 54,6, 54,6, 52,0, 37,6 e 21,8, respectivamente. Esses achados corroboram com os efeitos neurotóxicos, amplamente descritos dos OF devido à inibição das enzimas Ch resultando em uma estimulação exacerbada nas sinapses muscarínicas e nicotínicas (STORM; ROZMAN; DOULL, 2000; KOUREAS et al., 2012).

Os serviços de APS devem estar disponíveis a cada novo problema ou novo episódio de um mesmo problema de saúde (porta de entrada), por conseguinte, prestando cuidados à população de sua área de abrangência de forma continuada (longitudinalidade), oferecendo ações de promoção, prevenção, cura e reabilitação adequadas ao seu contexto e

encaminhamentos apenas aos casos que transcendem as possibilidades da APS, em uma abordagem biopsicossocial do processo saúde-doença (integralidade) centralizando as informações e todo cuidado que o paciente recebe (coordenação da atenção), com competência cultural e de um modo orientado à família e à comunidade – a relação entre mundo de trabalho e o processo saúde-doença, minimização de riscos por meio de orientações educativas junto aos trabalhadores das comunidades por elas assistidas deveria ser o foco de unidades de zona rural (STARFIELD, 2002).

A principal hipótese explicativa de não detecção de um problema de saúde tão frequente, em uma população de alto risco e que tem acesso a serviços de Atenção Primária, é a de que embora as Unidades de Saúde estejam disponíveis a essa população, elas não possuem nem mesmo os atributos essenciais da Atenção Primária para exercerem seu papel com a população, visando a promoção e prevenção da saúde.

Identificar o grau de orientação à APS na Regional de Saúde de Alfenas-MG no setor rural, correlacionando-o às condições de exposição e clínicas de trabalhadores rurais aos bioindicadores de exposição e de efeito, certamente favorecerá a definição de políticas públicas e elaboração de um plano diretor que norteie a implantação de uma rede de Atenção à Saúde do Trabalhador na Regional de Alfenas, bem como possibilitará a extensão dos benefícios aqui alcançados para outras microrregionais de saúde do Estado e União.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DA EXPOSIÇÃO E AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS GRUPOS DE TRABALHADORES RURAIS EXPOSTOS À MISTURA DE PRAGUICIDAS

A caracterização da exposição e avaliação clínica foi realizada nos três grupos de comparação de estudos selecionados conforme descrito anteriormente.

Após revisão da literatura (PASTOR et al., 2003; MARTÍNEZ-VALENZUELA et al., 2009; KOUREAS et al., 2012), foi possível observar que estudos que comparam populações de trabalhadores rurais podem apresentar resultados diferentes, o que pode ser justificado quando se leva em conta os períodos de aplicação, níveis de exposição, tipos de praguicidas, misturas usadas no campo e características geográficas e meteorológicas das áreas agrícolas. Tais diferenças referem-se ainda às pessoas que preparam as misturas no campo, aos pulverizadores de praguicidas e à população que vive no entorno dos locais pulverizados, locais de

armazenamento, estufas e campo. Assim, nesta pesquisa todas essas peculiaridades foram consideradas na caracterização da população em estudo.

Os grupos expostos à mistura complexa de praguicidas, contendo ou não OF, praticam a agricultura familiar em pequenas e médias propriedades. O modo de aplicação de praguicidas é principalmente com bomba costal, Tabela 5, mostrando estar estes trabalhadores expostos pelo modo de aplicação que representa maior risco de contaminação. Entre os praguicidas da classe dos OF, os mais utilizados foram dissulfoton (69,2%), clorpirifós (23,2%), acefato (4,8%) e dimetoato (2,8%). Outras classes de praguicidas comumente usadas foram os herbicidas glifosato, paraquat e ureia, os fungicidas da classe dos triazois e ditiocarbamato e os inseticidas das classes dos carbamatos, organoclorados, piretroides e piretrinas.

A Tabela 5 mostra alguns parâmetros importantes de exposição e caracterização da população estudada. Os trabalhadores agrícolas em sua maioria não seguiram as normas de segurança como o uso EPI e técnicas adequadas de limpeza destes equipamentos, instruções corretas para a aplicação de praguicidas e tempo adequado para a colheita. Estes comportamentos refletem a falta de treinamento e instrução dos trabalhadores rurais quanto às normas de segurança, os desconfortos e dificuldades de uso dos EPIs e a falta de aceitação do risco de intoxicação pelos praguicidas por parte desta população.

Tabela 5 - Parâmetros que caracterizam a população exposta aos praguicidas*.

(continua)

Variável	Expostos à mistura complexa de praguicidas contendo OF	Expostos a misturas complexa de praguicidas, exceto OF	Não expostos ocupacionalmente aos praguicidas
	n = 94	n = 94	n = 50
Idade			
Média ± DP	38,8 ± 11,3	38,6 ± 9,8	36,5 ± 12,6
Hábito de fumar			
Não fumante	83%	83%	92%
Fumante	17%	17%	8%
Uso de álcool	35%	40%	50%
Anos de exposição aos praguicidas			
Média ± DP	16,9 ± 9,7	14,9 ± 13,4	N.A.
Modo de aplicação dos praguicidas			
Bomba costal	85%	87%	N.A.
Trator sem cabine de proteção	14%	12%	N.A.
Trator com cabine de proteção	1%	1%	N.A.
Intoxicação por praguicidas	19%	19%	-
Hospitalização devido à intoxicação por praguicidas	9%	11%	-

Tabela 5 - Parâmetros que caracterizam a população exposta aos praguicidas*.

Variável	Expostos à mistura complexa de praguicidas contendo OF	Expostos a misturas complexa de praguicidas, exceto OF	Não expostos ocupacionalmente aos praguicidas
	n = 94	n = 94	n = 50
(conclusão)			
Uso de EPI			
Completo	33%	36%	N.A.
Incompleto	50%	50%	N.A.
Não usa	17%	14%	

Fonte: Do Autor.

Nota: *Regional de Saúde de Alfenas-MG, ano de 2014-2015 (n = 238). Não aplicável (N.A.).

As porcentagens de alteração em cada sistema do organismo, na população estudada, são apresentadas na Tabela 6. A análise estatística mostrou alterações significativas nas funções do sistema nervoso central, respiratório e auditivo nos grupos de tratamento comparado com o grupo não expostos.

Tabela 6 - Sistemas orgânicos com alterações nos três grupos analisados ⁱ.

Sistemas com alterações	Expostos à mistura complexa de praguicidas contendo OF (%)	Expostos a misturas complexa de praguicidas, exceto OF (%)	Não expostos ocupacionalmente aos praguicidas (%)	p*
	n = 94	n = 94	n = 50	
Cardiovascular	36,5	31,2	28,2	0,605
Sistema Nervoso Central	80,0	77,4	57,1	0,015
Digestivo	59,3	57,0	40,5	0,113
Respiratório	56,5	46,2	19,0	0,001
Auditivo	38,8	39,6	7,1	0,001
Membranas, pele e mucosas	31,3	36,7	0	0,459
Urinário	20,9	16,1	7,1	0,140

Fonte: Do Autor.

Nota: * Teste: *Qui-Quadrado*. ⁱ Regional de Saúde de Alfenas-MG, ano de 2014-2015 (n = 238).

Storm, Rozman e Doull (2000) realizaram um estudo de revisão sobre exposição ocupacional à vários OF e a utilização das AChE. Os autores puderam observar variações na inibição deste bioindicador e discutem que, associado a esse, deve ser realizada a avaliação clínica, na análise da exposição a tais substâncias. No presente estudo, em avaliação clínica realizada em trabalhadores expostos aos OF, alterações ditas como pertencentes à síndrome colinérgica como fraqueza e tremores musculares, irritabilidade e agitação, visão turva, tontura, formigamento dos membros, cólicas abdominais, náuseas, dificuldade respiratória, irritação nasal, aumento das secreções brônquicas, tosse, diminuição da audição e zumbido foram significativamente maiores quando comparados com o grupo não exposto ocupacionalmente. Todos estes dados clínicos são apoiados por estudos anteriores que mostram que as ações bioquímicas destas praguicidas podem resultar nestes efeitos (STORM; ROZMAN; DOULL, 2000; MIRANDA et al., 2004; HUEN et al., 2012). Este trabalho pode, assim, confirmar o estado de doença crônica com a exposição a esses praguicidas.

5.3 AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL EMPREGANDO OS BIOINDICADORES

A avaliação da exposição ocupacional empregando bioindicadores foi realizada nos três grupos de comparação de estudos selecionados conforme descrito anteriormente.

Os resultados das determinações da atividade das BChP, AChE e ChT são apresentados na Tabela 7 como média, desvio padrão e mediana. As concentrações médias de DETP e DEDTP estão na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados de atividade das Ch e concentrações de dietilfosfato (DETP) e dietilditiofosfato (DEDTP) nos três grupos analisados*.

Bioindicadores	Expostos à mistura complexa de praguicidas, com OF		Expostos a misturas complexa de praguicidas, sem OF		Não expostos ocupacionalmente aos praguicidas	
	(n = 94)		(n = 94)		(n = 50)	
	$\bar{X} \pm DP$	% Alt	$\bar{X} \pm DP$	% Alt	$\bar{X} \pm DP$	% Alt
	MD		MD		MD	
Atividade da Colinesterase Plasmática (%) (VR 1 a 6,4%)	4,5 ± 2,2 5,0	12,8	5,2 ± 1,7 5,7		4,0 ± 2,0 3,4	-
Atividade da Colinesterase Eritrocitária (%) (VR 31,1 a 59,4%)	30,9 ± 11,9 29,9	63,8	41,8 ± 7,5 40,2		45,9 ± 8,9 45,0	-
Atividade da Colinesterase Total (%) (VR 12,7 a 30,5%)	15,7 ± 5,9 14,8	14,8	21,1 ± 5,4 20,5		21,7 ± 5,9 18,6	-
DETP ($\mu\text{g L}^{-1}$) (ausência de VR)	0,27 ± 0,25 0,17	92,6	0,087 ± 0,005 0,085	26,5	< LOQ	1,1
DEDTP ($\mu\text{g L}^{-1}$) (ausência de VR)	0,06 ± 0,04 0,047	91,5	0,08 ± 0,02 0,085	25,5	< LOQ	1,1

Fonte: Do Autor.

Nota: Valor de referência (VR); % Alt (percentagem alterada). Média (\bar{X}); Mediana (MD); Desvio padrão ($\pm DP$).

*Regional de Saúde de Alfenas-MG, ano de 2014-2015 (n = 238).

A determinação da atividade das Ch é bioindicador consagrado no monitoramento da exposição ocupacional e na vigilância à saúde do trabalhador exposto a anticolinesterásicos,

sendo preconizado por diversos países (AZAROFF, 1999; STORM; ROZMAN; DOULL, 2000; ABDULAT; BATTAH; HADIDI, 2006; HUEN et al., 2012; LIONETTO et al., 2013; STRELITZ; ENGEL; KEIFER, 2014; SILVA, 2016). No Brasil, a Norma Regulamentadora nº 7, do Ministério do Trabalho (BRASIL, 1994) recomenda a determinação da atividade da ChT, BChP e AChE, no final da jornada, comparando os valores obtidos de inibição enzimática aos valores obtidos no período pré-exposição. Para interpretação dos resultados, nesse estudo, foi obtido um valor de referência regional, uma vez como a exposição é contínua não foi possível obter valores basais, individualmente. Esses valores foram determinados para as AChE, BChP e ChT, por meio de análise destas em 100 indivíduos não expostos ocupacionalmente, como descrito por Cocker et al. (2002), Câmara et al. (2012) e Silva (2016). O intervalo de atividade enzimática obtido foi para a ChT de 12,7 a 30,5%, para a BChP de 1 a 6,4% e para a AChE de 31,1 a 59,4%.

A BChP, enzima que apresenta meia-vida de uma semana, é considerada um bioindicador que reflete exposições recentes e a dose absorvida dos OF. Já, a AChE, devido sua localização em hemácias, tecido nervoso e músculo estriado onde exerce degradação da acetilcolina nas sinapses, é considerada bioindicador de efeito e exposições mais prolongadas. A meia-vida da AChE depende da meia-vida da hemácia que é de cerca de 120 dias, reflete melhor as situações de exposição crônica e efeito dos anticolinesterásicos (SILVA, 2016). A atividade da BChP encontrou-se alterada em 12,8% dos indivíduos expostos aos OF, já, a atividade da AChE apresentou-se alterada em 63,8%, no presente estudo, no grupo de trabalhadores expostos aos OF. Os praguicidas OF são considerados como inibidores da AChE funcionalmente irreversíveis, uma vez que o tempo necessário para a “regeneração” da enzima pode ser maior que o tempo necessário para uma nova síntese enzimática, podendo essa permanecer alterada por um período de 30 dias ou mais (STORM; ROZMAN; DOULL, 2000; MARGARITI; TSATSAKI, 2009; ARAOUD et al., 2011; LIONETTO et al., 2013). A inibição da AChE revela uma taxa de recuperação mais baixa em comparação com a BChP e os OF produzem efeito cumulativo inibidor sobre a atividade da AChE. Vários estudos relataram relação significativa entre a exposição crônica e inibição da AChE em populações de trabalhadores expostos (HERNÁNDEZ et al., 2004; 2005; REMOR et al., 2009; LIONETTO et al., 2013).

A literatura tem descrito a associação entre o aparecimento de efeitos tóxicos e o aumento dos níveis de DAPs urinários, por isso tais metabólitos podem contribuir na avaliação da exposição ocupacional aos OF (APREA et al., 1996; COCKER et al., 2002; HUEN et al., 2012; SANTOS, 2012). Os DAPs não são específicos a um tipo de OF (MARGARITI;

TSATSAKI, 2009), e refletem a exposição a estas substâncias, de forma ocupacional e ambientalmente e, ainda, pelos alimentos (COCKER et al., 2002). Dados mostram que eles refletem, satisfatoriamente, a exposição a estes praguicidas devido à rápida biotransformação e também a degradação hidrolítica fora do organismo (KRIEGER et al., 2012).

No presente estudo, esses metabólitos foram encontrados na urina de mais de 90% do grupo exposto à mistura contendo OF (TABELA 7). A toxicocinética dos OF é rápida, principalmente em termos de metabolização, sendo que os produtos de biotransformação são eliminados em até 72 horas, após a exposição (COCKER et al., 2002; WU et al., 2010). Conforme demonstrado por Cocker et al. (2002), e também nesse estudo, os DAPs encontram-se em baixas concentrações na urina de trabalhadores potencialmente expostos aos OF (WU et al., 2010). A diminuição da atividade da AChE relacionou-se a um aumento na concentração de DAPs na urina (teste Qui-Quadrado, $p < 0,001$).

Pode-se considerar os DAPs urinários mais sensíveis na detecção de exposição aos OF em relação a atividade das Ch, porém são bioindicadores de exposição recente devido a rápida biotransformação, já as Ch são menos sensíveis, mas a AChE é um indicador mais fiel em exposições continuadas e cumulativas mostrando-se alterada nestes casos e em associação com a clínica.

Além da avaliação clínica foi realizada uma avaliação laboratorial para verificação das funções hepática e renal de todos os voluntários do estudo. Para a avaliação da função hepática foram analisadas as enzimas AST e ALT que verificam lesão celular hepática e gama glutamil transferase que monitora a presença de colestase e alterações por exposição ao álcool (PINCUS; TIERNO; DUFOUR et al., 2012). Para analisar a função renal foi realizada determinação de creatinina sérica que mostra alteração de filtração glomerular (OH, 2012). Nenhum voluntário apresentou alterações nestes testes, para o sistema urinário, por conseguinte não houve influência desses resultados sobre a atividade da Ch e excreção de DAPs.

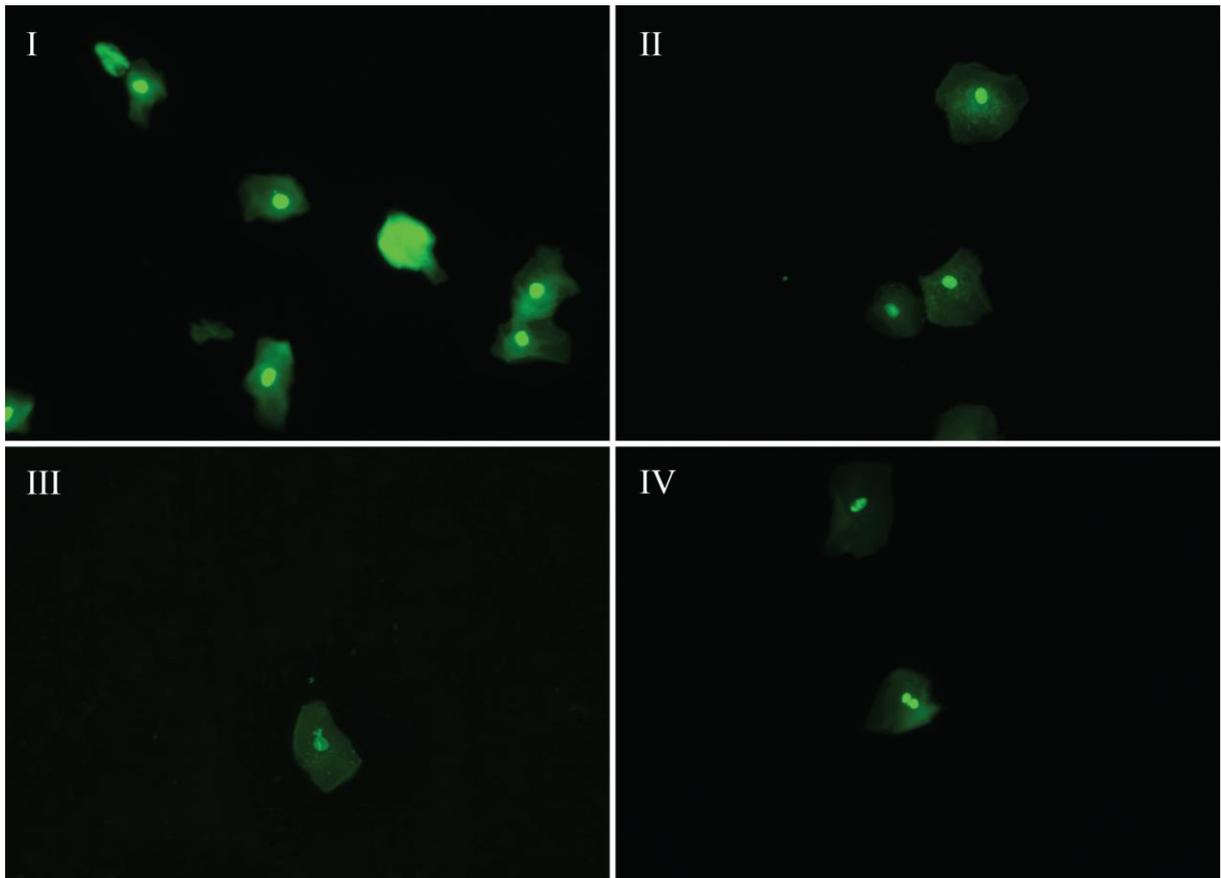
Os praguicidas OF mostram evidência de teratogenicidade e mutagenicidade e são classificados pela Agência Internacional para pesquisa em Câncer (IARC) como provável carcinogênico para humanos, pertencente ao grupo 2A (IARC, 2015). Na literatura é descrita a relação entre exposição aos OF e aparecimento de diversos tipos de tumores (LEE, 2004a; 2004b; SINGH et al., 2011a; KOUREAS et al., 2012; MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013). Estes praguicidas são ditos produtores de radicais livres e podem levar a oxidação de DNA com formação de 8-OH-2'-desoxiguanina e conseqüente mutações por mudança de base e aberrações cromossômicas numéricas e/ou estruturais, bem como interferir mecanismo de reparo celular e estresse oxidativo com desequilíbrio entre pró-oxidante e antioxidantes e

diminuição de glutathione e outras enzimas antioxidantes (SINGH et al., 2011; BENEDETTI et al., 2008; MUNIZ et al., 2008; MOSTAFALOU et al., 2013). São assim, genotóxicos e clastrogênicos, já que estudos mostram a presença de quebras de DNA em fragmentos de DNA de exposição a estas substâncias (CICCHETTI et al., 1995; SAIJALA et al., 2006). Os OF tem mostrado efeitos citotóxicos, citostáticos e citogenéticos sugerindo propriedades mutagênicas (MUNIZ et al., 2008).

O ensaio do citoma de mucosa bucal (BENEDETTI et al., 2013) tem sido usado para verificar alterações como frequência de células basais (potencial proliferativo), células binucleadas (defeitos de citocinese), MN, pontes e brotos (defeitos e danos no DNA) e células com cromatina condensada, núcleo picnótico, em cariorrhexe e cariólítica (morte celular). Nesse estudo, este ensaio foi empregado como bioindicador de efeito genotóxico e os resultados são apresentados na Tabela 8. Para cada voluntário, 2000 células bucais (1000 por lâmina) foram analisadas, de acordo com o protocolo descrito por Thomas et al. (2008). A Figura 5 apresenta imagens das avaliações dos parâmetros do teste do citoma nos 3 grupos estudados.

Como pode ser verificado, na Tabela 8 a exposição aos praguicidas provocou mudança nos parâmetros avaliados em comparação ao grupo não exposto ocupacionalmente aos praguicidas, corroborando os achados de Benedetti et al. (2013) e Kausar et al. (2014).

Figura 5 - Parâmetros do teste de citoma de mucosa bucal para os 3 grupos avaliados.



Fonte: Do Autor.

Nota: I – Células diferenciadas e célula com micronúcleo; II – Células em cariorrexe e célula diferenciada; III – Célula com broto; IV – Célula binucleada e célula diferenciada.

Tabela 8 - Resultados do teste de citoma de mucosa bucal para os 3 grupos avaliados¹.

Parâmetros	Expostos à mistura complexa de praguicidas contendo OF	Expostos a misturas complexa de praguicidas, exceto OF	Não expostos ocupacionalmente aos praguicidas	<i>p</i> *
	(n = 94)	(n = 94)	(n = 50)	
	$\bar{X} \pm DP$ MD ¹	$\bar{X} \pm DP$ MD ¹	$\bar{X} \pm DP$ MD ¹	
Célula basal	10,7 ± 9,5 ^a 7	10,8 ± 10,1 ^a 9	12,5 ± 10,1 ^a 11	0,3788
Um Micronúcleo	5,8 ± 7,2 ^a 3	3,6 ± 3,4 ^a 3	1,4 ± 3,4 ^b 1	0,001
Dois Micronúcleos	0,14 ± 0,34 0	0,09 ± 0,43 0	0 0	0,4243
Broto Nuclear	0,83 ± 1,2 ^a 1	0,42 ± 1,2 ^b 0	0,2 ± 0,5 ^b 0	0,006
Binucleada	6,3 ± 6,1 ^a 5	6,3 ± 6,8 ^a 4	1,5 ± 1,7 ^b 1	0,001
Cromatina Condensada	1,16 ± 1,3 ^a 1	0,69 ± 1,2 ^b 0	0,02 ± 0,14 ^c 0	0,001
Cariorrética	103,7 ± 6,9 ^a 90	88,7 ± 62,5 ^a 70	44,9 ± 30,2 ^b 39	0,001
Picnótica	3,9 ± 3,5 ^a 3	3,9 ± 5,3 ^a 2	0,7 ± 1,0 ^b 0	0,001
Cariolítica	310,9 ± 165,6 ^a 300	235,8 ± 137,9 ^b 201	126,9 ± 77,0 ^c 110	0,001

Fonte: Do Autor.

Nota: Média (\bar{X}). Mediana (MD). Desvio padrão ($\pm DP$). * Teste de *Kruskal-Wallis*. ¹ Valores de grupos seguidos por letras diferentes são estatisticamente diferentes, $p < 0,05$, usando o teste de *Student-Newman-Keuls Post-hoc*. ¹ Regional de Saúde de Alfenas-MG, ano de 2014-2015 (n = 238).

Neste trabalho, o ensaio de citoma de mucosa bucal mostrou associação significativa em parâmetros como brotamento – botões, cromatina condensada e células cariolíticas em trabalhadores expostos aos OF, quando esse grupo foi comparado ao de trabalhadores expostos a outros praguicidas. Ainda, o grupo exposto aos OF apresentou todos os parâmetros citogenéticos alterados, com a exceção de células basais, quando comparado ao grupo não exposto ocupacionalmente. Na literatura não foram encontrados estudos que reportam a análise citogenética de citoma de mucosa bucal em trabalhadores expostos aos OF.

O ensaio de citoma avalia danos recentes que pode ser encontrado no DNA, provavelmente associada a processos oxidativos, que podem ser conducentes a processos mutagênicos, como observado com a formação de MN e brotos nucleares, indicando a persistência de lesões ou a ocorrência de reparo incorreto (BENEDETTI et al., 2013; THOMAS et al., 2008). Exposição contínua e persistência de danos genotóxicos não reparados induzidos por praguicidas e a formação de radicais livres, com níveis de glutatona reduzida podem levar a um nível mais elevado de alterações citogenéticas (BOLOGNESI, 2003; HERNÁNDEZ et al., 2005; MUNIZ et al., 2008; SINGH et al., 2011a; 2011b; SINGH et al., 2012; BENEDETTI et al., 2013).

O mecanismo que inicia a formação do broto nuclear pode estar relacionado à instabilidade cromossômica e amplificação do gene e podem também ser precursores de MN (SHIMIZU et al., 2005; KEHDY et al., 2007; BONASSI et al., 2011; BENEDETTI et al., 2013). As células binucleadas podem ser indicativas da falência de citocinese devido a aneuploidia e parecem estar envolvidos no atraso da divisão celular. A presença de cromatina condensada, cariorrexe, células com núcleo em picnose e cariólíticas são bioindicadores de morte celular. Estas alterações celulares aumentam com a exposição a agentes genotóxicos (SHIMIZU et al., 2005; KEHDY et al., 2007; BONASSI et al., 2011; THOMAS et al., 2012; BENEDETTI et al., 2013). Os resultados deste estudo podem sugerir dano genético causado por exposição aos praguicidas OF. Como o teste do citoma de mucosa bucal ainda não apresenta padronização totalmente definida foi feito o grupo controle para comparações e validação dos resultados.

Os resultados da comparação entre as variáveis AChE e ensaio do citoma de mucosa bucal mostraram associação significativa com MN, brotos, células binucleadas e basais, cromatina condensada, células cariorrética e núcleo picnótico (teste de *Mann-Whitney*, $p = 0,001$). Quando analisado o bioindicador BChP também foi encontrada uma relação significativa com todos os parâmetros de teste citoma, exceto células binucleadas e basais (teste *Mann-Whitney*, $p = 0,001$). A associação entre os DAPs urinários e o citoma também foi encontrada uma associação significativa com todos os parâmetros, exceto células basais (teste

Mann-Whitney, $p = 0,001$). A associação entre parâmetros do citoma e ingestão de álcool de forma social nesta população não apresentou-se significativa quando realizada a relação pelo teste de *Mann-Whitney*, como na presença de um MN ($p = 0$), de dois MN ($p = 0$), broto ($p = 0$), núcleo picnótico ($p = 0$), cromatina condensada ($p = 0$), célula cariorrética ($p = 0$) e cariолítica ($p = 0$). A população de controle não exposto ocupacionalmente investigada por esta pesquisa apresenta padrão de consumo de álcool semelhante aos grupos expostos ocupacionalmente aos praguicidas podendo confirmar esta não associação. Trabalhos na literatura com este perfil de exposição ao álcool também não apresentaram associação significativa entre esta exposição e presença de alterações em MN (SAILAJA et al., 2006; MARTÍNEZ-VALENZUELA et al., 2009).

Foi estudada também a associação entre parâmetros do citoma e hábito de fumar. Os fumantes do presente trabalho foram considerados leves, ou seja, adotado como fumante leve o consumo de 30 cigarros ou menos por dia. Assim, a associação entre hábito de fumar e parâmetros do citoma nesta população não apresentou-se significativa quando realizada a relação pelo teste de *Mann-Whitney*, como na presença de um MN ($p = 0,1656$), de dois MN ($p = 0,4204$), broto ($p = 0$), núcleo picnótico ($p = 0$), cromatina condensada ($p = 0$), célula cariorrética ($p = 0$) e cariолítica ($p = 0$). A população de controle não exposto ocupacionalmente investigada por esta pesquisa apresenta padrão de consumo tabaco semelhante aos grupos expostos ocupacionalmente aos praguicidas podendo confirmar esta não associação. Trabalhos na literatura com este perfil de exposição ao tabaco também não apresentaram associação significativa entre esta exposição e presença de alterações em MN (SACARPATO et al., 1996; SAILAJA et al., 2006; MUNIZ et al., 2008; MARTÍNEZ-VALENZUELA et al., 2009).

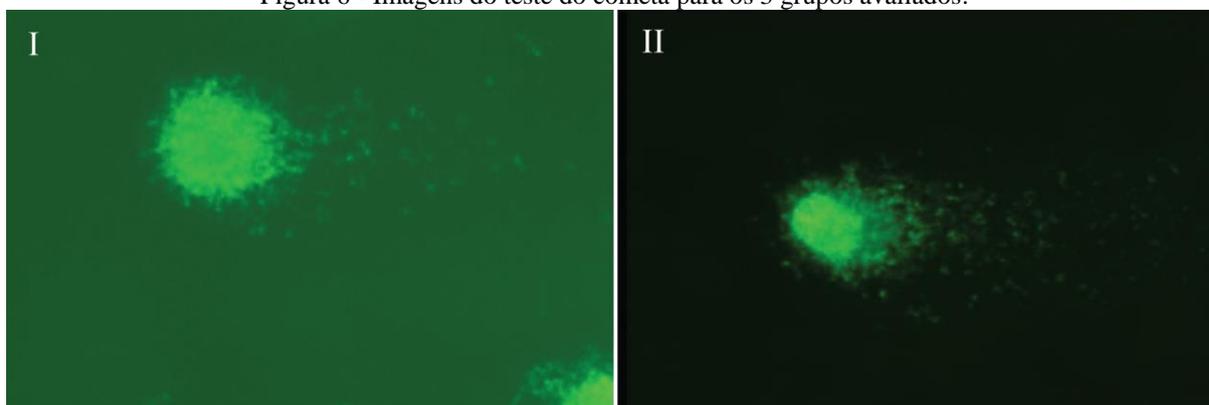
As correlações (correlação de *Spearman's*) foram confirmadas entre AChE e parâmetros do citoma como MN, broto, células binucleadas, cromatina condensada, células criorrética, cariолítica e com núcleo picnótico, nos quais quanto menor a atividade da enzima maior o número de alterações e os respectivos r foram: - 0,207; - 0,170; - 0,241; -0,138; -0,194 e -0,295. O mesmo teste foi realizado para verificar as correlações entre DETP e DEDTP e parâmetros do citoma confirmando correlação entre eles, nos quais quanto maior o valor dos DAPs maior as alterações nos parâmetros analisados. Para DETP em correlação com MN, broto, células binucleadas, cromatina condensada, células criorrética, cariолítica e com núcleo picnótico os respectivos r foram: 0,299; 0,309; 0,190; 0,432; 0,303; 0,399; 0,379. E para DEDTP em correlação com MN, broto, células binucleadas, cromatina condensada, células criorrética, cariолítica e com núcleo picnótico os respectivos r foram: 0,303; 0,283; 0,186; 0,443; 0,328;

0,381; 0,395. Assim, os DAPs e as AChE mostram forte correlações com alterações nos parâmetros do citoma sugerindo danos genotóxicos em exposição aos OF.

Na avaliação do teste do cometa e determinação das formas alélicas da CYP2C9 o número de investigados foi de 50 nos dois grupos expostos ocupacionalmente devido a perdas na extração de DNA e alterações de gelatinização com perdas no teste do cometa.

Ainda, para avaliar o potencial genotóxico dos OF foi realizado o ensaio do cometa, o qual é um método que permite a detecção de danos primários no DNA. Durante os últimos 10 anos, esse ensaio tem sido aceito, de forma mais ampla, para demonstrar potencial genotóxico, além de ser usado para analisar a capacidade celular de reparar DNA, para produtos industriais, farmacêuticos e agroquímicos (HELMA; UHL, 2000; KONCA et al., 2003). Baseia-se no grau de fragmentação do DNA e sua migração pela microeletroforese. Medidas como o comprimento total da “cauda” e a densidade de DNA fornecem dados indiretos sobre o estado do DNA na amostra (HELMA; UHL, 2000; BRIANEZI; CAMARGO; MIOT, 2009). Os resultados do teste do cometa (TABELA 9), assim como em vários outros (SHADNIA et al., 2005; MUNIZ et al., 2008; ATHERTON et al., 2009; SINGH et al., 2011a; 2011b; SINGH et al., 2012), indicaram que a exposição ocupacional aos praguicidas induziu a aumento significativo no nível de danos ao DNA (Teste do Qui-quadrado, $p = 0,0426$). Esta alteração foi verificada nos dois grupos expostos aos praguicidas. O teste do cometa mostra efeitos genotóxicos pré-reparo de exposições mais longas que os avaliados pelo ensaio do citoma de mucosa bucal. O potencial indutor de estresse oxidativo e indução de danos ao DNA, já discutidos anteriormente, sustentam e explicam estas alterações no ensaio do cometa. A Figura 6 apresenta imagens dos cometas nos 3 grupos estudados. Como o teste do cometa ainda não apresenta padronização totalmente definida foi feito o grupo controle para comparações e validação dos resultados.

Figura 6 - Imagens do teste do cometa para os 3 grupos avaliados.



Fonte: Do Autor.

Nota: I – Célula de sujeito do grupo controle não exposto ocupacionalmente à praguicidas; II – Cometa de sujeito do grupo exposto ocupacionalmente à praguicidas.

Os bioindicadores de dose interna e efeito, DAPs e atividade das Ch, não apresentaram associação significativa com o dano de DNA verificado pelo TM, após aplicação do teste de *Mann-Whitney*, resultado esse semelhante aos achados de Singh et al. (2012) e Singh et al. (2011b). A modificação destes bioindicadores acontecem em exposições à curto prazo e os danos ao DNA podem ser mais à longo prazo e, ainda, outros fatores como tempo, frequência e concentrações de exposição e variações toxicocinéticas podem justificar esses achados.

A associação entre TM e ingestão de álcool de forma social nesta população não apresentou-se significativa (teste *Mann-Whitney*, $p = 0,3801$). A população de controle não exposto ocupacionalmente investigada por esta pesquisa apresenta padrão de consumo de álcool semelhante aos grupos expostos ocupacionalmente aos praguicidas podendo confirmar esta não associação. Trabalhos na literatura com este perfil de exposição ao álcool também não apresentaram associação significativa entre esta exposição e presença de alterações no TM (SAILAJA et al., 2006; SINGH et al., 2011b).

Foi estudada também a associação entre TM e hábito de fumar. Assim, a associação entre hábito de fumar e TM nesta população não apresentou-se significativa (teste *Mann-Whitney*, $p = 0,3924$). A população de controle não exposto ocupacionalmente investigada por esta pesquisa apresenta padrão de consumo tabaco semelhante aos grupos expostos ocupacionalmente aos praguicidas podendo confirmar esta não associação. Trabalhos na literatura com este perfil de exposição ao tabaco também não apresentaram associação significativa entre esta exposição e presença de alterações no TM (SAILAJA et al., 2006; MUNIZ et al., 2008; SINGH et al., 2011b).

Quando os dados do ensaio do citoma e do cometa foram correlacionados (correlação de *Spearman's*), foi verificada correlação positiva entre aumento de células binucleadas e aumento do TM (TABELA 8), podendo indicar um defeito de citocinese e consequente aumento de células com aberrações cromossômicas sendo característica de células carcinogênicas.

Os testes do citoma e do cometa em associação mostram um padrão ouro na avaliação de genotoxicidade à exposição substâncias químicas onde o cometa avalia danos pré-reparo, ou seja, lesão de DNA, e mecanismo de reparo e o teste do citoma avalia danos pós-reparo, ou seja, mutação. A associação entre estes dois testes pode assim verificar vários tipos de lesões de DNA e mutações por diferentes mecanismos. Como os OF podem levar a danos de DNA e mutações por mudança de base e aberrações cromossômicas numéricas e/ou estruturais, bem como interferir mecanismo de reparo celular a análise pelos dois testes se mostra ideal para detecção destes tipos de alterações. O teste do citoma mostra alterações ocorridas em até quatro

semanas anteriores à exposição e por via inalatória e oral e o teste do cometa mostra exposição um pouco mais prolongada e exposição por todas as vias de absorção. O teste do citoma ainda avalia danos metanucleares que representam fenômenos celulares degenerativos e/ou adaptativos do tecido epitelial podendo verificar mecanismo de morte celular por apoptose e necrose e ainda defeitos de citocinese e apresenta correlação inversa com a presença de MN. A análise destas alterações tem se mostrado mais efetiva do que a presença de MN na mucosa bucal (SINGH et al., 2011; BENEDETTI et al., 2008; MUNIZ et al., 2008; MOSTAFALOU et al., 2013).

A atividade alterada de enzimas que metabolizam xenobióticos pode levar a modificações na capacidade de metabolizar os seus substratos. Assim, a detecção de polimorfismo genético, em populações expostas a agentes químicos, pode ser considerada como um indicador de suscetibilidade (SINGH, 2011a). Bioindicadores de suscetibilidade indicam a habilidade individual de um organismo em responder a uma exposição ao xenobiótico. Assim, indicam indivíduos que poderão responder de forma diferente, resposta exacerbada e inesperada, devido a alterações genéticas ou adquiridas aos toxicantes (SILVA, 2016).

O polimorfismo de EMX levam a variabilidade genética onde os indivíduos não são eficientes nos mecanismos de detoxificação podendo aumentar o risco genotóxico conduzindo a mutações e câncer e também outras efeitos e doenças por suscetibilidade genética alterada.

O sistema citocromo P450 hepático em humanos é composto por várias famílias e subfamílias, sendo a CYP2C9 responsável pela biotransformação dos OF e considerada como uma das mais importantes. Os alelos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 mutantes são frequentemente identificados na população, podendo reduzir de forma significativa a atividade enzimática, levando ao acúmulo de substâncias químicas inalteradas nos organismos (SINGH, 2011a). Na metabolização dos OF, a literatura descreve também polimorfismo genético das subfamílias CYP1A1, CYP3A5, CYP2D6, PON1, GSTM1, GSTT1 e NAT2 (SINGH et al., 2012; SINGH, 2011a).

A Tabela 9 mostra os resultados do teste do cometa na forma de TM e a frequência dos genótipos CYP2C9*1, CYP2C9*2, CYP2C9*3, nos três grupos estudados. A prevalência de genótipos CYP2C9 *1/*2 e *1/*3 mostrou ser estatisticamente maior (teste Qui-quadrado, $p = 0,014$) nos grupos expostos ocupacionalmente às misturas, com e sem OF, apesar dos achados de Singh et al. (2011b) de não-correlação entre a prevalência de genótipos polimórficos entre populações expostas aos praguicidas e não exposta. A Figura 7 apresenta a análise de PCR-RFLP para os alelos da CYP2C9.

Estas variantes alélicas da CYP2C9 foram escolhidas para esta pesquisa devido à maior frequência em populações como relatado por Seng et al. (2003), Singh et al. (2012), Singh et al (2011b). Sullivan-Klose et al. (1996) encontrou, em 8% da população americana, a variante alélica CYP2C9*2 e, em 6%, a variante alélica CYP2C9*3, resultados esses corroborados no presente estudo, em relação à CYP2C9*2.

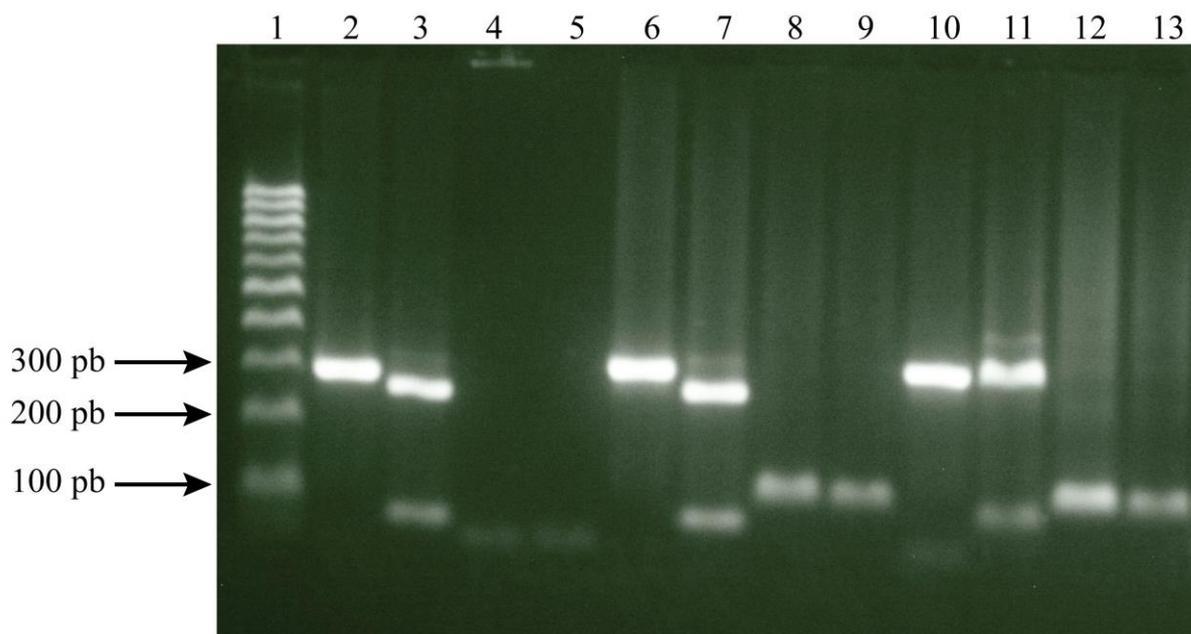
Tabela 9 - Análise polimórfica da enzima CYP2C9 e ensaio do cometa*.

Parâmetros	Expostos à mistura complexa de praguicidas contendo OF	Expostos à mistura complexa de praguicidas, exceto OF	Não expostos ocupacional- mente aos praguicidas	
	(n = 50)	(n = 50)	(n = 50)	
<i>Teste do cometa- Tail Moment</i>				
	$\bar{X} \pm DP$	12,6 ± 2,34	11,4 ± 4,11	7,0 ± 4,35
CYP2C9	Alelo	Alelo	Alelo	
	Alelo	(frequência alélica)	(frequência alélica)	(frequência alélica)
	*1/*1	36 (72%)	32 (64%)	46 (92%)
	*1/*2	4 (8%)	6 (12%)	2 (4%)
	*1/*3	10 (20%)	12 (24%)	2 (4%)

Fonte: Do Autor.

Nota: Média (\bar{X}); Desvio padrão ($\pm DP$). *1/*1 selvagem. *Regional de Saúde de Alfenas-MG, ano de 2014-2015 (n = 150).

Figura 7 - Análise de PCR-RFLP para alelos da CYP2C9.



Fonte: Do Autor.

Nota: Linha 1: marcador de DNA de 100 pb. Gel de agarose corado com SYBR® Green. Linhas 1 e 5 mostram produtos de amplificação de PCR não digeridos pela enzima *ECO* 471 e linhas 3 e 7, não digeridos pela enzima *Kpn* I. Linhas 2 e 6 mostram produtos de amplificação de PCR digeridos pela enzima *ECO* 471 e linhas 4 e 8, digeridos pela enzima *Kpn* I. Pacinete 1 e 2: a porção do amplicon de 315 pb foi digerida pela enzima *ECO* 471, indicando a presença de CYP2C9*1 e ausência de CYP2C9*2; a porção do amplicon 105 pb não foi digerida pela enzima *Kpn* I, indicando a presença de CYP2C9*1.

As frequências alélicas e genotípicas são determinadas e analisadas pelo teste de equilíbrio de *Hardy-Weinberg*, teste de equilíbrio de genética de populações que permite prever frequências genotípicas a partir de frequências alélicas e vice-versa. Assim, todos os três grupos estudados, quando submetidos ao teste, mostraram estar dentro desse equilíbrio, sugerindo a não interferência de fatores externos, como a exposição aos praguicidas, no genótipo da CYP2C9, corroborando os achados de Singh et al. (2011b) e Singh et al. (2012). Assim, esses resultados sugerem que esse polimorfismo seja genético e não por características adquiridas pela exposição aos agentes químicos, todavia há necessidade de outros estudos para verificar a real influência da exposição a tais xenobióticos na determinação de genótipos mutantes na CYP2C9.

Este estudo apresentou aumento significativo nos números de indivíduos mutantes nos dois alelos estudados quando estes se encontravam expostos à praguicidas em comparação com os não expostos. Não foi encontrado estudos na população brasileira rural quanto a análise polimórfica desta enzima e devido a miscigenação desta população não pode-se comparar a outros estudos de populações não miscigenadas. Um fator de exceção ao princípio de *Hardy-Weinberg* é a migração o que aconteceu e acontece de forma intensa nesta região do país. Assim,

sugere-se novos estudos na população brasileira para verificar se as formas mutantes de CYP2C9 são devidas a miscigenação desta população ou devido a exposição aos praguicidas.

Os indivíduos que apresentaram genótipo CYP2C9 *1/*2 e *1/*3 não apresentaram diminuição estatisticamente significativa na atividade das enzimas Ch, quando comparados aos indivíduos *1/*1 (teste Qui-quadrado). Vários fatores que interferem nas atividades das enzimas Ch tais como dose, tempo e frequência de exposição à substância química, bem como fatores toxicocinéticos, podem explicar tais resultados. Singh et al. (2011a) e Singh et al. (2012), avaliaram população de trabalhadores rurais também obtiveram resultados semelhantes a esses.

As alterações em sistemas orgânicos, verificados na avaliação clínica, também não mostraram ter associação significativa, na população que apresenta alelos *1/*2 e *1/*3. Esses alelos polimórficos mostram maior acúmulo de OF no organismo humano, pois essa é uma enzima metabolizadora destes praguicidas, mas nesta população estudada não levou a aumento de alterações de sistemas. As variantes alélicas CYP2C9*2 e *3 codificam enzimas com atividade de 10 a 40% e 5 a 15%, respectivamente (LEE; GOLDSTEIN; PIEPER, 2002; SCORDO et al., 2002; THIJSEN; RITZEN, 2003). A importância funcional demonstrou que o alelo CYP2C9*3, em particular, parece conferir a redução substancial na atividade metabólica, enquanto o alelo CYP2C9*2 produz uma redução intermediária na atividade da enzima, quando comparado com CYP2C9*1 (SINGH et al., 2011a; LEE; GOLDSTEIN; PIEPER, 2002). Investigações *in vivo* demonstraram que o genótipo *3/*3 está associado às alterações na farmacocinética de substratos do CYP2C9 levando a alterações clinicamente significantes (SINGH et al., 2012; SINGH et al., 2011a; LEE; GOLDSTEIN; PIEPER, 2002; SCORDO et al., 2002; THIJSEN; RITZEN, 2003).

Juntamente a estes resultados, a excreção de DETP e DEDTP na urina não se associou (teste Qui-quadrado, $p = 0,378$), com a presença do genótipo *1/*2 e *1/*3. Os fatores já citados e o tempo de afastamento dos praguicidas no momento da coleta das amostras são fatores influenciadores. Não foram encontrados trabalhos na literatura realizando estas associações.

Os trabalhadores com genótipo CYP2C9 *1/*2 e *1/*3 apresentaram maior frequência de MN (teste de *Mann-Whitney*, $p = 0,047$), em relação àqueles com genótipo CYP2C9 *1/*1, no ensaio do citoma. Estes resultados podem indicar um maior risco de genotoxicidade, na exposição aos OF, visto que, como discutido anteriormente, a presença de MN mostra alteração de DNA. O acúmulo de OF, proporcionado pelo polimorfismo CYP2C9, pode aumentar formação de radicais livres e levar a danos cromossômicos e dano inicial no DNA, no processo de carcinogênese química (SINGH et al., 2011b).

No presente estudo, não houve aumento significativo de danos ao DNA relacionadas com genótipos CYP2C9 *2 e *3 quando foi analisado o TM, no ensaio do cometa. Uma hipótese pauta-se no fato destas enzimas codificadas apresentarem baixa atividade e, conseqüente, há uma menor concentração das formas OXONs, do OF, as quais estão associadas à produção de espécies reativas de oxigênio (SINGH et al., 2012). Singh et al. (2011a) e Singh et al (2012) também não encontraram dano aumentado no DNA de trabalhadores rurais expostos aos OF, com polimorfismo de CYP2C9*2 e *3. Esses achados permitem sugerir que os genótipos *1/*2 e *1/*3 não são responsáveis por alterações no TM.

Vários estudos realizaram avaliação de risco de trabalhadores rurais a agrotóxicos utilizando bioindicadores, tais como Benedetti et al. (2013), Lionetto et al. (2013), Huen et al. (2012), Azaroff (1999), Cocker et al. (2002) e Singh et al. (2011b). Neste trabalho, monitorou-se biológica e inovadora, uma população rural, por meio da aplicação de um conjunto de indicadores biológicos, classificados como de dose interna, de efeito, de genotoxicidade e de suscetibilidade e uma avaliação clínica, visando avaliar a exposição e o risco à saúde de trabalhadores expostos aos praguicidas OF. Os resultados das associações e correlações de todas essas determinações mostraram que a exposição dos trabalhadores rurais é perigosa e arriscada, podendo levar a quadros de intoxicações agudas e/ou crônicas, se medidas de prevenção e promoção não forem aplicadas por parte das autoridades competentes.

Assim, diante de todas as evidências de efeitos tóxicos provocados pelos praguicidas aos trabalhadores rurais que podem ser comprovados por esta pesquisa, temos que abordar além da exposição ocupacional, a contaminação alimentar e ambiental que coloca em risco de intoxicação outros grupos populacionais. Merece destaque, a exposição das famílias dos agricultores, da população circunvizinha a uma unidade produtiva e a população em geral, que se alimenta do que é produzido no campo. Portanto, pode-se afirmar que os efeitos dos praguicidas sobre a saúde não dizem respeito apenas aos trabalhadores expostos, mas à população em geral (DA SILVA, et al, 2005).

Para a melhoria da atual situação agrícola brasileira a produção, o meio ambiente e a saúde das populações humanas devem ser consideradas, articuladamente num projeto de sustentabilidade, um compromisso a ser trabalhado e desenvolvido. Para tanto é necessário o exercício de uma abordagem intersetorial e interdisciplinar, envolvendo os níveis da saúde, da agricultura, da ciência e da tecnologia, do meio ambiente, do trabalho e da extensão rural. Isto coloca um grande desafio para os atores sociais interessados na questão: as empresas públicas e privadas, os trabalhadores e suas entidades de representação e organizações não-governamentais, as empresas agrícolas e o Estado, que tem papel de intervir diante de situações

que se caracterizam como danosas à saúde das pessoas e ao meio ambiente (DA SILVA, et al. 2005).

Assim, além da verificação dos danos à saúde e ao meio ambiente produzidos pelas monoculturas e do uso intensivo de praguicidas, é necessário que a produção de conhecimentos incorpore como elemento central a construção e a implementação de alternativas aos sistemas agrícolas convencionais, em particular da economia ecológica. Esta situação mostra a maior vulnerabilidade, e conseqüentemente risco, dos pequenos agricultores quando utilizam estas substâncias, pois abre espaço para a sua inserção no processo de produção de alimentos livres das mesmas. São justamente os pequenos agricultores que estão mais aptos à conversão para sistemas de produção agrícola baseados em princípios agroecológicos (PORTO; SOARES, 2012, DA SILVA et al., 2005).

Porto e Soares (2012), discutem que é necessária a viabilização de políticas públicas que estimulem a produção de alimentos orgânicos, livres de praguicidas, que podem trazer resultados socioambientais sem precedentes para a população, a começar pela inclusão de agricultores marginalizados no atual modelo produtivo.

O aspecto de maior relevância para que a agroecologia se consolide como opção sustentável é a presença de impedimentos à expansão do mercado de alimentos orgânicos, tanto do ponto de vista da produção, quanto do consumo. Assim, o estado deve participar ativamente no processo de rompimento e reversão do modelo de produção hegemônico e de construção de um novo paradigma: o agroecológico. Esse processo, contudo, é gradual e não se resume apenas na proibição, substituição ou redução dos praguicida, mas requer o manejo e o redesenho dos agrossistemas em formas mais complexas que incorporem princípios e tecnologias de base ecológica, assim como instrumentos de médio e longo prazos construídos sob a ótica da economia ecológica. Além disso, é fundamental que a sociedade organizada se mobilize para pressionar e conformar as novas políticas públicas voltadas à transição agroecológica através da atuação de movimentos sociais ligados à reforma agrária, à economia solidária, à agroecologia, à segurança e soberania alimentar, à segurança química e aos pequenos produtores, além de outros grupos ambientalistas, de defesa de consumidores e da saúde pública, dentre outros (PORTO; SOARES, 2012).

6 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que:

- a) Na avaliação da APS dos trabalhadores rurais apenas o “Grau de afiliação” apresentou um escore elevado (≥ 3) mostrando que os 4 atributos essenciais e os 3 atributos derivados da APS não são satisfatórios nesta regional de saúde para assegurar a promoção de saúde desta população;
- b) Na avaliação clínica foram detectadas alterações em 75,7% dos trabalhadores, nos sistemas nervoso central e periférico;
- c) O método analítico desenvolvido para determinação de DAPs mostrou resultados satisfatórios e é uma alternativa para a determinação desses analitos em amostras de indivíduos expostos ocupacionalmente à mistura complexa contendo OF;
- d) As enzimas BChP e AChE apresentaram-se alteradas em 12,8 e 63,8% dos trabalhadores expostos à mistura complexa contendo OF, respectivamente, inferindo a importância destes bioindicadores, principalmente da AChE na investigação de exposição crônica;
- e) Os DAPs urinários foram detectados em cerca de 92% dos trabalhadores expostos à mistura complexa contendo OF mostrando sua utilidade na detecção de exposição a estes praguicidas;
- f) No ensaio de citoma os trabalhadores expostos à mistura complexa contendo OF mostraram alterações nos parâmetros brotamento – botões, cromatina condensada e células cariolíticas quando comparado ao grupo de trabalhadores expostos à mistura complexa sem OF, e em todos os parâmetros citogenéticos, quando comparado ao grupo não-exposto ocupacionalmente, sugerindo uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento do câncer sobre os trabalhadores expostos a praguicidas;
- g) Os resultados do teste do cometa indicam que a exposição ocupacional aos praguicidas induziu a aumento no nível de danos ao DNA, sugerindo uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento do câncer nos trabalhadores expostos a praguicidas;
- h) A prevalência de genótipos CYP2C9 *1/*2 e *1/*3 mostrou ser estatisticamente maior nos grupos expostos à mistura complexa contendo ou não OF, quando

comparados ao grupo não-exposto ocupacionalmente, todavia não demonstrado ser por características adquiridas pela exposição aos praguicidas;

- i) Os trabalhadores com genótipo CYP2C9 *1/*2 e *1/*3 apresentaram maior frequência de MN, no teste do citoma, em relação àqueles com genótipo CYP2C9 *1/*1, sugerindo maior risco de efeitos genotóxicos, nos alelos polimórficos;
- j) A determinação de bioindicadores de dose interna, de efeito, de genotoxicidade, de suscetibilidade e a avaliação clínica, em associação, foram capazes de avaliar a exposição à mistura complexa de praguicidas e a saúde dos trabalhadores rurais, sugerindo que essa exposição é perigosa e arriscada, podendo levar a quadros de intoxicações agudas e/ou crônicas, se medidas de prevenção e promoção não forem aplicadas por parte das autoridades competentes e servem de subsídio para a implantação de uma rede de atenção primária à saúde efetiva.

Como considerações finais, este trabalho vem mostrar a necessidade de uma adequação imediata e efetiva das políticas públicas, no que se refere à saúde do trabalhador rural. Os agricultores autônomos recorrem somente às ESFs, entidades que deveriam estar preparadas para a proteção e a promoção à saúde, mas que, paradoxalmente, encontram-se capacitadas somente para o diagnóstico, quando a doença advinda da exposição aos praguicidas já está instalada. Nesse sentido, os responsáveis pelo presente estudo, subsidiados pelos resultados obtidos, julgam pertinente a implantação de programas de capacitação para toda a equipe de saúde das ESFs, visando atender de forma adequada a população rural. Ainda, sugere-se a inclusão da determinação da atividade das AChE nos procedimentos de serviço do SUS para estes trabalhadores, visto que a atividade enzimática na fração eritrocitária reflete de forma mais fidedigna a exposição crônica e cumulativa.

REFERÊNCIAS

ABDULLAT, I. M.; BATTAH, A. H.; HADIDI, K. A. The use of serial measurement of plasma cholinesterase in the management of acute poisoning with organophosphates and carbamates. **For. Sci. Int.**, v. 162, p. 126 – 130, 2006.

ABHISHEK, S. et al. Association of GSTM1 and GSTT1 gene deletions with susceptibility to DNA damage in the pesticide-exposed workers of Punjab. **Rejuv.Res.** v. 13 (2–3), p. 281–284, 2010.

ALBERTINI, R. J. et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. **Mutat. Res.**, v. 463, p. 111 – 172, 2000.

ANGERER, J; EWERS, U.; WILHELM, M. Human biomonitoring: State of the art. **Int. J. Hyg. Environ. Health**, v. 210, p. 201 – 228, 2007.

APREA, C. et al. Urinary excretion of alkylphosphates in the general population (Italy). **Sci. Tot. Environ.**, v. 177, p. 37 – 41, 1996.

ARAOUD, M.; NEFFETI, F.; DOUKI, W. et al. Factors influencing plasma butyrylcholinesterase activity in agricultural workers. **Ann. Biol. Clin.**, v. 69, p. 159 – 166, 2011.

ATHERTON, K. M. et al. DNA damage in horticultural farmers: a pilot study showing an association with organophosphate pesticide exposure. **Biomarkers**, v. 14, p. 443 – 451, 2009.

AYRES, J. R. C. M. Organização das ações de atenção à saúde: modelos e práticas. **Saúde e Sociedade**, v.18, p. 11 – 23, 2009.

AZAROFF, L. S. Biomarkers of exposure to organophosphorous insecticides among Farmers' Families in rural El Salvador: Factors associated with exposure. **Environ. Res.**, v. 80, p. 138 – 147, 1999.

BALDI, I. et al. Pesticide contamination of workers in vineyards in France. **Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology**, v. 16, p. 115 – 24, 2006.

BARBIANI, R. et al. A produção científica sobre acesso no âmbito do Sistema Único de Saúde do Brasil: avanços, limites e desafios. **Saúde Soc. Sep.**, v. 23, p. 855 – 868, 2014.

BENEDETTI, D. et al. Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: Evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. **Mutat. Res.**, v. 752, p. 28 – 33, 2013.

BOLOGNESI, C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. **Mutat. Res.**, v. 543, p. 251 – 272, 2003.

BOLOGNESI, C. et al. Biomonitoring of genotoxic risk in agricultural workers from five colombian regions: association to occupational exposure to glyphosate. **J. Toxicol. Environ. Health A.**, v. 72, p. 986 – 97, 2009.

BONASSI, S. et al. The Human MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMN(XL)): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. **Mutat. Res.**, v. 728, p. 88 – 97, 2011.

BHUNYA, S. P.; JENA, J. B. Studies on the genotoxicity of monocrotophos, an organophosphate insecticide, in the chick in vivo test system. **Mutation Research**. v. 292, p. 231 – 239, 1993.

BRASIL. Ministério do trabalho e emprego. Norma Regulamentadora n° 06 (NR-6): Equipamento de Proteção Individual - EPI. Portaria SIT n.º 25, de 15 de outubro de 2001. Disponível em: <http://www.mtps.gov.br/images/Documentos/SST/NR/NR6.pdf>. Acesso: 20 Jul. 2016.

BRASIL. Ministério do trabalho e emprego. Norma Regulamentadora n° 07 (NR-7): Programa de Controle Médico de Saúde ocupacional - PCMSO. Portaria SSST n.º 24, de 29 de dezembro de 1994. Disponível em: <http://www.mtps.gov.br/images/Documentos/SST/NR/NR7.pdf>. Acesso: 23 Fev. 2016.

BRASIL. Instituto brasileiro de geografia e estatística (IBGE). **Censo Demográfico 2010**. Disponível em: <<http://noticias.uol.com.br/censo-2010/populacao-urbana-e-rural/mg/>>. Acesso em: 4 Out. 2012.

BRASIL. Instituto brasileiro de geografia e estatística (IBGE). **Relatório desenvolvimento sustentável 2015**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/recursosnaturais/ids/default_2015.shtm. Acesso em: 20 Jul. 2015.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de atenção em saúde. Departamento de atenção básica. **Manual do instrumento de avaliação da atenção primária à saúde** :primarycareassessment tool pcatool. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRIANEZI, G.; CAMARGO, J. L. V. C.; MIOT, H. A. Desenvolvimento e validação de técnica quantitativa de análise de imagem para avaliação do teste do cometa corado pela prata. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 45, p. 325 – 334, 2009.

BURLINSON, B. et al. Fourth International Workgroup on Genotoxicity testing: results of the in vivo Comet assay workgroup. **Mutat. Res.** v. 627, p. 31 – 35, 2007.

CÂMARA, S. A. et al. Exposição à agrotóxicos: determinação de valores de referência para colinesterases plasmática e eritrocitária. **Brasília Médica**, v. 49, p. 163 – 169, 2012.

CASTRO, R. C. L., et al. Avaliação da qualidade da atenção primária pelos profissionais de saúde: comparação entre diferentes tipos de serviços. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 28, p. 1772–1784, 2012.

CELIK, T.; CAVAS, A.; ERGENE-GOZUKARA, S. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells, **Mutagenesis**, v. 18, p. 417 – 421, 2003.

CICCHETTI, R.; BARI, M.; ARGENTIN, G. Induction of micronuclei in bone marrow by two pesticides and their differentiation with CREST staining: an in vivo study in mice. **Mut. Res.**, v. 439, p. 239 – 248, 1999.

COCKER, J. et al. Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides. **Toxicol. Lett.**, v. 134, p. 97 – 103, 2002.

COLLINS, A. R. et al. The comet assay: topical issues. **Mutagenesis**, v. 23, p. 143 – 151, 2008.

CONAB. Companhia nacional de abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira café 2010, quarta estimativa. **CONAB**, Brasília, 2010.

CORRION, M. L. et al. Detection of prenatal exposure to several classes of environmental toxicants and their metabolites by gas chromatography–mass spectrometry in maternal and umbilical cord blood. **J. Chromatogr. B.**, v. 822, p. 221 – 229, 2005.

DA SILVA, J. et al. Evaluation of genetic damage in a Brazilian population occupationally exposed to pesticides and its correlation with polymorphisms in metabolizing genes. **Mutagenesis**, v. 23, p. 415 – 422, 2008.

DA SILVA, J. M. et al. Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. **Ciênc. Saúde Coletiva**, v. 10, n. 4, 2005.

DE ALWIS, G. K. H.; NEEDHAM, L. L.; BARR, D. B. Automated solid phase extraction, on-support derivatization and isotope dilution-GC/MS method for the detection of urinary dialkyl phosphates in humans. **Talanta**, v. 77, p. 1063 – 1067, 2009.

DELLA ROSA, H. V. et al. Monitoramento ambiental e biológico. In: Oga, S. **Fundamentos de toxicologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2014. cap. 3, p. 252–275.

DREVENKAR, V.; STENGL, B.; FROBE, Z. Microanalysis of dialkylphosphorus metabolites of organophosphorus pesticides in human blood by capillary gas chromatography and by phosphorus-selective and iontrap detection. **Anal. Chim. Acta.**, v. 290, p. 277 – 286, 1994.

ECOBICHON, D. J. Toxic effects of pesticides. In: AMADUR, M. O.; DOULL, J.; KLASSEN, C. D. **Cassarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 5.ed. New York: Pergamon Press, 2003. p. 643 – 689.

ELLMAN, G. L. et al. New and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochem. Pharmacol.**, v. 7, p. 88 – 95, 1961.

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

FENECH, M. et al. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures, **Mutat. Res.** v. 534, p. 65 – 75, 2003a.

FENECH, M. et al. Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes. Results of an international slide-scoring exercise by the HUMN project, **Mutat. Res.**, v. 534, p. 45 – 64, 2003b.

GARFITTI, S. J. et al. Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. **Toxicol. Let.**, v. 134, p. 105 – 113, 2002.

GÓMEZ-ARROYO, S. et al. Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. **Mut. Res.**, v. 466, p. 117–124, 2000.

HARLIN, K. S.; ROSS, P. F. Enzymatic-spectrophotometric method for determination of cholinesterase activity in whole blood: a collaboration study. **J. Assoc. of Anal. Chem.** v. 73, p. 616 – 619, 1990.

HARZHEIM, E. et al. Consistência interna e confiabilidade da versão em português do Instrumento de Avaliação da Atenção Primária (PCATool-Brasil) para serviços de saúde infantil. **Cad. Saúde Pública**, v. 22, p. 1649 – 1659, 2006.

HE, F. Biological monitoring of exposure to pesticides: current Issues. **Toxicol. Lett.**, v. 108, p. 277 – 283, 1999.

HELMA, C.; UHL, M. A public domain image-analysis program for the single-cell gel-electrophoresis (comet) assay. **Mutation Research**, v. 466, p. 9 – 15, 2000.

HERNÁNDEZ, A. F. et al. Effect of long-term exposure to pesticides on plasma esterases from plastic greenhouse workers. **J. Toxicol. Environ. Health A.**, v. 67, p. 1095 – 1108, 2004.

HERNÁNDEZ, A. F. et al. Changes in erythrocyte enzymes in humans long-term exposed to pesticides: influence of several markers of individual susceptibility. **Toxicol. Lett.**, v. 159, p. 13 – 21, 2005.

HOLLAND, N. et al. The micronucleus in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. **Mutat. Res.**, v. 659, p. 93 – 108, 2008.

HUEN, K. et al. Organophosphate pesticide levels in blood and urine of women and newborns living in an agricultural community. **Environ. Res.**, v. 117, p. 8 – 16, 2012.

IARC. Agência internacional para pesquisa em câncer. IARC Monographs Volume 112: evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides 2015. Disponível em: <<http://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/MonographVolume112.pdf>>. Acesso em: 2 de Aug. 2015.

JACOBSON, L. S. V. et al. Comunidade pomerana e uso de agrotóxicos: uma realidade pouco conhecida. **Ciênc. saúde coletiva**, v. 14, p. 2239 – 2249, 2009.

JAKUBOWSKI, M.; TRZCINKA-OCHOCKA, M. Biological monitoring of exposure: Trends and key developments. **Journal of Occupational Health**, v. 47, n. 1, p. 22–48, 2005.

KASSOUF, A. L. Acesso aos serviços de saúde nas áreas urbana e rural do Brasil. **Rev. Econ. Sociol. Rural**, Brasília, v. 43, p. 29 – 44, 2005.

KAUSAR, A. et al. Changes in buccal micronucleus cytome parameters associated with smokeless tobacco and pesticide exposure among female tea garden workers of Assam, India. **Int. J. Hyg. Environ. Health**, v. 217, p. 169 – 175, 2014.

KEHDY, F. S. et al. Study of the cytogenetic effects of occupational exposure to pesticides on sanitation workers in Belo Horizonte, Brazil. **Genet. Mol. Res.**, v. 6, p. 581 – 593, 2007.

KIRSCH-VOLDERS, M. et al. Commentary: Critical questions, misconceptions and a road map for 4 improving the use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus 5 assay for in vivo biomonitoring of human exposure to genotoxic 6 chemicals - A HUMN project perspective. **Mutat. Res.**, v.759, p. 49 – 58, 2014.

KONCA, K. et al. A cross-plataform public domain PC image-analysis program for the comet assay. **Mutation Research**, v. 534, p. 15 – 20, 2003.

KOUREAS, M. et al. Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. **Toxicol. Lett.**, v. 210, p.155 – 168, 2012.

KRIEGER, R. I. et al. Implications of estimates of residential organophosphate exposure from dialkylphosphates (DAPs) and their relevance to risk. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 64, p. 263 – 266, 2012.

KUGLER, H. Paraíso dos praguicidas. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 21, 2012.

LACASSIE, E. et al. Sensitive and specific multiresidue methods for the determination of pesticides of various classes in clinical and forensic toxicology. **For. Sci. Int.** v. 121, p. 116 – 125, 2001.

LACASANÃ et al. Interaction between organophosphate pesticide exposure and PON1 activity on thyroid function. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 249, p.16 – 24, 2010.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3ª ed. São Paulo: Manole, 1997. p.161-175.

LEÃO, C. D. A. et al. Atributos da atenção primária na assistência à saúde da criança: avaliação dos cuidadores. **Rev. Bras. Saude Mater. Infant.**, v. 11, p. 323 – 334, 2011.

LEE, C. R.; GOLDSTEIN, J. A.; PIEPER, J. A. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in vitro and human data. **Pharmacogenetics**, v. 2012, p. 251 – 263, 2002.

LEE, W. J. et al. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 96, p. 1781 – 1789, 2004a.

LEE, W. J. et al. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the Agricultural Health Study. **Am. J. Epidemiol.**, v. 159, p. 373 – 380, 2004b.

LEITE, E. M. A. Monitoramento biológico da Exposição Ocupacional In: MOREAU, R. L. M; SIQUEIRA, M. E. P. B. **Toxicologia Analítica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2016. p. 85 – 94.

LIMA, E. F. A. et al. An assessment of primary care attributes from the perspective of female healthcare users. **Rev. Lat. Am. Enfermagem**, v. 23, p. 553 – 59, 2015.

LIONETTO, G. M. et al. Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: New insights and future perspectives. **Bio. Med. Research International**. v. 2013, p. 1 – 8, 2013.

LIU, Y.J. et al. GSTP1 genetic polymorphism is associated with a higher risk of DNA damage in pesticide exposed fruit growers. **Cancer Epidemiol.Biom.Prev.** v. 15, p. 659–666, 2006.

MANN, J.; TARANTOLA, D. J. M.; NETTER, T. W. **A AIDS no mundo: história social da AIDS**. Relumé Dumará: Rio de Janeiro, 1993.

MANNO, et al. Biomonitoring for occupational health risk assessment (BOHRA). **Toxicology Letters**, v. 192, p. 3 – 16, 2010.

MARGARITI, M. G.; TSATSAKI, A. M. Assessment of long-term subacute exposure to dimethoate by hair analysis of dialkyl phosphates DMP and DMTP in exposed rabbits: The effects of dose, dose duration and hair colour. **Environ. Res.**, v. 109, p. 821 – 829, 2009.

MARAVGAKIS, G. et al. Diethyl phosphates accumulation in rabbits' hair as an indicator of long term exposure to diazinon and chlorpyrifos. **For. Sci. Int.**, v. 218, p.106 – 110, 2012.

MARONI, M. et al. Organophosphoruspesticides. **Toxicology**, v.143, p. 9 – 37, 2000.

MARTÍNEZ-VALENZUELA, C. et al. Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. **Environ. Int.**, v. 35, p. 1155 – 1159, 2009.

MCCAULEY, L. et al. Analysis of pesticide exposure and DNA damage in immigrant farmworkers. **J. Agromed.**, v. 13, p. 237 – 246, 2008.

MCKINLAY, R. et al. Endocrine disrupting pesticides: implications for risk assessment. **Environ. Int.**, v. 34, p. 168 – 183, 2008.

MEDRONHO, R. et al. **Epidemiologia**. 2. ed. Atheneu, São Paulo, 2009.

MENDES, E. V. As redes de atenção à saúde. **Ciênc. Saúde Coletiva**, v. 15, p. 2297 – 2305, 2010.

MEYER, A.; SEIDLER, F. J; SLOTKIN, T. A. Developmental effect of chlorpyrifos extend beyond neurotoxicity: critical periods of immediate and delayed-onset effects on cardiac and hepatic cell signaling. **Environ. Health Perspectives**, v. 112, p. 170 – 178, 2004.

MEYER, A. et al. Developmental neurotoxicity elicited exposure to chlorpyrifos: when is adenylyl cyclase a target? **Environ. Health Perspectives**, v. 112, p. 295 – 301, 2003.

MIRANDA, J. et al. Muscular strength and vibration thresholds during two years after acute poisoning with organophosphate insecticides. **Occup. Environ. Med.**, v. 61, p. 1 – 6, 2004.

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 268, p. 157 – 177, 2013.

MOUNT, M. E. Comparison of Measurement of Dialkyl Phosphates in Milk/Urine and Blood Cholinesterase and Insecticide Concentrations in Goats Exposed to the Organophosphate Insecticide, Imidan. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 12, p. 236 – 244, 1984.

MUNIZ, J. F. et al. Biomarkers of oxidative stress and DNA damage in agricultural workers: A pilot study. **Toxicol. Applied Pharmacol.**, v. 227, p. 97 – 107, 2008.

ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **TG 489: In vivo Mammalian alkaline comet assay**. Paris, 2014.

OH, M. S. Avaliação da função renal, da água, dos eletrólitos e do equilíbrio ácido-básico: In: McPHERASON, R.; PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**, 21. ed. Barueri-SP: Manole, 2012. p.171 – 196.

OLIVEIRA, M. L.; MACHADO NETO, J. G. Segurança na aplicação de agrotóxicos em cultura de batata em regiões montanhosas. **Rev. Bras. Saúde Ocup.**, v. 30, p. 15 – 25, 2005.

OLSSON, A. O. et al. A liquid chromatography/electrospray ionization–tandem mass spectrometry method for quantification of specific organophosphorus pesticide biomarkers in human urine. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 376, p. 808 – 815, 2003.

OSTLING, O.; JOHANSON, K. J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 123, p. 291 – 298, 1984.

PARRY, J. M.; SORRS, A. The detection and assessment of aneuploidic potential of environmental chemicals: the European community aneuploidy project. **Mut.Res.**, v. 161, p. 193 – 198, 1993.

PASTOR, S. et al. Biomonitoring of four European populations occupationally exposed to pesticides: use of micronuclei as biomarkers. **Mutagenesis**. v. 18, p. 249 – 258, 2003.

PAULA, W. K. A. S. et al. Primary health care assessment from the users' perspectives: a systematic review. **Rev. Esc. Enferm. USP**, v.50, 2016.

PIGNATI, W. A.; MACIEL, R. H. M. O.; RIGOTTO, R. M. Saúde do trabalhador. In: **Rouquayrol – Epidemiologia & Saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: MedBook, 2013. p. 355 – 381.

PINCUS, M. T.; TIerno, P.; DUFOUR, D. R. Avaliação da função hepática. In: McPHERASON, R.; PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**, 21. ed., Barueri-SP: Manole, 2012. p. 304 – 326.

PIPERAKIS, S. M. et al. Effects of pesticides on occupationally exposed humans. **Sci. World J.**, v. 6, p. 1211 – 1220, 2006.

PORTO, M. F.; SOARES, W. L. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: um panorama da realidade agrícola brasileira e propostas para uma agenda de pesquisa inovadora. **Rev. Bras. Saúde Ocup.**, v.37, n.125, 2012.

REEMTSMA, T., LINGOTT, J., ROEGLER, S. Determination of 14 monoalkyl phosphates, dialkyl phosphates and dialkyl thiophosphates by LC-MS/MS in human urinary samples. **Science of the Total Environment**. v. 409, p.1990 – 1993, 2011.

REMOR, A. P. et al. Occupational exposure of farm workers to pesticides: biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. **Environ. Int.**, v. 35, p. 273 – 278, 2009.

RICHARDSON, E. R.; SEIBER, J. N. Gas chromatographic determination of organophosphorus insecticides and their dialkyl phosphate metabolites in liver and kidney samples. **J. Agric. Food Chem.** v. 41, p. 416 – 422, 1993.

ROHR, P., et al. BER gene polymorphisms (OGG1 Ser326Cys and XRCC1 Arg194Trp) and modulation of DNA damage due to pesticides exposure. **Environ. Mol. Mutagen**, v. 52, p. 20 – 27, 2011.

SANTOS, M. G. **Análise de dietiltiofosfato e dietilditiofosfato urinários empregando MISPE e GC-MS e estudo das correlações desses metabólitos com colinesterases sanguíneas e frequência de micronúcleos em ratos expostos a dissulfoton**. 2012. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Alfenas-MG, Alfenas-MG, 2012.

SAILAJA, N. et al. Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. **Mut. Res.**, v. 609, p.74 – 80, 2006.

SCARPATO, R. et al. Cytogenetic monitoring of a group of Italian floriculturists: no evidence of DNA damage related to pesticide exposure. **Mut. Res.**, v. 367, p. 73 – 82, 1996.

SCORDO, M. G. et al. Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance. **Clin. Pharmacol. Ther.**, v. 72, p. 702 – 710, 2002.

SEEMAN, T. et al. Education, income and ethnic differences in cumulative biological risk profiles in a national sample of us adults: NHANES III (1988–1994). **Soc. Sci. Med.**, v. 66, p. 72 – 87, 2008.

SENG, K. C. et al. Frequency of cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) alleles in three ethnic groups in Malaysia. **Asia Pac. J. Mol. Biol. Biotechnol.**, v.11, p. 83 – 91, 2003.

SHADNIA, S. E. et al. Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorous insecticide formulators. **Hum. Exp. Toxicol.**, v. 24, p. 439 – 445, 2005.

SHIMIZU, N. et al. When, where and how the bridge breaks: anaphase bridge breakage plays a crucial role in gene amplification and HSR generation. **Exp. Cell Res.**, v. 302, p. 233 – 243, 2005.

SILVA, E. S. Inseticidas organofosforados e carbamatos/Determinação da atividade de colinesterases sanguíneas por colorimetria, potenciometria e espectrofotometria. In: MOREAU, R. L. M; SIQUEIRA, M. E. P. B. **Toxicologia Analítica**. 2. ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 291 – 296, 2016.

SILVÉRIO, A. C. P. et al. Dialkyl phosphates determination by gas chromatography: Evaluation of a microwave-assisted derivatization. **J. Sep. Sci.**, v. 38, p. 2664 – 2669, 2015.

SINGH, S. et al. Influence of CYP2C9, GSTM1, GSTT1 and NAT2 genetic polymorphisms on DNA damage in workers occupationally exposed to organophosphate pesticides. **Mut. Res.**, v. 741, p. 101 – 108, 2012.

SINGH, S. et al. DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v. 31, p. 278 – 285, 2011a.

SINGH, S. Role of genetic polymorphisms of CYP1A1, CYP3A5, CYP2C9, CYP2D6, and PON1 in the modulation of DNA damage in workers occupationally exposed to organophosphate pesticides. **Toxicol. Applied Pharmacol.**, v. 257, p. 84 – 92, 2011b.

SINITOX. Sistema Nacional de informação toxico farmacológica. **Registro de intoxicações-dados nacionais- 2012**. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/sinitox/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=411>. Acesso em: 2 de ago. 2015.

STARFIELD, B. **Atenção primária: equilíbrio entre necessidades de saúde, serviços e tecnologia**. Brasília: Organização das nações unidas para a educação, a ciência e a cultura/Ministério da Saúde, 2002.

STORM, J. E.; ROZMAN, K. K.; DOULL, J. Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red blood cell acetylcholinesterase. **Toxicology**, v. 150, p. 1 – 29, 2000.

STRELITZ, J.; ENGEL, L. S.; KEIFER, M. C. Blood acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as biomarkers of cholinesterase depression among pesticide handlers **Occup. Environ. Med.**, v. 71, p. 842 – 847, 2014.

SULLIVAN-KLOSE et al. The role of the CYP2C9-lue allelic variant in the tolbutamide polymorphism. **Pharmacogenetics**, v. 6, p. 341 – 349, 1996.

THIJSEN, H. H.; RITZEN, B. Acenocumarol pharmacokinetics in relation to cytochrome P450 2C9 genotype. **Clin. Pharmacol. Ther.** v. 74, p. 61 – 68, 2003.

THOMAS, P. et al. The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. **Mutat. Res.**, v. 638, p. 37 – 47, 2008.

TIMCHALK, C. et al. Comparative pharmacokinetics of the organophosphorus insecticide chlorpyrifos and its major metabolites diethylphosphate, diethylthiophosphate and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in the rat. **Toxicology**. v. 237, p. 145–157, 2007.

TITENKO-HOLLAND, N. et al. Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay in vitro and in vivo: A study of malathion-exposed workers. **Mut.Res.**, v. 388, p.85 – 95, 1997.

TSATSAKIS, A. M. et al. Determination of dialkyl phosphates in human hair for the biomonitoring of exposure to organophosphate pesticides. **J. Chromatog. B.**, v. 878, p.1246 – 1252, 2010.

U.S. EPA. U.S. Environmental protection agency. About Pesticides – “What is a Pesticide?”, 2016. Disponível em: www.epa.gov/pesticides/about/index.htm. Acesso em: 2 de Jul. 2016.

VALE, J. A. Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus (OP) insecticide poisoning. **Toxicol. Lett.**, v.102, p. 649 – 652, 1998.

VALVERDE, M.; ROJAS, E. Environmental and occupational biomonitoring using the Comet assay. **Mutation Research**, v. 681, p. 93 – 109, 2009.

VEIGA, M. M. et al. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 1.22, p. 2391 – 2399, 2006.

VEIGA, M. M. et al. A contaminação por agrotóxicos e os equipamentos de proteção individual (EPIs). **Rev. Bras. Saúde Ocup.**, v. 32, p. 57 – 68, 2007.

VIKRANT, S. Hepato-renal toxicity-associated with methyl parathion exposure. **Renal Failure**, v. 37, p. 355 – 356, 2015.

VILELA, P. S., RUFINO, J. L. S. Caracterização da Cafeicultura de Montanha de Minas Gerais Belo Horizonte: **INAES**, 300 f, 2010.

WONG, R.H., et al.. Polymorphisms in metabolic GSTP1 and DNA-repair XRCC1 genes with an increased risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. **Mut.Res.** v. 654, p. 68–75, 2008.

WU, C. et al. GC-FPD measurement of urinary dialkylphosphate metabolites of organophosphorous pesticides as pentafluorobenzyl derivatives in occupationally exposed workers and in a general population in Shanghai (China). **J. Chromatogr. B**, v. 878, p. 2575 – 2581, 2010.

YUAN, F. et al. Analysis of awareness of health knowledge among rural residents in Western China. **BMC Public Health**. v. 15, p. 55, 2015.

ZELJEZIC, D.; BJELIS, M.; MLADINIC, M. Evaluation of the mechanism of nucleoplasmic bridge formation due to premature telomere shortening in agricultural workers exposed to mixed pesticides: Indication for further studies. **Chemosphere**, v. 120, p. 45 – 51, 2015.

APÊNDICE

APÊNDICE A - FICHA DE INVESTIGAÇÃO DE EXPOSIÇÃO AOS PRAGUICIDAS

(Quando a questão não se aplicar anotar o número 99)

I. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

1. Data:		2. Nº:	
3. Nome do município de residência:	3.1 ()	(1)Zona Rural	(2)Zona urbana
4. Endereço: (Rua, Av. etc.):			Nº:
5. Bairro:	6. Ponto de Referência:	7. Telefone:	
8. Nome do município onde trabalha:		9. Local de Trabalho:	

II. DADOS DO PACIENTE

10. Nome do Paciente:		11. Sexo: ()	(1)M	(2)F
12. Gestante: ()			(1)Sim	(2)Não
13. Data de Nascimento:	14. Idade:	15. Anos de estudo*:		
16. Tabagismo: ()	16.1 ()Atual	16.2 ()Anterior	(1)Sim	(2)Não
17. Etilismo: ()	17.1 ()Atual	17.2 ()Anterior	(1)Sim	(2)Não
18. Ingestão de café: ()	18.1 Quantidade:	ml/dia	(1)Sim	(2)Não

*A correspondência é feita de tal modo que cada série concluída com aprovação corresponde a 1 ano de estudo.

III. DADOS OCUPACIONAIS

19. Relação de Trabalho: ()	(1)Proprietário	(2)Assalariado	(3)Meeiro/Arrendatário	(4)Volante
	(5)Outro:			
20. Função: ()	(1)Administrativa	(2)Téc.Agrícola/Agrônomo	(3)Aplicador na Pecuária	
	(4)Puxa Mangueira	(5)Aplicador/Preparador de Calda	(6)Outros: (Agricultura Familiar)	
21. Contato com Praguicidas: ()			(1)Sim	(2)Não
22. Há quanto tempo tem contato com praguicidas(venenos)?anos				
23. Frequência do contato com praguicidas: (Anotar valor da multiplicação ano/meses/dias): ()				
Quantos meses por ano?		Quantos dias por mês?		Quantas horas por dia?
24. Quando foi a última vez que teve contato (em dias) com um praguicida?				
25. Com qual produto teve contato pela última vez?				

26. Como aplica os produtos? ()		(1) Bomba costal(mochila)	(2) Mangueira	(3) Trator sem cabide		
(4) Trator com cabine fechada		(5) Outros (especificar):				
27. Praguicidas de maior utilização (até três)	27.1 Nome comercial:					
	27.2 Princípio Ativo ou Classe Toxicológica:					
	27.3 Cultura/Lavoura:					
28. Principal Via de Exposição: ()		(1) Cutânea	(2) Digestiva	(3) Respiratória	(4) Outra:	
29. Já ficou doente por causa do veneno? ()				(1) Sim	(2) Não	
30. Quantas vezes você ficou doente por causa do veneno? ()			(1) Uma única vez	(2) Mais de uma vez		
31. Alguma vez teve que ser internado? ()				(1) Sim	(2) Não	
32. Quantas vezes? ()			(1) Uma única vez	(2) Mais de uma vez		
33. Há quanto tempo isto aconteceu? ()		(1) Há menos de 10 anos	(2) Há mais de 10 anos			
34. Tipo de Contato: ()			(1) Direto	(2) Indireto	(3) Sem contato	
35. Utiliza Equipamentos de Proteção Individual: ()		35.1 () Roupas impermeáveis apropriadas				
35.2 () Bota apropriada		35.3 () Luvas		35.4 () Máscaras		
35.5 () Óculos de proteção		35.6 () Protetor auricular		(1) Completo	(2) Incompleto	(3) Não

IV. DADOS CLÍNICOS

36. Apresenta Doença Cardiovascular: ()		36.1 () Hipertensão arterial (pressão alta)					
36.2 () Hipotensão arterial (Pressão baixa)		36.3 () Arritmia (batedeira)		(1) Sim	(2) Não		
37. Apresenta algum sinal/sintoma referente ao Sistema Nervoso Central Periférico? ()							
37.1 () Dor de cabeça		37.2 () Fraqueza muscular		37.3 () Tremedeira			
37.4 () Tremor muscular?...Palpebral?			37.5 () Visão Turva/Vista embaçada				
37.6 () Agitação/Irritabilidade		37.7 () Vertigens/Tonturas		37.8 () Formigamento em MMSS			
37.9 () Incoordenação Motora (Se não compreende pergunta, faça o teste Índice-nariz.)				(1) Sim	(2) Não		
38. Do Aparelho Digestório? ()		38.1 () Cólicas/Dor de barriga		38.2 () Dor de estômago			
38.3 () Azia/Queimação		38.4 () Náuseas/Enjoo		38.5 () Vômito			
				38.6 () Diarreia		(1) Sim	(2) Não
39. Do Aparelho Respiratório? ()		39.1 () Falta de ar		39.2 () Irritação Nasal (coceira/ardência)			

39.3() Catarro ou escarro		39.4() Tosse		(1)Sim	(2)Não
40. Do Aparelho Auditivo: ()	40.1() Diminuição da audição	40.2() Zumbido	(1)Sim	(2)Não	
41. De Pele e Mucosa? O Sr (a) tem alguma coceira relacionada ao uso do agrotóxico? ()					
41.1() A coceira veio depois de algum tempo que o sr(a) começou a trabalhar com o produto?(DC Sensibilizante)					
41.2 () Ou ela aparece logo que usa/prepara o produto?(DC Irritativa)					
41.3 () O Sr (a) tem irritação ocular (coceira, vermelhidão...), por causa do produto?				(1)Sim	(2)Não
42. Do Aparelho Urinário:()		42.1 () Diminuição da urina (pouco)	42.2() Urina escura/com sangue		
42.3 () Outro:				(1)Sim	(2)Não
43.Exposição Raio X ()		43.1 Data da última exposição:		(1)Sim	(2)Não

V. NEOPLASIA

44. Tem/Teve Câncer? ()		44.1 Qual Tipo?			
45. Alguém da Família tem/teve Câncer? ()			45.1 Qual Tipo?		
45.2 É da Região? ()				(1)Sim	(2)Não

VI. DADOS LABORATORIAIS

Resultado do Exame de Colinesterase (Método de Ellman)		VR	IBMP
46.1Ch-T		15,5 – 31	25% de inibição da atividade da Ch-T
46.2Ch- E		32 – 58	30% de inibição da atividade Ch-E
46.3Ch-P		1,3 – 7,8	50% de inibição da atividade Ch-P

47. AST:	48.ALT:
49. γ- GT:	50. CREATININA:

VII. CONDUTA

51. Encaminhado ao Ambulatório de Doença Ocupacional? ()	(1)Sim	(2)Não
---	--------	--------

VIII. AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

52. Nos últimos 7 dias, em quantos dias você comeu os seguintes alimentos ou bebidas?								
ALIMENTO/BEBIDA	Não comi	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias	Todos os 7
1. Salada crua (alface, tomate, cenoura, pepino, repolho, etc.).								

2. Legumes e verdura cozidos (couve, abóbora, chuchu, brócolis, espinafre, etc.) (não considerar batata e mandioca)								
3. Frutas frescas ou salada de frutas								
4. Feijão								
5. Leite ou iogurte								
6. Batata frita, batata de pacote e salgados fritos (coxinha, quibe, pastel etc.)								
7. Hambúrguer e embutidos (salsicha, mortadela, salame, presunto, linguiça etc.)								
8. Bolachas/biscoitos salgados ou salgadinhos de pacote								
9. Bolachas/biscoitos doces ou recheados, doces, balas e chocolates (em barra ou bombom)								
10. Refrigerante (não considerar <i>diet</i> ou <i>light</i>)								

IX. DADOS ANTROPOMÉTRICOS

Peso	
Altura	
53. IMC	
54. CA	

ANEXOS

ANEXO A - PCATool - Brasil

O instrumento utilizado para a avaliação da Atenção Primária à Saúde, PCATool - Brasil, encontra-se na íntegra a seguir:

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA

PCATool - Brasil versão Adulto

A – GRAU DE AFILIAÇÃO

A1 – Há um médico/enfermeiro ou serviço de saúde onde você geralmente vai quando fica doente ou precisa de conselhos sobre a sua saúde?

() Não

() Sim (Por favor, dê o nome e endereço)

Nome do profissional ou serviço de saúde:

Endereço:

A2 – Há um médico/enfermeiro ou serviço de saúde que o/a conhece melhor como pessoa?

() Não

() Sim, mesmo médico/enfermeiro/serviço de saúde que acima

() Sim, médico/enfermeiro/serviço de saúde diferente (Por favor, dê o nome e endereço)

Nome do profissional ou serviço de saúde:

Endereço:

A3 – Há um médico/enfermeiro ou serviço de saúde que é mais responsável por seu atendimento de saúde?

() Não

() Sim, mesmo que A1 & A2 acima.

() Sim, o mesmo que A1 somente.

() Sim, o mesmo que A2 somente.

Sim, diferente de A1 & A2 (Por favor, dê o nome e endereço).

Nome do profissional ou serviço de saúde:

Endereço:

Para o entrevistador: IDENTIFICAÇÃO DO SERVIÇO DE SAÚDE OU MÉDICO/ENFERMEIRO A SER AVALIADO AGORA, o entrevistador identifica o serviço de saúde que será avaliado, conforme as orientações abaixo:

--- Se o entrevistado indicou o mesmo serviço de saúde nas **três** perguntas, continue o restante do questionário sobre esse médico/enfermeiro ou serviço de saúde. (**Preencha o item A5**).

--- Se o entrevistado respondeu **duas** perguntas iguais, continue o restante do questionário sobre esse médico/enfermeiro ou serviço de saúde (**Preencha o item A5**).

--- Se todas as respostas forem **diferentes**, continue o restante do questionário sobre o médico/enfermeiro ou serviço de saúde identificado na pergunta A1 (**Preencha o item A5**).

--- Se o entrevistado respondeu **NÃO a duas** perguntas, continue o restante do questionário sobre esse médico/enfermeiro ou serviço de saúde identificado na pergunta à qual o entrevistado respondeu SIM. (**Preencha o item A5**).

--- Se o entrevistado responder **NÃO** à pergunta **A1** e indicar respostas diferentes para as perguntas A2 e A3 continue o restante do questionário sobre esse médico/enfermeiro ou serviço de saúde indicado nas respostas A3 (**Preencha o item A5**).

--- Se o entrevistado respondeu **NÃO a todas as três** perguntas, por favor pergunte o nome do último médico/enfermeiro ou serviço de saúde onde consultou e continue o restante do questionário sobre esse médico/enfermeiro ou serviço de saúde (**Preencha o item A4 e A5**).

A4 – Nome do médico/enfermeiro ou serviço de saúde procurado pela última vez:

Esclareça ao entrevistado que:

A partir de agora, todas as perguntas seguintes serão sobre o(a):

A5 – (“nome do médico/enfermeiro/serviço de saúde”). (**Vá para a Seção B**).

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA					
PCATool - Brasil versão Adulto					
B – ACESSO DE PRIMEIRO CONTATO – UTILIZAÇÃO					
Entrevistador – para todas as próximas perguntas use o Cartão Resposta.					

Por favor, indique a melhor opção:	com certeza, sim	Provavelmente, sim	Provavelmente, não	com certeza, não	Não sei, não lembro
B1 – Quando você necessita de uma consulta de revisão (consulta de rotina, check-up), você vai ao seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” antes de ir a outro serviço de saúde?	4	3	2	1	9
B2 – Quando você tem um novo problema de saúde, você vai ao seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” antes de ir a outro serviço de saúde?	4	3	2	1	9
B3 – Quando você tem que consultar um especialista, o seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” tem que encaminhar você obrigatoriamente?	4	3	2	1	9

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA					
PCATool- Brasil versão Adulto					
C – ACESSO DE PRIMEIRO CONTATO – ACESSIBILIDADE					
Entrevistador – para todas as próximas perguntas use o Cartão Resposta.					

Por favor, indique a melhor opção:	com certeza, sim	Provavelmente, sim	Provavelmente, não	com certeza, não	Não sei, não lembro
C1 – O “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” fica aberto no sábado ou no domingo?	4	3	2	1	9
C2 – O “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” fica aberto de segunda à sexta até às 20 horas?	4	3	2	1	9
C3 – Quando o seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” está aberto e você fica doente, alguém de lá atende você no mesmo dia?	4	3	2	1	9
C4 – Quando o seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” está aberto, você consegue orientação rápida pelo telefone se precisar falar com ele?	4	3	2	1	9
C5 – Quando o seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” está fechado, existe um número de telefone para o qual você possa ligar quando fica doente?	4	3	2	1	9
C6 – Quando o seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” está fechado no sábado e domingo e você fica doente, alguém deste serviço atende você no mesmo dia?	4	3	2	1	9
C7 – Quando o seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” está fechado e você fica doente durante a noite, alguém deste serviço atende você naquela noite?	4	3	2	1	9
C8 – É fácil marcar hora para uma consulta de revisão (consulta de rotina, “check-up”) neste “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”?	4	3	2	1	9
C9 – Quando você chega no seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”, você tem que esperar mais de 30 minutos para consultar com o médico ou enfermeiro (sem contar triagem ou acolhimento)?	4	3	2	1	9
C10 – Você tem que esperar por muito tempo, ou falar com muitas pessoas para marcar hora no seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”?	4	3	2	1	9
C11 – É difícil para você conseguir atendimento médico do seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” quando pensa que é necessário?	4	3	2	1	9
C12 – Quando você tem que ir ao “nome do médico / enfermeira / local”, você tem que faltar ao trabalho ou à escola para ir ao serviço de saúde?	4	3	2	1	9

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA

PCATool - Brasil versão Adulto

D – LONGITUDINALIDADE

Entrevistador – para todas as próximas perguntas use o Cartão Resposta.

Por favor, indique a melhor opção:	com certeza, sim	Provavelmente, sim	Provavelmente, não	com certeza, não	Não sei, não lembro
D1 – Quando você vai ao seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”, é o mesmo médico ou enfermeiro que atende você todas às vezes?	4	3	2	1	9
D2 – Você acha que o seu “médico/enfermeiro” entende o que você diz ou pergunta?	4	3	2	1	9
D3 – O seu “médico/enfermeiro” responde suas perguntas de maneira que você entenda?	4	3	2	1	9
D4 – Se você tiver uma pergunta, pode telefonar e falar com o médico ou enfermeiro que melhor conhece você?	4	3	2	1	9
D5 – O seu “médico/enfermeiro” lhe dá tempo suficiente para falar sobre as suas preocupações ou problemas?	4	3	2	1	9
D6 – Você se sente à vontade contando as suas preocupações ou problemas ao seu “médico/enfermeiro”?	4	3	2	1	9
D7 – O seu “médico/enfermeiro” conhece você mais como pessoa (um ser humano) do que somente como alguém com um problema de saúde (doente)?	4	3	2	1	9
D8 – O seu “médico/enfermeiro” sabe quem mora com você?	4	3	2	1	9
D9 – O seu “médico/enfermeiro” sabe quais problemas são mais importantes para você	4	3	2	1	9
D10 – O seu “médico/enfermeiro” conhece a sua história médica completa?	4	3	2	1	9
D11 – O seu “médico/enfermeiro” sabe a respeito do seu trabalho ou emprego (com o que o senhor(a) mexe)?	4	3	2	1	9
D12 – O seu “médico/enfermeiro” saberia de alguma forma se você tivesse problemas em pegar medicamentos no posto ou pagar por medicamentos que você precisa?	4	3	2	1	9
D13 – O seu “médico/enfermeiro” sabe a respeito de todos os medicamentos que você está tomando?	4	3	2	1	9
D14 – Você mudaria do “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” para outro serviço de saúde se isto fosse muito fácil de fazer?	4	3	2	1	9

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA

PCATool - Brasil versão Adulto

E – COORDENAÇÃO – INTEGRAÇÃO DE CUIDADOS

E1 – Você já foi consultar qualquer tipo de especialista ou serviço especializado no período em que você está em acompanhamento no “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”?

() Sim

(x) Não (Passe para a questão F1)

() Não sei / não lembro (Passe para a questão F1)

Entrevistador – para todas as próximas perguntas use o Cartão Resposta

Por favor, indique a melhor opção:	com certeza, sim	Provavelmente, sim	Provavelmente, não	com certeza, não	Não sei, não lembro
E2 – O “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” sugeriu (indicou, encaminhou) que você fosse consultar com este especialista ou serviço especializado?	4	3	2	1	9
E3 – O “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” sabe que você fez essas consultas com este especialista ou serviço especializado?	4	3	2	1	9
E4 – O seu “médico/enfermeiro” discutiu com você diferentes serviços onde você poderia ser atendido para este problema de saúde?	4	3	2	1	9
E5 – O seu “médico / enfermeiro” ou alguém que trabalha no / com “nome do serviço de saúde” ajudou-o /a marcar esta consulta?	4	3	2	1	9
E6 – O seu “médico/enfermeiro” escreveu alguma informação para o especialista, a respeito do motivo desta consulta?	4	3	2	1	9
E7 – O “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” sabe quais foram os resultados desta consulta?	4	3	2	1	9
E8 – Depois que você foi a este especialista ou serviço especializado, o seu “médico/enfermeiro” conversou com você sobre o que aconteceu durante esta consulta?	4	3	2	1	9
E9 – O seu “médico/enfermeiro” pareceu interessado na qualidade do cuidado que lhe foi dado (lhe perguntou se você foi bem ou mal atendido por este especialista ou serviço especializado)?	4	3	2	1	9

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA

PCATool - Brasil versão Adulto

F – COORDENAÇÃO – SISTEMA DE INFORMAÇÕES

Entrevistador – para todas as próximas perguntas use o Cartão Resposta.

Por favor, indique a melhor opção:	com certeza, sim	Provavelmente, sim	Provavelmente, não	com certeza, não	Não sei, não lembro
F1 – Quando você vai no “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” você leva algum dos registros de saúde ou boletins de atendimento que você recebeu no passado? (exemplificar se não entender “registro”: fichas de atendimento de emergência, resultado de exames de laboratório)	4	3	2	1	9
F2 – Quando você vai ao “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”, a sua ficha de atendimento (história médica) está sempre disponível na consulta?	4	3	2	1	9
F3 – Você poderia ler (consultar) a ficha de atendimento/ficha se quisesse no “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”?	4	3	2	1	9

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA

PCATool - Brasil versão Adulto

G – INTEGRALIDADE – SERVIÇOS DISPONÍVEIS

Entrevistador – para todas as próximas perguntas use o Cartão Resposta.

A seguir, apresentamos uma lista de serviços/orientações que você e sua família ou as pessoas que utilizam esse serviço podem necessitar em algum momento.

Indique, por favor, se no “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” esses serviços ou orientações estão disponíveis:

(Repetir a cada 3-4 itens: “Está disponível no “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”)

Por favor, indique a melhor opção:	com certeza, sim	Provavelmente, sim	Provavelmente, não	com certeza, não	Não sei, não lembro
G1 – O Dr_____ responde a perguntas sobre nutrição ou dieta.	4	3	2	1	9
G2 – Verifica se sua família pode participar de algum programa de assistência social ou benefícios sociais.	4	3	2	1	9
G3 – Programa de suplementação nutricional (ex: leite, alimentos).	4	3	2	1	9
G4 – O Dr_____ verifica vacinas (imunizações).	4	3	2	1	9

G5 – Avaliação da saúde bucal (Exame dentário).	4	3	2	1	9
G6 – Tratamento dentário.	4	3	2	1	9
G7 – O Dr___ métodos anticoncepcionais.	4	3	2	1	9
G8 – Orienta sobre o risco de usar drogas: álcool, crack, cocaína.	4	3	2	1	9
G9 – Orienta sobre problemas de cabeça.	4	3	2	1	9
G10 – Sutura de um corte que necessite de pontos.	4	3	2	1	9
G11 – O Dr___ já explicou e solicitou teste anti-HIV.	4	3	2	1	9
G12 – Ele já percebeu (Algum tipo de avaliação) de problemas auditivos (para escutar).	4	3	2	1	9
G13 – Ele já percebeu (Algum tipo de avaliação) de problemas visuais (para enxergar).	4	3	2	1	9
G14 – Colocação de tala (ex: para tornozelo torcido).	4	3	2	1	9
G15 – Remoção de verrugas.	4	3	2	1	9
G16 – Exame preventivo para câncer de colo de útero (Teste Papanicolau).	4	3	2	1	9
G17 – Ele já orientou sobre como parar de fumar.	4	3	2	1	9
G18 – Cuidados pré-natais	4	3	2	1	9
G19 – Remoção de unha encravada.	4	3	2	1	9
G20 – Explica sobre as mudanças que acontecem com o envelhecimento (ex.: diminuição da memória, risco de cair).	4	3	2	1x	9
G21 – Orientações sobre cuidados no domicílio para alguém da sua família como: curativos, troca de sondas, banho na cama...	4	3	2	1	9
G22 – Orientações sobre o que fazer caso alguém de sua família fique incapacitado e não possa tomar decisões sobre sua saúde (ex.: doação de órgãos caso alguém de sua					

família fique incapacitado para decidir, por exemplo, em estado de coma).	4	3	2	1	9
---	---	---	---	---	---

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA

PCATool - Brasil versão Adulto

H – INTEGRALIDADE – SERVIÇOS PRESTADOS

Entrevistador – para todas as próximas perguntas use o Cartão Resposta.

A seguir, apresentamos uma lista de serviços que você pode ter recebido em consulta no “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”.

Em consultas ao “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro”, algum dos seguintes assuntos já foram ou são discutidos (conversados) com você? (**repetir essa frase a cada 3-4 itens**).

Por favor, indique a melhor opção:	com certeza, sim	Provavelmente, sim	Provavelmente, não	com certeza, não	Não sei, não lembro
H1 – O Dr___ dá conselhos sobre alimentação saudável ou sobre dormir suficientemente.	4	3	2	1	9
H2 – Segurança no lar, como guardar medicamentos em segurança.	4	3	2	1	9
H3 – Aconselhamento sobre o uso de cinto de segurança ou assentos seguros para crianças ao andar de carro.	4	3	2	1	9
H4 – Maneiras de lidar com conflitos de família que podem surgir de vez em quando.	4	3	2	1	9
H5 – Conselhos a respeito de exercícios físicos adequados para você.	4	3	2	1	9
H6 – Testes de sangue para verificar os níveis de gordura no sangue.	4	3	2	1	9
H7 – Verificar e discutir os medicamentos que você está tomando.	4	3	2	1	9
H8 – Possíveis exposições a substâncias perigosas (ex: veneno para formiga/para rato, água sanitária), no seu lar, no trabalho, ou na sua vizinhança.	4	3	2	1	9
H9 – Perguntar se você tem uma arma de fogo e orientar como guardá-la com segurança.	4	3	2	x 1	9
H10 – Como prevenir queimaduras (ex: causadas por água quente, óleo quente, outras substâncias).	4	3	2	1	9
H11 – Como prevenir quedas.	4	3	2	1	9
H12 – Só para mulheres: como prevenir osteoporose ou ossos frágeis	4	3	2	1	9

H13 – Só para mulheres: o cuidado de problemas comuns da menstruação ou menopausa.	4	3	2	1	9
---	---	---	---	---	---

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA

PCATool - Brasil versão Adulto

I – ORIENTAÇÃO FAMILIAR

Entrevistador – para todas as próximas perguntas use o Cartão Resposta.

As perguntas a seguir são sobre o relacionamento do seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” com sua família.

Por favor, indique a melhor opção:	com certeza, sim	Provavelmente, sim	Provavelmente, não	com certeza, não	Não sei, não lembro
I1 – O seu “médico/enfermeiro” lhe pergunta sobre suas ideias e opiniões (sobre o que você pensa) ao planejar o tratamento e cuidado para você ou para um membro da sua família?	4	3	2	1	9
I2 – O seu “médico/enfermeiro” já lhe perguntou a respeito de doenças ou problemas comuns que podem ocorrer em sua família (câncer, alcoolismo, depressão)?	4	3	2	1	9
I3 – O seu “médico/enfermeiro” se reuniria com membros de sua família se você achasse necessário?	4	3	2	1	9

INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA

PCATool - Brasil versão Adulto

J – ORIENTAÇÃO COMUNITÁRIA

Entrevistador – para todas as próximas perguntas use o Cartão Resposta.

Por favor, indique a melhor opção:	com certeza, sim	Provavelmente, sim	Provavelmente, não	com certeza, não	Não sei, não lembro
J1 – Alguém no “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” faz visitas domiciliares?	4	3	2	1	9
J2 – O seu “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” conhece os problemas de saúde importantes na sua vizinhança?	4	3	2	1	9
J3 – O seu “nome do serviço de saúde/ ou nome médico/enfermeiro” ouve opiniões e ideias da comunidade de como melhorar os serviços de saúde?	4	3	2	1	9

A seguir são listadas formas de avaliar a qualidade de serviços de saúde. O “nome do serviço de saúde / ou nome médico/enfermeiro” realiza alguma destas?

J4 – Faz pesquisas com os pacientes para ver se os serviços estão satisfazendo (atendendo) as necessidades das pessoas?	4	3	2	1	9
J5 – Faz pesquisas na comunidade para identificar problemas de saúde que ele deveria conhecer?	4	3	2	1	9
J6 – Convida você e sua família para participar do Conselho Local de Saúde (Conselho Gestor / Conselho de Usuários)?	4	3	2	1	9

ANEXO B - PARECERES DOS COMITÊS DE ÉTICA

Os pareceres emitidos pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) e da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) (pareceres nº 149718 e 415856, respectivamente) estão disponibilizados na íntegra a seguir:

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Saúde do Trabalhador Rural na Regional de Saúde de Alfenas: avaliação diagnóstica de uma rede de atenção à saúde em fase de implantação.

Pesquisador: Alessandra Cristina Pupin Silverio

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 09072812.6.0000.5143

Instituição Proponente: Universidade José Rosário Vellano/UNIFENAS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 149.718

Data da Relatoria: 21/11/2012

Apresentação do Projeto:

Adequada

Objetivo da Pesquisa:

Descritos adequadamente

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequada

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante sobre a saúde do trabalhador rural

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rodovia MG 179 km 0

Bairro: Campus Universitário
UF: MG **Município:** ALFENAS

CEP: 37.130-000

Telefone: (35)3299-3137

Fax: (35)3299-3137

E-mail: comitedeetica@unifenas.br

UNIVERSIDADE JOSÉ
ROSÁRIO VELLANO/UNIFENAS



Considerações Finais a critério do CEP:

ALFENAS, 21 de Novembro de 2012

**Assinador por:
Letizia Monteiro de Barros
(Coordenador)**

Endereço: Rodovia MG 179 km 0

Bairro: Campus Universitário

UF: MG

Município: ALFENAS

CEP: 37.130-000

Telefone: (35)3299-3137

Fax: (35)3299-3137

E-mail: comitedeetica@unifenas.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL AOS PRAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS E CARBAMATOS ATRAVÉS DOS INDICADORES BIOLÓGICOS DE EXPOSIÇÃO E TRIAGEM CLÍNICA VISANDO A IMPLANTAÇÃO DE UMA REDE DE ATENÇÃO A SAÚDE DOS TRABALHADORES RURAIS

Pesquisador: Isarita Martins Sakakibara

Área Temática: Área 3. Fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações.

Versão: 1

CAAE: 17881213.4.0000.5142

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 415.856

Data da Relatoria: 05/09/2013

Apresentação do Projeto:

O projeto tem por objetivos a avaliação da contaminação por praguicidas da classe dos organofosforados e carbamatos por trabalhadores rurais das microrregiões dos municípios de Alfenas e de Guaxupé bem como a geração de dados visando à avaliação da atenção primária à saúde e criação de uma rede com este fim. A avaliação da contaminação pelos praguicidas será realizada através de métodos indiretos e diretos (atividade das colinesterases sanguíneas, detecção de dialquilfosfatos, a avaliação de mutagenicidade (frequência de micronúcleos) e do polimorfismo genético (enzimas metabolizadoras). O tipo de praguicida, duração, frequência da exposição, condições de trabalho bem como o acesso a atenção à saúde serão avaliados através da aplicação de questionários.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a exposição aos praguicidas na população em população rurais das microrregiões de Alfenas e Guaxupé por meio de bioindicadores e Caracterizar a Rede de Serviços de Atenção à Saúde dos moradores, por meio da descrição quantitativa de número de estabelecimentos,

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro
UF: MG

Município: ALFENAS

CEP: 37.130-000

Telefone: (35)3299-1318

Fax: (35)3299-1318

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

Continuação do Parecer: 415.856

profissionais credenciados e volume de atendimentos anual e Avaliar efetividade da Rede de Atenção à Saúde do Trabalhador rural, por meio da aplicação PCATool-Brasil versão adulto (PCATool - PrimaryCareAssessment Tool).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A proponente indica riscos mínimos, como possível constrangimento na aplicação dos questionários e possível desconforto/dor durante a coleta de sangue. Como benefícios a proponente relata o acesso aos resultados dos teste e em caso se detecte níveis tóxicos de praguicidas no seu exame de sangue lhe será assegurado atendimento médico interligado à rede de serviços de saúde da microrregional de Alfenas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto investigará o impacto do uso de praguicida sobre a saúde do trabalhador rural e visa com o levantamento dos dados a criação de um serviço de atenção à saúde deste grupo de trabalho. O material e métodos a ser utilizados na realização da estão bem descritos. A proponente possui experiência na execução das técnicas propostas. Aborda um problema de saúde ocupacional relacionado a atividade agrícola (cultura do café) de uma população de risco. Estudo relevante e com alcance social.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta TCLE e os instrumentos de coleta de dados. O TCLE está redigido de forma acessível, contem objetivos, procedimentos, riscos, benefícios, garante o sigilo e o contato telefônico do pesquisador. Não foi apresentado o contato do CEP. Quanto aos instrumentos de coleta de dados, estes estão adequados e validados como no caso do instrumento PCATool-Brasil versão adulto (PCATool - PrimaryCareAssessment Tool)

Recomendações:

Inclusão do contato telefônico do CEP no TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O relator não considerou a recomendação acima como pendência, mas deixa a cargo da plenária a decisão final.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

UF: MG

Município: ALFENAS

CEP: 37.130-000

Telefone: (35)3299-1318

Fax: (35)3299-1318

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

Continuação do Parecer: 415.856

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP acata o parecer do relator.

ALFENAS, 04 de Outubro de 2013

Assinador por:
Maria Betânia Tinti de Andrade
(Coordenador)

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro
UF: MG

Município: ALFENAS

CEP: 37.130-000

Telefone: (35)3299-1318

Fax: (35)3299-1318

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

PRODUTOS GERADOS PELO DOUTORADO ATÉ O MOMENTO

I - ARTIGO PUBLICADO

SILVÉRIO, A. C. P. et al. Dialkyl phosphates determination by gas chromatography: Evaluation of a microwave-assisted derivatization. **J. Sep. Sci.**, v. 38, p. 2664 – 2669, 2015.

II - ARTIGO SUBMETIDO

Título: "BIOLOGICAL MONITORING AND CLINICAL TRIAL TO COMPARE RURAL WORKERS AND NON-OCCUPATIONALLY PEOPLE EXPOSED TO MIXTURE OF PESTICIDES"

Autores: Isarita Martins, Ph.D.; Alessandra Pupin Silvério, Simone Caetani Machado; Luciana Azevedo; Denismar Nogueira; André Luiz Viana; Juliana Simões; Miriam Graciano

Revista: International Archives of Occupational and Environmental Health

III - RESUMOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

A- APRESENTAÇÃO ORAL

16º Congresso Nacional da ANAMT

Saúde do Trabalhador Rural e a Atenção Primária à Saúde em uma Regional de Saúde de Minas Gerais, Brasil.

Silvério, A.C.P.², Melo, M.A.S.², Martins, M.S.², Nogueira, D.A.¹, Graciano, M.M.², Martins, I¹.

¹ Universidade Federal Alfenas

² Universidade José do Rosário Vellano

B - APRESENTAÇÃO PAINEL

XVI Congresso Latino-Americano de Cromatografia (XVI COLACRO/ 2015)

Microwave-Assisted Derivatization of diethyl thiophosphate and diethyl dithiophosphate and their analysis by gas chromatography–mass spectrometry

Silvério, A. C. P.^{1*}; Martins, I.²; Machado, S. C.³;

¹Toxicology Laboratory, Faculty of Pharmaceutical Sciences, UNIFENAS

²Toxicants and Drug Analysis Laboratory – LATF, Faculty of Pharmaceutical Sciences

³Pharmaceutics, Toxicants and Drug Analysis Laboratory – LATF

10th International Congress of Pharmaceutical Sciences (CIFARP 2015)

Evaluation of the occupational exposure to organophosphates applying clinical trial, cholinesterases activity, urinary alkyl phosphates and citoma assay

Silvério, A.C.P.¹, Machado, S.C.¹, Azevedo, L.¹, Nogueira, D.A.¹, Graciano, M.M.², Simões, J.S.¹, Oliveira, F.G.F.², Martins, I.¹

¹ Federal University of Alfenas

² Faculty of Medical Sciences, University José of Rosário Vellano

10th International Congress of Pharmaceutical Sciences (CIFARP 2015)

Environmental exposure to pesticides can causes genotoxicity in the rural population

SIMÕES, S.J.¹; MACHADO, S.C.²; SILVÉRIO, A.C.P.²; AZEVEDO, L.²; GRACIANO, M.M.C.¹; CABRAL, A.K.¹; MARTINS, M.S.¹; MELO, M.A.S.¹; ASSIS, J.R.R.¹

¹Faculty of Medical Sciences, University José do Rosário Vellano

²Laboratory of Toxicants and Drugs Analysis

16º Congresso Nacional da ANAMT (2016)

Application of three biomarkers and clinical data in the biomonitoring of the rural occupational exposure to organophosphates pesticides

Silvério, A.C.P.¹, Machado, S.C.¹, Azevedo, L.¹, Nogueira, D.A.¹, Graciano, M.M.², Martins, I.¹

¹ Federal University of Alfenas

² Faculty of Medical Sciences, University José of Rosário Vellano

16º Congresso Nacional da ANAMT (2016)

Avaliação de saúde de trabalhadores rurais expostos à misturas complexas de praguicidas através de biomarcadores de dose interna e efeito e triagem clínica

Silvério, A.C.P.², Melo, M.A.S.², Martins, M.S.², Rosa, C.P.¹., Nogueira, D.A.¹, Graciano, M.M.²

¹ Universidade Federal Alfenas

² Faculdade de Ciências Médicas, Universidade José do Rosário Vellano

I International Meeting of Environmental Health and Toxicology (IMEHTOX 2016)

Biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides: application of comet assay and CYP2C9 genotype study .

Alessandra Cristina Pupin Silvério⁽¹⁾; Simone Caetani Machado⁽¹⁾; Denismar Alves Nogueira⁽¹⁾; Marcelo Fabiano Gomes Boriollo⁽²⁾; Thaísila Andrielle da Silva⁽²⁾, Bruna Maciel Souza⁽¹⁾; Luiz Paulo de Aguiar Marciano⁽¹⁾; Isarita Martins^{(1)*}

⁽¹⁾ Laboratory of Toxicants and Drugs Analysis – LATF, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Alfenas – Unifal-MG, Alfenas, MG, Brazil

⁽²⁾ Faculty of Medical Sciences, University José do Rosário Vellano – Unifenas-MG, Alfenas, MG, Brazil