

TONY FRANCIS PLEUS CANTARUTTI

RISCO TÓXICO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM ALIMENTOS
E TOXICIDADE REPRODUTIVA EM RATOS WISTAR

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção do grau de Mestre, pelo Curso de
Pós-Graduação em Farmacologia, do Setor de
Ciências Biológicas da Universidade Federal do
Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Dalsenter

CURITIBA
2005

DEDICATÓRIA

À Giulia

AGRADECIMENTOS

Seria injusto não agradecer, mais injusto seria agradecer apenas a alguns, então agradeço a todos aqueles que fizeram parte da minha vida, e de alguma maneira contribuíram para a realização deste projeto.

Cada um participou de seu jeito, com seus comentários, com seu trabalho, com sua experiência, com seus conselhos, com seus ensinamentos, com sua seriedade ou com momentos de descontração, mas principalmente com incentivo e motivação para sua realização.

Agradeço a você, que fez parte de tudo isso.

EPÍGRAFE

“A mais bela experiência que podemos ter é a do mistério. É a emoção fundamental existente na origem da verdadeira arte e ciência. Aquele que não a conhece e não pode se maravilhar com ela está praticamente morto e seus olhos estão ofuscados.”

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE GRÁFICOS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE SIGLAS	x
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
3 OBJETIVOS	09
3.1 OBJETIVO GERAL.....	09
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	09
4 MATERIAL E MÉTODOS	10
4.1 RESÍDUOS DE PESTICIDAS NA ALIMENTAÇÃO E RISCO TÓXICO.....	10
4.1.1 PRESENÇA DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS	10
4.1.2 PESTICIDAS COM RESÍDUOS ACIMA DO LMR.....	11
4.1.3 PESTICIDAS COM USO NÃO AUTORIZADO.....	11
4.1.4 CARACTERIZAÇÃO DE RISCO (%IDA).....	11
4.1.4.1 FÓRMULAS.....	12
4.1.5 PRESENÇA DE DIFERENTES PESTICIDAS NA MESMA CULTURA.....	12
4.1.6 PESTICIDAS LISTADOS COMO POSSÍVEIS DESREGULADORES ENDÓCRINOS.....	12
4.2 TOXICIDADE REPRODUTIVA EM RATOS WISTAR EXPOSTOS À MISTURA DE PESTICIDAS.....	13
4.2.1. ANIMAIS.....	13
4.2.2 SUBSTÂNCIAS PARA TRATAMENTO.....	13
4.2.3 ACASALAMENTO.....	16
4.2.4 DOSES E TRATAMENTO.....	16
4.2.5 PRENHEZ E LACTAÇÃO.....	17
4.2.5.1 FÓRMULAS.....	18
4.2.6 DESCENDENTES NO PERÍODO LACTACIONAL.....	19
4.2.7 AVALIAÇÃO DOS DESCENDENTES MASCULINOS.....	19
4.2.7.1 DESENVOLVIMENTO PONDERAL.....	19
4.2.7.2 DESCIDA BILATERAL DOS TESTÍCULOS	19
4.2.7.3 SEPARAÇÃO PREPUCIAL COMPLETA.....	20
4.2.7.4 VARIÁVEIS REPRODUTIVAS.....	20

4.2.8 AVALIAÇÃO DAS DESCENDENTES FEMININAS.....	21
4.2.8.1 DESENVOLVIMENTO PONDERAL.....	21
4.2.8.2 ABERTURA DO CANAL VAGINAL.....	21
4.2.8.3 PRIMEIRO ESTRO E REGULARIDADE DO CICLO ESTRAL.....	21
4.2.8.4 VARIÁVEIS REPRODUTIVAS.....	22
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	23
5 RESULTADOS.....	24
5.1 RESÍDUOS DE PESTICIDAS NA ALIMENTAÇÃO E RISCO TÓXICO.....	24
5.1.1 PRESENÇA DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS.....	24
5.1.2 PESTICIDAS COM RESÍDUOS ACIMA DO LMR.....	25
5.1.3 PESTICIDAS COM USO NÃO AUTORIZADO.....	26
5.1.4 CARACTERIZAÇÃO DE RISCO (%IDA).....	26
5.1.5 PRESENÇA DE DIFERENTES PESTICIDAS NA MESMA CULTURA.....	27
5.1.6 PESTICIDAS LISTADOS COMO POSSÍVEIS DESREGULADORES ENDÓCRINOS.....	28
5.2 TOXICIDADE REPRODUTIVA EM RATOS WISTAR EXPOSTOS À MISTURA DE PESTICIDAS.....	29
5.2.1 PREENHEZ E LACTAÇÃO.....	29
5.2.2 MASSA DE ÓRGÃOS DAS PROGENITORAS.....	31
5.2.3 DESCENDENTES NO PERÍODO LACTACIONAL.....	32
5.2.4 DESENVOLVIMENTO SEXUAL DOS DESCENDENTES.....	34
5.2.5 CICLO ESTRAL.....	35
5.2.6 MASSA DE ÓRGÃOS DA PROGÊNIE FEMININA.....	36
5.2.7 MASSA DE ÓRGÃOS DA PROGÊNIE MASCULINA.....	37
5.2.8 CONTAGEM DE ESPERMATOZÓIDES E PRODUÇÃO ESPERMÁTICA DIÁRIA.....	38
6 DISCUSSÃO.....	40
6.1 RESÍDUOS DE PESTICIDAS NA ALIMENTAÇÃO E RISCO TÓXICO.....	40
6.2 TOXICIDADE REPRODUTIVA EM RATOS WISTAR EXPOSTOS À MISTURA DE PESTICIDAS.....	43
6.2.1 DADOS DA PREENHEZ E LACTAÇÃO.....	44
6.2.2 DESENVOLVIMENTO GERAL DOS DESCENDENTES NO PERÍODO LACTACIONAL.....	45
6.2.3 DESENVOLVIMENTO SEXUAL DOS DESCENDENTES.....	45
6.2.4 AVALIAÇÃO DOS DESCENDENTES EM IDADE ADULTA.....	47
6.2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
7 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXOS.....	56

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	- ESQUEMA DO PROTOCOLO DESENVOLVIDO.....	15
----------	--	----

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - NÚMERO DE PESTICIDAS ENCONTRADOS OU NÃO NA FORMA DE RESÍDUOS NO ALIMENTO.....	25
GRÁFICO 2 - PRESENÇA DE PESTICIDAS ACIMA E DENTRO DO LMR NAS CULTURAS PESQUISADAS.....	25
GRÁFICO 3 - RESÍDUOS PRESENTES NAS CULTURAS COM USO AUTORIZADO OU NÃO.....	26
GRÁFICO 4 - RESÍDUOS DE PESTICIDAS COM OU SEM RISCO TÓXICO.....	27
GRÁFICO 5 - NÚMERO DE PESTICIDAS PRESENTES NAS CULTURAS INVESTIGADAS.....	28
GRÁFICO 6 - LISTADOS COMO POSSÍVEIS DESREGULADORES ENDÓCRINOS.....	29
GRÁFICO 7 - MASSA RELATIVA CORPORAL DURANTE A PRENHEZ.....	30
GRÁFICO 8 - MASSA RELATIVA CORPORAL DURANTE A LACTAÇÃO.....	30
GRÁFICO 9 - MASSA ABSOLUTA DE FILHOTES NO 1ºDPN E NO 21ºDPN.....	33
GRÁFICO 10 - DESENVOLVIMENTO PONDERAL DA PROGÊNIE.....	33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS COM PROPRIEDADES DE POSSÍVEL DESREGULAÇÃO ENDÓCRINAS EM ESPÉCIES ANIMAIS	5
TABELA 2 - MASSA RELATIVA DE ÓRGÃOS DE RATAS EXPOSTAS NA PRENHEZ E LACTAÇÃO.....	31
TABELA 3 - DADOS DA PRENHEZ E LACTAÇÃO.....	32
TABELA 4 - CARACTERÍSTICAS DO DESENVOLVIMENTO GERAL DE RATOS WISTAR ATÉ O DESMAME.....	34
TABELA 5 - DESENVOLVIMENTO SEXUAL DOS DESCENDENTES.....	35
TABELA 6 - INTERVALO ENTRE ESTROS, DIA DO PRIMEIRO ESTRO E REGULARIDADE DO CICLO DE RATAS DESCENDENTES EXPOSTAS NA PRENHEZ E LACTAÇÃO.....	36
TABELA 7 - MASSA RELATIVA (%) DE ÓRGÃOS DE DESCENDENTES FÊMEAS EXPOSTAS NA PRENHEZ E LACTAÇÃO.....	37
TABELA 8 - MASSA RELATIVA (%) DE ÓRGÃOS DOS DESCENDENTES MACHOS EXPOSTOS NA PRENHEZ E LACTAÇÃO.....	38
TABELA 9 - CONTAGEM DE ESPERMATOZÓIDES, PRODUÇÃO E TEMPO DE TRÂNSITO ESPERMÁTICO DIÁRIO DE DESCENDENTES MACHOS EXPOSTOS NA PRENHEZ E LACTAÇÃO.....	39

LISTA DE SIGLAS

AMBLAV	<i>Associazione Ambiente e Lavoro</i> : Associação do Ambiente e Trabalho
ANVISA/MS DE	Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde Desregulador Endócrino
EDSTAC	<i>Endocrine Disruptors Screening and Testing Advisor Committee</i>
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> : Agência de Proteção Ambiental
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i> : Organização de Alimento e Agricultura
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDA	Ingestão Diária Aceitável
IDR	Ingestão Diária de Resíduos
IDTM	Ingestão Diária Teórica Máxima
INCQS/FIOCRUZ/MS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz do Ministério da Saúde
LMR	Limite Máximo de Resíduos
NPIC	<i>National Pesticide Information Center</i> : Centro Nacional de Informação de Pesticidas
NPTN	<i>National Pesticide Telecommunications Network</i> : Rede Nacional de Telecomunicações de Pesticida
PAN-UK	<i>Pesticide Action Network – United Kingdom</i> : Rede de Ação de Pesticida
PARA	Programa de Análise de Resíduos em Alimentos
PFS	<i>Pesticide Fact Sheet</i>
UFPR	Universidade Federal do Paraná
WHO	<i>World Health Organization</i> : Organização Mundial de Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

%	- Por cento
%IDA	Caracterização de Risco
®	- Marca registrada
μL	- Microlitro
♀	- Fêmea
♂	- Macho
A	- Acasalamento
DL ₅₀	- Dose letal 50%
De	- Desmame
F ₀	- Primeira geração
F ₁	- Segunda geração
g	- Grama
Dg	- Dia de prenhez
kg	- Quilograma
nº	- Número
°C	- Graus Celcius
<i>P</i>	- Nível de significância estatística
dpn	- Dia pós-natal
ppm	Partes por milhão
PR	- Paraná

RESUMO

O uso de agrotóxicos no processo de produção agrícola e a conseqüente contaminação dos alimentos têm sido alvo de constante preocupação no âmbito da saúde pública. O uso de pesticidas ainda é a principal estratégia para o combate e prevenção de pragas agrícolas para o aumento de produtividade. Alguns deles são capazes de interferir no sistema endócrino, podendo produzir alterações reprodutivas. Numerosos agrotóxicos figuram entre as substâncias químicas suspeitas de atuarem como desreguladores sobre o sistema endócrino. A exposição da população aos agrotóxicos pode ser atribuída ao consumo de alimentos oriundos da produção agropecuária e ao contato direto, no caso dos aplicadores rurais e ou manipuladores, ou ainda indireto, como no caso das populações que estão sujeitas à aplicação de agrotóxicos para controle de vetores das endemias. No Brasil foi desenvolvido o Programa de Análise de Resíduos de Pesticidas (PARA) para avaliar a qualidade dos alimentos quanto ao teor de agrotóxicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de risco crônico de populações expostas aos pesticidas pela ingestão de resíduos de pesticidas em alimentos. Experimentalmente, os animais foram expostos a mistura de pesticidas e variáveis reprodutivas foram avaliadas. Os pesticidas foram administrados misturados baseados na dose correspondente à Ingestão Diária Aceitável (IDA) e 100 vezes este valor. Ratas Wistar prenhes foram tratadas diariamente, por via oral, do sexto dia de prenhez ao desmame com a associação de carbaril (CB), lambda-cialotrina (LB) e metamidofós (MF) como produtos comerciais. As doses correspondentes a IDA foram de: CB 0,003mg/kg; MF 0,004mg/kg LB 0,05mg/kg. As progenitoras e os descendentes foram avaliados para as variáveis de toxicidade materna, desenvolvimento geral e sexual dos descendentes, incluindo ganho de peso ponderal, massa relativa de órgãos (fígado e rins), índices reprodutivos, tempo médio para descida dos testículos, separação prepucial, abertura do canal vaginal, dia do primeiro estro, regularidade de ciclo estral, massa de órgãos sexuais (epidídimo, testículos) e glândulas sexuais acessórias (próstata e vesícula seminal), produção espermática diária, número de espermatozóides e trânsito espermático. Os resultados mostram que vários alimentos apresentam risco tóxico devido a presença de resíduos de pesticidas em níveis acima dos permitidos pela legislação. No protocolo experimental, os resultados revelam que a exposição à mistura dos três pesticidas foi capaz de induzir alteração no sistema reprodutivo masculino da progênie em doses que não causam toxicidade materna. Porém, este resultado isolado não mostrou ser um efeito adverso capaz de interferir no sistema reprodutivo. Assim, a constatação da problemática do uso irregular e algumas vezes abusivo e desnecessário, mostra a necessidade de melhorias na fiscalização e na prática agrícola e continuidade de trabalhos como o PARA.

Palavras-chave: mistura; pesticidas; carbaril; metamidofós; lambda-cialotrina; toxicidade reprodutiva

ABSTRACT

The use of pesticides in the process of agricultural production and the consequent contamination of food has been the target of constant concern in the scope of the public health. The use of pesticides is still the main strategy for the combat and prevention of agricultural plagues that impair productivity. Some pesticides are capable of interfering with the endocrine system, being able to produce reproductive disorders. Numerous pesticides are suspicion of acting as endocrine system disruptors. The exposition of the population to the pesticides can be attributed to the food consumption of the farming productions and directly by contact in the case of the agricultural applicators and manipulators, or still to the indirect contact, as in the case of the populations that are near from pesticides application for vectors of endemic disease control. In Brazil the "Programa de Analise de Residuos de Agrotóxicos" (PARA) was developed to evaluate the food quality regarding the residues present. The objective of this research was to evaluate the chronic risk of populations exposed to pesticide residues in food. For this, rats were exposed to pesticides mixture and reproductive parameters were evaluated. The mixture dose was based in the Acceptable Daily Ingestion (ADI) and 100 times this value. Pregnant Wistar rats had been treated daily (oral gavage), from the gestational day six to postnatal day 21 (weaning) with the association of commercial carbaryl (CB), lambda-cyhalothrin (LB) and metamidophos (MF). The dose corresponding to the IDA was: CB 0.003 mg/kg; MF 0.004 mg/kg LB 0.05 mg/kg. The progenitors and the progeny were evaluated about maternal toxicity, general and sexual development of the progeny, weight gain, relative organs weight (liver and kidneys), reproductive indexes, testis descent, prepucial separation, vaginal opening, first estrous detection, estrous cycle regularity, organs weight (epididymis and testis) and accessory glands weight (prostate and seminal vesicle), daily sperm production, sperm number and the epididymal sperm transit. Some food presented toxic risk due the pesticide residues in levels above of the allowed by the legislation. The results evidence that the exposition to the pesticides mixture induced alteration in the male progeny reproductive system in doses that do not cause maternal toxicity. However, this isolated data do not mean an adverse effect capable of interfering with reproduction. Thus, the problematic of the irregular and abusive pesticides use, shows the need of supervise improvement and better agricultural practice, as well the continuity of governmental researches as the PARA.

Key Words: mixture; pesticides; carbaryl; metamidophos; lambda-cyhalothrin; reproductive toxicity.

1 INTRODUÇÃO

O uso de agrotóxicos no processo de produção agrícola e a conseqüente contaminação dos alimentos têm sido alvo de constante preocupação no âmbito da saúde pública (ANVISA, 2003a). O uso de pesticidas ainda é a principal estratégia para o combate e prevenção de pragas agrícolas, buscando maior produtividade com menores custos. Depois da Segunda Guerra Mundial, com o desenvolvimento tecnológico e industrial ocorrido no século XX, houve o crescimento da produção dos pesticidas. A intensificação da exploração agrícola e pecuária, a partir de 1960, conduziu ao aumento na sua produção e utilização no combate a pragas de lavoura (ECOBICHON, 1996). O Brasil tem grande parte da sua economia baseada na atividade agrícola, sendo o quarto mercado de pesticidas no mundo. Os pesticidas são potencialmente tóxicos ao homem, mas devido sua importância econômica, o seu uso é muito difundido e os resíduos de pesticidas são encontrados nos alimentos, água e meio ambiente (CALDAS e SOUZA, 2000; PRESIBELLA, 2004).

O alimento seguro significa saúde e qualidade de vida. A garantia de alimento livre de contaminantes é essencial para a prevenção de doenças, principalmente nos países em desenvolvimento, como o Brasil, onde parte da população enfrenta problemas de carência nutricional e de acesso ao sistema público de saúde (CALDAS e SOUZA, 2000). Segundo a Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO), ocorrem, a cada ano, de 30 mil a 40 mil mortes devido a intoxicações por agrotóxicos. Os casos de envenenamento por ingestão ou inalação também são altos e chegam a meio milhão de pessoas (SANTAMARTA, 2001). A exposição de pessoas aos agrotóxicos pode ser atribuída ao consumo de alimentos oriundos da produção agropecuária, ao contato direto, no caso dos aplicadores rurais e ou manipuladores, ou ainda ao contato indireto, como no caso das populações que estão sujeitas à aplicação de agrotóxicos para controle de vetores das endemias (ANVISA, 2003a).

Um grande número de substâncias artificiais foi colocado no meio ambiente, e assim como algumas substâncias naturais, tem o potencial de interferirem com o sistema endócrino. As substâncias que interferem negativamente com a regulação hormonal são designadas como desreguladoras endócrinas. Estas substâncias, entre elas substâncias persistentes, bioacumulativas e organohalógenas, podem acarretar problemas no desenvolvimento, reprodução e comportamento sexual de animais e seres humanos. O organismo imaturo é mais sensível, pois apresenta menor capacidade de metabolização e eliminação de substâncias, e quando expostos a estas substâncias, onde se incluem alguns agrotóxicos, podem afetar no sistema endócrino (AZIZ e cols., 2001).

Muitas populações de animais já foram afetadas por substâncias que tem o potencial de serem desreguladoras endócrinas. Entre as repercussões, figuram a disfunção da tireóide em aves e peixes; a diminuição da fertilidade em aves, peixes, crustáceos e mamíferos; a diminuição do sucesso da incubação em aves, peixes e tartarugas; graves deformidades de nascimento em aves, peixes e tartarugas; anormalidades metabólicas em aves, peixes e mamíferos; entre outras. Existem também vários trabalhos de avaliação de risco tóxico de pesticidas no homem e toxicidade (hepatotoxicidade, carcinogênese, mutação) de pesticidas em ratos, peixes, entre outros (ANDERSEN e cols, 2002; CALDAS e SOUZA, 2000; CASTILLO e cols., 2000; IYANIWURA, 1989; HEINDEL e cols., 1994; KLINGERMAN e cols., 1993; ITO e cols., 1994, 1995 e 1996; WANG e cols., 1987). Como resultados, podem ser citados: masculinização de caramujos fêmeas, micropenia em crocodilos, reversão sexual em peixes, alteração do comportamento de aves com redução da quantidade de ovos eclodidos e debilidade da ninhada (GRAY, 1998; BAKER, 2001). Anormalidades ligadas ao sistema reprodutivo, em seres humanos também foram observadas: aumento do número de casos de criptorquidismo, hipospádia, abortos, redução da libido, prejuízos na produção espermática, impotência, assim como maior incidência de tumores de testículo, próstata e mama (SONNENSCHNEIN e SOTO, 1998; BAKER, 2001; SULTAN e cols., 2001; GARRY e cols., 2002).

A presença de resíduos destes compostos na água e alimentos leva a uma exposição crônica a várias substâncias químicas. Estudos realizados com trabalhadores ou animais demonstraram relação entre a exposição crônica a agrotóxicos e efeitos adversos à saúde, com alterações neurológicas, reprodutivas, imunes ou metabólicas (DALSENER e cols., 1997; SONNENSCHHEIN e SOTO, 1998; KOIFMAN e cols., 2002).

A população brasileira está em constante exposição à associação de pesticidas através da alimentação, pois é um dos países que mais utiliza estes defensivos na cultura agrícola. Com esse enfoque achamos de real importância a avaliação do risco tóxico ao qual essa população está exposta a resíduos de pesticidas. Assim sendo, este trabalho tem o objetivo de avaliar o risco tóxico da ingestão de resíduos na alimentação e a possível toxicidade reprodutiva em ratos expostos aos pesticidas carbaril, medamidofós e lambda-cialotrina, suspeitos de interferirem no sistema endócrino.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A população brasileira e mundial é constantemente exposta aos pesticidas, e sabe-se que estes compostos são considerados potencialmente tóxicos ao homem, podendo causar efeitos adversos ao sistema nervoso central e periférico, ter ação imunodepressora ou ser cancerígeno, entre outros. Ainda é desconhecido o risco para a saúde com a ingestão de pesticidas por meio da dieta alimentar. A caracterização de risco será tão melhor quanto mais próximos os dados estiverem de uma situação real de exposição. A avaliação da exposição aguda e crônica a resíduos de pesticidas já faz parte do processo de registro de pesticidas em vários governos. (CALDAS e SOUZA, 2000).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA/MS), o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz do Ministério da Saúde (INCQS/FIOCRUZ/MS) e a Secretaria de Saúde do Paraná iniciaram em 2001 o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos (PARA) em alimentos. Este programa visa o rastreamento de substâncias utilizadas fora do padrão legislativo proposto pela própria ANVISA (ANVISA, 2003a).

O PARA foi desenvolvido, em nível nacional, como um programa para avaliar a qualidade dos alimentos, frente ao uso de agrotóxicos. Esse era um antigo anseio das autoridades sanitárias, nas esferas Federal, Estadual e Municipal, objetivando principalmente garantir a segurança do consumidor em relação aos níveis de resíduos de agrotóxicos em alimentos. O resultado dessa articulação alcançado entre junho de 2001 e junho de 2003, foi a efetivação da metodologia que conduziu aos resultados e às propostas de mitigação dos problemas.

Os resultados da pesquisa de 96 ingredientes ativos em nove culturas, citando, alface, banana, batata, cenoura, laranja, maçã, mamão, morango e tomate, foram apresentados no relatório anual relativo ao período entre julho de 2001 e dezembro de 2003 (ANVISA, 2005).

ANVISA fornece, através de seu site na internet (<http://www.anvisa.org.br>), o índice monográfico que traz os principais dados de cada pesticida pesquisado, e consta de vários aspectos químicos e toxicológicos importantes para a avaliação de seu uso.

Numerosos agrotóxicos figuram entre as substâncias químicas suspeitas de atuarem como desreguladores sobre o sistema endócrino. Alguns estudos com animais indicam que a exposição a substâncias químicas hormonalmente ativas, durante o período pré-natal ou na idade adulta, aumenta a vulnerabilidade a tipos de câncer sensíveis aos hormônios, como os tumores malignos na mama, próstata, ovários e útero (SANTAMARTA, 2001). A tabela 1 mostra alguns exemplos de substâncias com atividade sobre o sistema endócrino e outros efeitos adversos.

TABELA 1 - PRODUTOS FITOFARMACÊUTICOS COM PROPRIEDADES DE POSSÍVEL DESREGULAÇÃO ENDÓCRINA EM ESPÉCIES ANIMAIS (modificado de REYS, 2001).

	Exemplos	Estrogênicos	Anti-androgênicos	Outros efeitos	
Inseticidas e Acaricidas	DDT, DDE e DDD	± +	+ +		
	Lindano Clorpirifós			Teratogênico Neurotóxico Antitiroideano	
	Deltametrina Dimetoato Carbofurano		+ + +	Função placentária Antitiroideano Protiroideano	
	Amitraz Triclorfom	-			
	Diclorvos Piretrinas	+ +	+ +	Tumores mamários Síndrome Down Sistema imunológico	
	Herbicidas	Atrazina Linuram	+ +		
	Fungicidas	Vinclozolina Carbendazim/ Benomil		+ + +	Teratogênico
		Procimidona Penconazol Procloraz		+ + +	Teratogênico Antitiroideano Anti-hipofisário
Propiconazol Tridemorfós		± +	± +	Cistos ovarianos Tumores do ovário	
Epoconazol					

A diferenciação e desenvolvimento do sistema reprodutivo são dependentes da ação de hormônios. Assim sendo, substâncias com potencial de afetar o sistema endócrino podem interferir na produção ou ação de hormônios comprometendo a

identidade sexual, fertilidade ou comportamento. Qualquer substância exógena, natural ou sintética, que interfira na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação dos hormônios naturais é chamada de desregulador endócrino (EPA, 1997).

A lambda-cialotrina, o metamidofós e o carbaril são listados como possíveis desreguladores endócrinos pela PESTICIDE ACTION NETWORK – UK (PAN-UK, 2001), por RATNASOORYA e cols.(2002) e por GÖETTLICH (2003). Estes compostos podem atuar como antagonistas efetivos de um hormônio, ligando-se a um sítio de ação e impedindo a ligação do hormônio natural, ou como agonistas, onde a ligação do desregulador endócrino a um sítio específico desencadeia a mesma ação que ocorreria com a ligação do hormônio natural. Estas substâncias podem interferir com a síntese do hormônio natural, ou com a remoção do hormônio natural da circulação. Ainda não foi elucidada a possível ação desreguladora endócrina da lambda-cialotrina, porém a ação estrogênica de certos piretróides como a sumetrina, o fenvalerato e a aletrina foram testadas *in vitro* utilizando linhagens de células de carcinoma mamário humano (MCF-7) para a indução do gene pS2 que é sensível a estrógenos (GO e cols., 1999).

Os piretróides, os organofosforados e os carbamatos são inseticidas lipofílicos amplamente utilizados no combate a pragas de animais e plantas. A exposição a eles se dá pelos alimentos na forma de resíduos e ainda podem ser absorvidos pela pele e através da inalação.

Suas características de solubilidade facilitam a excreção da substância pelo leite e a passagem pela barreira placentária, favorecendo a exposição ao pesticida no período perinatal. Assim a exposição do neonato ao inseticida, em concentrações que não revelam sinais clínicos de intoxicação sistêmica materna, pode causar danos no indivíduo em desenvolvimento.

Não foram encontrados relatos científicos envolvendo a exposição crônica, pela via oral no período perinatal, aos inseticidas lambda-cialotrina, carbaril e metamidofós, nas doses relativas à IDA (Ingestão Diária Aceitável), que ocasionasse disfunções reprodutivas em ratos.

O carbaril é um inseticida metilcarbamato de naftila de classe toxicológica II segundo a WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO (2000-2002) e segundo a AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA (2003b), ou moderadamente tóxico. O mecanismo de ação tóxica do carbaril é através da inibição da enzima acetilcolinesterase. Os sinais de intoxicação aguda são os mesmos observados com o metamidofós. O carbaril também age em outras enzimas além das colinesterases, como a desidrogenase láctica e as serinas esterases (COX, 1993). A Ingestão Diária Aceitável (IDA) de resíduos de carbaril é de 0,003 mg/kg (ANVISA, 2003b) e a dose letal para 50% (DL₅₀) de uma amostra de ratos expostos pela via oral do carbaril é de 255 mg/kg (PFS, 1994-2004).

A lambda-cialotrina é uma mistura de dois isômeros da cialotrina. É um inseticida piretróide sintético de segunda geração, obtido pela adição de um grupo cianídrico ao carbono alfa do anel benzílico. Essa adição aumenta a atividade inseticida do piretróide. A lambda-cialotrina apresenta classe toxicológica II segundo a WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO (2000-2002) e classe toxicológica III segundo a AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA (2003b), ou seja, de toxicidade média. É muito utilizada no combate a insetos em lavouras (PIZZAIA JUNIOR, 2003). Uma formulação do produto microencapsulada (Fortis®) é divulgada para combater insetos como pulgas, carrapatos e formigas; e aracnídeos como a aranha-marrom (*Loxosceles sp.*) e várias espécies de escorpiões (SYNGENTA, 2004 e HOF e cols., 1995).

A labda-cialotrina age no mecanismo de comporta dos canais de Na⁺ da membrana de axônios e podem inibir a ATPase, assim, tem como resultado final, a diminuição do potencial de ação de impulsos nervosos repetitivos e despolarização. Seu mecanismo de ação é através da interação com a subunidade alfa do canal de sódio nos neurônios. Essa interação leva ao retardo no fechamento dos canais de sódio e hiperexcitação de todo o sistema nervoso do inseto (CAGE e cols., 1998).

O metabolismo da lambda-cialotrina é hepático, através de enzimas do complexo citocromo P450. O composto sofre hidrólise do grupo éster, hidroxilação e conjugação com o ácido carboxílico. A principal via de excreção é a renal.

De acordo com a WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO (2000-2002), a ASSOCIAZIONE AMBIENTE E LAVORO - AMBLAV (2000) e a NATIONAL PESTICIDE TELECOMMUNICATIONS NETWORK - NPTN (2001) a DL₅₀ para ratos expostos pela via oral em ratos do inseticida lambda-cialotrina é de 79 mg/kg para machos e de 56 mg/kg para fêmeas. Pela via cutânea é de 632 mg/kg para machos e 696 mg/kg para fêmeas. As doses variam conforme a proporção de isômeros na formulação, sendo os trans mais tóxicos. A IDA da lambda-cialotrina é de 0,05 mg/kg (ANVISA, 2003b).

O metamidofós é um inseticida organofosforado do tipo fosforotioamidato de classe toxicológica Ib (altamente tóxica) segundo WHO (2000-2002) e classe toxicológica I (altamente tóxica) segundo a ANVISA (2003b). A DL₅₀ observada em ratos expostos pela via oral em ratos é de 15,6 mg/kg para machos e de 13 mg/kg para fêmeas (EPA, 2000).

Os organofosforados foram desenvolvidos em 1930, na Alemanha. A ação tóxica de grande parte deles, incluindo o metamidofós, é baseada na inibição da enzima acetilcolinesterase, A inibição ocorre por ligação covalente ao sítio esterásico da enzima e é estabilizada pela formação de ânion superóxido decorrente da reação. Os sinais de intoxicação aguda estão associados à inibição da colinesterase, ou seja, efeitos colinérgicos exacerbados. A toxicidade crônica é relacionada a efeitos neurotóxicos (WOODS, 1991-1999). A IDA do metamidofós é de 0,004 mg/kg (ANVISA, 2003b).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o risco tóxico do uso de pesticidas na alimentação e a possível toxicidade reprodutiva em ratos expostos a diferentes doses de misturas de pesticidas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Comparar os valores de LMR com os valores residuais determinados pelo relatório do PARA.
- b) Comparar os valores de IDA dos pesticidas com os valores consumidos pela população, tendo como base 60 Kg como peso médio da população.
- c) Comparar a quantidade de pesticidas diferentes encontrados em uma mesma cultura na forma de resíduos e seu uso irregular.
- d) Avaliar a taxa de risco crônico de populações expostas aos pesticidas, pela ingestão de alimentos contaminados.
- e) Avaliar a toxicidade reprodutiva em ratas expostas durante a prenhez e lactação, à mistura de pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses correspondentes à IDA e IDAx100.
- f) Avaliar a toxicidade reprodutiva em descendentes de ratas expostas durante a prenhez e lactação, à mistura de pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses correspondentes à IDA e IDAx100.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 RESÍDUOS DE PESTICIDAS NA ALIMENTAÇÃO E RISCO TÓXICO

Para a realização deste trabalho foram comparados dados do relatório do PARA realizado no período de 2001/02 e 2003 e dados da tabela de consumo alimentar, com exceção do morango, do qual não foi encontrada pesquisa estatística de consumo. Este estudo foi feito com o uso da Pesquisa de Orçamentos Familiares do IBGE (POF/IBGE) de 1995-1996, pois a nova pesquisa prevista para 2002-2003 ainda não estava acessível durante sua execução (IBGE, 2003). Os dados do PARA e da POF/IBGE encontram-se nas páginas eletrônicas oficiais da ANVISA e IBGE, respectivamente.

O estudo comparativo entre os dados de 2001/02 e 2003 do PARA envolve variáveis como o Limite Máximo de Resíduos (LMR), as concentrações de resíduos, a quantidade de pesticidas utilizados em uma mesma cultura, o uso autorizado ou não, a IDA e os valores consumidos de pesticidas, tendo como base 60 kg como de peso médio da população. A observação do consumo alimentar anual e a quantidade de resíduos presente em cada cultura, permitiu calcular a Ingestão Diária de Resíduos (IDR) pra cada pesticida e compará-la com a IDA. A IDR foi presumida como sendo a ingestão diária real de pesticidas *per capita* quando cruzados os dados da POF/IBGE e os relatórios do PARA/ANVISA.

4.1.1 PRESENÇA DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS

Durante os períodos de 2001/02 e 2003 foi comparada a presença ou não de resíduos de pesticidas (96 diferentes substâncias) em nove culturas (2647 amostras). Para a realização desta comparação foram utilizados os dados do relatório do PARA apresentado em 2004 (ANVISA, 2005).

4.1.2 PESTICIDAS COM RESÍDUOS ACIMA DO LMR

Os pesticidas detectados em forma de resíduos foram tabelados em dois grupos: acima e dentro do LMR. Os pesticidas sem limite máximo estabelecido foram incluídos no grupo acima do limite, considerando os seus LMR como sendo zero. O LMR é fornecido na unidade de ppm (partes por milhão).

4.1.3 PESTICIDAS COM USO NÃO AUTORIZADO

Os pesticidas encontrados como resíduos nas culturas foram tabulados em dois grupos: pesticidas com o uso autorizado e não autorizado.

4.1.4 CARACTERIZAÇÃO DE RISCO (%IDA)

O cálculo da Caracterização de Risco (%IDA) foi feito com base na IDR e na IDA, através de adaptação da fórmula usada por (CALDAS e SOUZA, 2000). O pesticida foi considerado de potencial risco toxicológico quando a %IDA foi acima de 100. A IDR foi calculada usando os maiores valores de resíduos de pesticidas encontrados no relatório do PARA e os dados de consumo alimentar (ANVISA, 2003a; COLLUCCI, 2003; IBGE, 2003). A IDA é fornecida em mg/kg de peso corpóreo/dia

4.1.4.1 FÓRMULAS

IDR (mg) = consumo anual de resíduos (mg) /365 (dias)

Consumo anual de resíduos (mg) = resíduo (ppm) x consumo anual de alimentos (kg)

%IDA = IDR x 100 / IDA x peso corpóreo (60 kg). *

*A fórmula foi adaptada de %IDA = IDTM x 100 / IDA x peso corpóreo (60 kg), onde a IDTM é Ingestão Diária Teórica Máxima (CALDAS e SOUZA, 2000).

4.1.5 PRESENÇA DE DIFERENTES PESTICIDAS NA MESMA CULTURA

Os pesticidas residuais encontrados foram tabulados quanto a sua presença em cada uma das culturas. Foram formados então nove grupos: alface, banana, batata, cenoura, laranja, maçã, mamão, morango e tomate.

4.1.6 PESTICIDAS LISTADOS COMO POSSÍVEIS DESREGULADORES ENDÓCRINOS

Através da análise em diversas listas de substâncias com possível atividade endócrina foram pesquisados os pesticidas que estavam inclusos nestas listas.

4.2 TOXICIDADE REPRODUTIVA EM RATOS WISTAR EXPOSTOS À MISTURA DE PESTICIDAS

A partir da adaptação de um protocolo proposto pelo EDSTAC (Endocrine Disruptors Screening and Testing Advisor Committee), o Ensaio de Exposição Gestacional/Lactacional (EPA, 2002), que detecta efeitos reprodutivos e de desenvolvimento, mediados por alterações nas vias estrogênica, androgênica e tireoideana, é que foi utilizado no presente estudo. O protocolo desenvolvido está apresentado esquematicamente na figura 1.

4.2.1 ANIMAIS

Neste estudo foram utilizados 60 *Rattus norvegicus* (45 fêmeas e 15 machos), linhagem Wistar, criados e mantidos no biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Os animais foram mantidos em salas com temperatura controlada ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$), obedecendo ao ciclo claro/escuro de 12 horas (luzes acesas das 7 às 19 horas) e recebendo água e ração *ad libitum*. Dez dias antes de iniciarem os experimentos, os animais foram desverminados (Basken[®] suspensão: pirentel e oxantel - König: duas doses via oral de 0,1 mL/animal).

4.2.2 SUBSTÂNCIAS PARA TRATAMENTO

Os pesticidas escolhidos foram os que preencheram os critérios em uma lista de classificação de exposição e cálculo do risco tóxico, presença em listas de possíveis desreguladores endócrinos, diferentes classes químicas e disponibilidade das substâncias. Os pesticidas foram adquiridos em lojas especializadas, na forma de produto comercial: SEVIN[®] SC (carbaril 480mg/mL), FORTIS[®] 2,5 CS (lambda-

cialotrina 25mg/mL) e TAMARON® 600 BR (metamidofós 600mg/mL). Foi utilizada água destilada para a diluição dos pesticidas dos grupos teste e como substância controle. O veículo foi determinado conforme orientação dos fabricantes dos pesticidas, mantidas condições de pH para maior estabilidade da diluição para administração nos animais.

4.2.3 ACASALAMENTO

Ratas Wistar (n = 45) foram acasaladas com ratos machos adultos durante a fase escura do ciclo de luz (12 horas), na proporção de um macho para três fêmeas. Foram feitos esfregaços vaginais diários, de cada fêmea, para verificar a presença de espermatozoides e confirmar a cópula, sendo que o dia de detecção de espermatozoides no esfregaço vaginal foi considerado como dia zero da prenhez. O esfregaço foi realizado com o auxílio de uma micropipeta, através da lavagem vaginal com 50 µL de água destilada e posterior avaliação, a fresco, em microscopia ótica (aumento 200x). Os acasalamentos foram repetidos diariamente até a obtenção de um número suficiente de progenitoras para a realização dos experimentos (15 fêmeas por grupo). As fêmeas prenhas foram mantidas em caixas coletivas de polipropileno (414 x 344 x 168 mm), em número de três por caixa (uma de cada grupo), e separadas individualmente no nascimento dos filhotes. O dia do parto foi designado como primeiro dia pós-natal, e os filhotes foram desmamados no 21º dia de lactação (dpn21).

4.2.4 DOSES E TRATAMENTO

As fêmeas prenhas obtidas durante os acasalamentos foram separadas randomicamente em três grupos. Foram usados grupos experimentais com 15 animais cada, sendo um para o controle negativo usando o veículo, e dois grupos tratados com a mistura dos pesticidas. Os dois grupos de misturas foram tratados diariamente por via oral (três gavagem), com duas diferentes doses da mistura de pesticidas do sexto dia de prenhez (dg6) até o 21º dia de lactação (dpn21=desmame). O tratamento foi feito com as drogas isoladas e misturadas *in vivo*. O grupo controle foi tratado apenas com o veículo (água destilada), mas com três gavagens diárias. As doses dos pesticidas foram baseadas na IDA, que representa a dose diária aceitável para humanos e na IDAx100 (ANVISA, 2003b; NPIC 1997).

As doses utilizadas foram:

Carbaril (SEVIN® 480 SC)

IDA = 0,003 mg/kg

IDA_{x100} = 0,3 mg/kg

Lambda-cialotrina (FORTIS® 2,5 CS)

IDA = 0,05 mg/kg

IDA_{x100} = 5,0 mg/kg

Metamidofós (TAMARON® 600 BR)

IDA = 0,004 mg/kg

IDA_{x100} = 0,4 mg/kg

4.2.5 PRENHEZ E LACTAÇÃO

O dia em que foram encontrados os espermatozóides no esfregaço vaginal, inferindo prenhez, foi considerado dia zero da prenhez (dg0). As fêmeas prenhas foram mantidas em três por caixa (uma de cada grupo de tratamento) até o 18º dia de prenhez (dg 18), quando foram separadas individualmente. A diferenciação dos animais nas caixas foi feita através de marcas coloridas na base da cauda, utilizando canetas tipo marcador para retro projetor.

O tratamento das fêmeas prenhas foi iniciado no sexto dia de prenhez (dg 6) evitando influência dos pesticidas na implantação do embrião no útero (perdas pós-implantações), que em ratos acontece cinco a seis dias após a fecundação (BERNARDI et al., 2002). O dia do parto foi chamado de primeiro dia pós-natal (dpn1). As fêmeas que estavam parindo no horário da administração dos pesticidas, não foram tratadas no dia. O tratamento persistiu até o dia 21º dia de lactação (dpn21), quando as progenitoras foram separadas dos filhotes (desmame). No sexto dia pós-natal (dpn6) foi feita a sexagem dos filhotes e mantidos todos na mesma caixa com a progenitora. A

sexagem foi feita pela visualização da distância ano-genital, sendo maior nos machos em relação às fêmeas.

A massa corporal de cada progenitora foi registrada a cada dia desde o início da prenhez (dg1) até o fim da lactação (dpn21), sendo avaliada a presença de algum sinal de toxicidade (perda de peso, piloereção, tremores, salivação, diarreia, convulsões, etc). A partir do 18º dia de prenhez (dg18) cada fêmea foi examinada uma vez ao dia (início da manhã) para averiguar o nascimento dos filhotes, registrando o tempo de prenhez.

Para obtenção de dados da prenhez e lactação foram registrados: o número de filhotes nascidos, a proporção de filhotes nascidos vivos (índice de nascimento), a sobrevivência durante a lactação (índices de viabilidade e desmame) e a proporção entre machos e fêmeas (razão sexual). No dia do desmame, as progenitoras foram sacrificadas por decapitação. Foram também retirados os seus órgãos (fígado e rins) para controle da massa e útero para contagem do número de implantações uterinas e registro de perdas pós-implantação. As progenitoras que não pariram até o considerado 26º dia de prenhez foram sacrificadas e feita avaliação do útero para presença de implantações uterinas. As variáveis citadas acima foram determinadas conforme recomendado pela EPA (1996).

4.2.5.1 FÓRMULAS

$$a) \text{ índice de nascimento (\%)} = \frac{\text{nº de filhotes nascidos vivos}}{\text{nº de filhotes nascidos}} \times 100$$

$$b) \text{ índice de viabilidade dpn 4 (\%)} = \frac{\text{nº de filhotes vivos no dpn 4}}{\text{nº de filhotes nascidos vivos}} \times 100$$

$$c) \text{ índice de desmame (\%)} = \frac{\text{nº de filhotes vivos no desmame}}{\text{nº de filhotes nascidos vivos}} \times 100$$

$$d) \text{ razão sexo} = \frac{\text{nº de filhotes machos}}{\text{nº de filhotes fêmeas}}$$

$$e) \text{ perdas pós-implantações(\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{implantações} - \text{n}^\circ \text{filhotes nascidos vivos}}{\text{n}^\circ \text{de implantações}} \times 100$$

4.2.6 DESCENDENTES NO PERÍODO LACTACIONAL

A primeira geração de descendentes foi avaliada sem distinção entre os machos e as fêmeas. Durante a lactação, a massa corporal de cada filhote foi registrada nos dias 1, 7, 14 e 21 pós-natal. Para as variáveis de desenvolvimento geral foram feitas as seguintes avaliações: tamanho das ninhadas, massa dos filhotes ao nascer e ao desmame, tempo (dias) para descolamento bilateral dos pavilhões auriculares, surgimento de pêlos e abertura bilateral dos olhos.

4.2.7 AVALIAÇÃO DOS DESCENDENTES MASCULINOS

4.2.7.1 DESENVOLVIMENTO PONDERAL

O desenvolvimento ponderal foi feito tomando-se a massa dos descendentes nos dias 1, 7, 14 e 21 após o nascimento.

4.2.7.2 DESCIDA BILATERAL DOS TESTÍCULOS

Os descendentes machos foram avaliados quanto ao momento da descida bilateral dos testículos à bolsa escrotal, o qual foi investigado através da palpação diária da bolsa escrotal a partir do 14^o dia pós-natal e subseqüentemente até que todos os descendentes apresentaram essa característica.

4.2.7.3 SEPARAÇÃO PREPUCIAL COMPLETA

A separação prepucial foi investigada diariamente a partir do 33º dia pós-natal, através da retração manual do prepúcio, até que a separação prepucial estivesse completa em todos os descendentes.

4.2.7.4 VARIÁVEIS REPRODUTIVAS

O sacrifício para a investigação das variáveis reprodutivas nesses animais foi realizado quando os ratos estavam em idade adulta (110 ± 20 dias). Os animais foram sacrificados e avaliados quanto aos seguintes parâmetros: massa relativa dos testículos, epidídimos, glândulas sexuais acessórias (próstata e vesícula seminal), fígado e rins; produção espermática diária; contagem de espermatozóides na cauda do epidídimo e tempo de trânsito espermático na cauda do epidídimo.

a) Massa relativa de órgãos – Foram determinados as massas absolutas e relativas (massa absoluta do órgão $\times 100$ /massa corporal) dos testículos, epidídimos, próstata, vesícula seminal (com glândulas coaguladoras), fígado e rins. Para órgãos pares (testículos, epidídimos e rins) foi utilizada média entre os lados esquerdo e direito. A retirada e aferição das massas dos órgãos foram feitas logo após o sacrifício dos animais por decapitação. Os testículos foram aferidos sem a túnica albugínea, a próstata foi aferida sem a cápsula prostática enquanto a aferição da vesícula seminal foi realizada após a retirada do líquido seminal por perfuração e raspagem.

b) Produção espermática diária, contagem de espermatozóides na cauda do epidídimo e tempo de trânsito espermático - Após a remoção da túnica albugínea, cada testículo foi homogeneizado em 10 mL de cloreto de sódio 0,9% (salina) contendo 0,5% de Triton X-100 em homogeneizador de tecidos por 1 minuto. O homogeneizado foi diluído 10 vezes em salina para a contagem microscópica do número de espermátides resistentes a homogeneização (espermátides nos estágios 17 a 19), em câmara hemocitométrica de Bürker. O número de espermátides por animal, obtido pela soma das contagens do testículo esquerdo e direito, foi dividido por 6,1 dias para a conversão

em produção espermática diária. Esse divisor (6,1) corresponde ao número de dias do epitélio seminífero em que as espermatídes nos estágios 17 a 19 estão presentes. Para a contagem do número de espermatozóides, as caudas dos epidídimos foram cortadas em pequenos pedaços, homogeneizadas e processadas da mesma forma que os testículos. O tempo de trânsito espermático na cauda do epidídimo foi obtido através divisão do número de espermatozóides pela produção espermática diária.

4.2.8 AVALIAÇÃO DAS DESCENDENTES FEMININAS

4.2.8.1 DESENVOLVIMENTO PONDERAL

O desenvolvimento ponderal foi feito tomando-se a massa corporal dos descendentes nos dias 1, 7, 14 e 21 após o nascimento.

4.2.8.2 ABERTURA DO CANAL VAGINAL

Para cada grupo de tratamento, todas as descendentes fêmeas foram separadas randomicamente, no dia do desmame. A partir do 30º dia pós-natal, as descendentes foram examinadas diariamente para registro do dia da completa abertura do canal vaginal.

4.2.8.3 PRIMEIRO ESTRO E REGULARIDADE DO CICLO ESTRAL

A partir do dia da abertura completa do canal vaginal, foi realizado, diariamente, o esfregaço vaginal, para a observação, em microscopia ótica (aumento de 200x), dos tipos celulares do epitélio vaginal, para o registro do dia do primeiro estro e avaliação da regularidade do ciclo estral, observando o tempo (dias) entre dois estros consecutivos durante quatro estros (três ciclos completos), em até no máximo 15 dias. Foram consideradas fêmeas regulares, aquelas que apresentaram 3 ou 4 estros durante os 15 dias de avaliação.

4.2.8.4 VARIÁVEIS REPRODUTIVAS

As descendentes fêmeas foram sacrificadas por decapitação, no dia do 4º estro (77 ± 7) ou após o 15º dias de avaliação, sendo então retirados fígado e rins. Todos os órgãos foram dissecados cuidadosamente para a retirada da gordura adjacente e registradas suas massas, sendo reportado o valor absoluto e em relação à massa corporal. Para os órgãos pares (rins) foi reportada a média das massas.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis com medidas intervalares e que apresentaram distribuição normal foram analisadas através de análise de variância (ANOVA). As diferenças entre os grupos foram determinadas pelos testes de Bonferroni. As variáveis com medidas ordinais ou aquelas que não apresentaram distribuição normal ou homogeneidade entre as variâncias foram analisadas através do teste Kruskal-Wallis e as diferenças entre os grupos foram determinadas pelo teste de Dunn. As variáveis indicadas como índices ou percentuais foram analisadas pelos testes de qui-quadrado, com exceção das massas relativas de órgãos, que também foram analisadas através da ANOVA seguido de Bonferroni. O nível de significância estatística utilizado foi de 5% ($P < 0,05$). A massa corporal dos filhotes e as variáveis de desenvolvimento geral e sexual dos filhotes foram analisadas utilizando as ninhadas como unidades estatísticas. O ganho de massa das progenitoras durante a prenhez e a lactação foi analisado por análise de variância de uma via. Os dados da prenhez (tamanho das ninhadas, duração da prenhez e número de implantações uterinas), algumas variáveis de avaliação da idade adulta (tempo de trânsito espermático) e as variáveis de desenvolvimento geral e sexual das progênes foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. Variáveis como massa corporal e de órgãos, produção espermática diária, contagem de espermatozoides na cauda do epidídimo foram analisadas por análise de variância de uma via. Os índices de nascimento, viabilidade e desmame, bem como as perdas pré e pós-implantações e a razão sexual foram analisados pelo teste do qui-quadrado. Para a análise estatística e a confecção dos gráficos foi utilizado o programa Graphpad Prism® versão 3.0.

5 RESULTADOS

5.1 RESÍDUOS DE PESTICIDAS NA ALIMENTAÇÃO E RISCO TÓXICO

5.1.1 PRESENÇA DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS

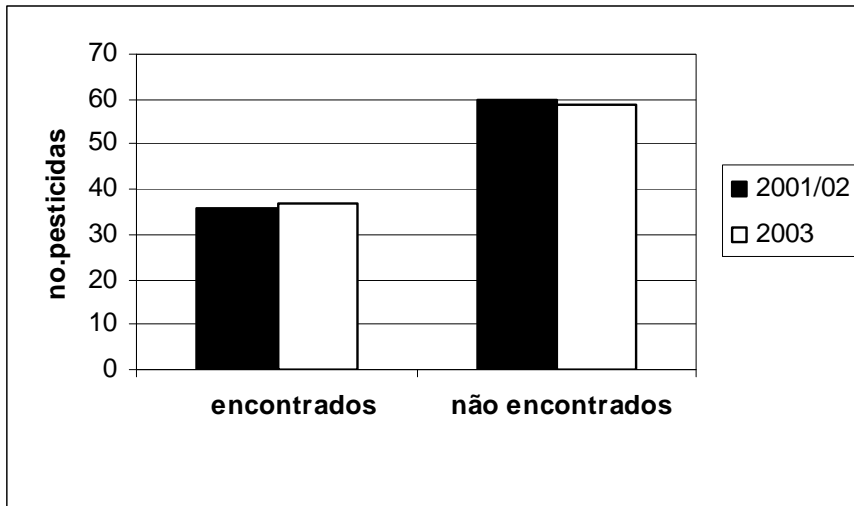
Como resultado da pesquisa do PARA, onde foram coletadas amostras de nove culturas, sendo 300 amostras de alface, 231 de banana, 368 de batata, 265 de cenoura, 344 de laranja, 208 de maçã, 287 de mamão, 287 de morango e 377 de tomate, foram publicados os seguintes resultados:

Foi possível a análise de 2647 amostras, sendo 1278 delas no ano de 2001/02 e 1369 amostras em 2003. Nas 2647 amostras analisadas foram encontradas 1321 amostras com resíduos, e um total de 2256 resíduos detectados. Dentre os resíduos detectados, 1536 (68,1%) eram de uso regular e 720 (31,9%) de uso irregular. E entre os pesticidas com uso irregular, 640 (88,9%) eram de uso não autorizado e 80 (11,1%) de uso acima do LMR (ANVISA, 2005). Os dados relatados nos gráficos abaixo são relativos aos relatórios do PARA dos anos de 2001/02 e 2003.

A análise da IDR para todos os pesticidas presentes nas culturas mostrou que todos estavam com o consumo abaixo da IDA (para os pesticidas em que a IDA estava publicada pela ANVISA).

Dos 96 pesticidas analisados, 36 estavam presentes como resíduos em 2001/2002 e 37 em 2003 (gráfico 1).

GRÁFICO 1 - NÚMERO DE PESTICIDAS ENCONTRADOS OU NÃO NA FORMA DE RESÍDUOS NO ALIMENTO

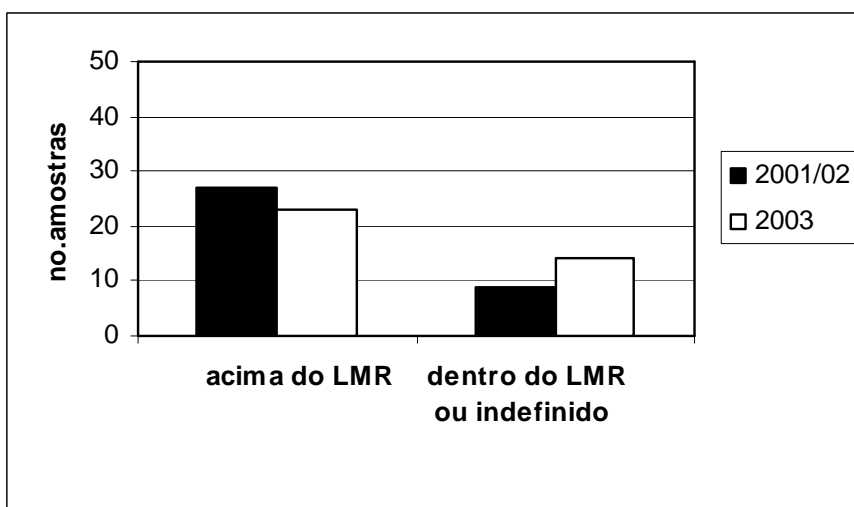


5.1.2 PESTICIDAS COM RESÍDUOS ACIMA DO LMR

Dos 36 pesticidas encontrados como resíduos nas culturas, 27 estavam em concentrações acima do LMR permitido e 9 dentro do LMR em 2001/02.

Em 2003 foram constatados 23 pesticidas acima do LMR e 14 dentro do LMR (gráfico 2).

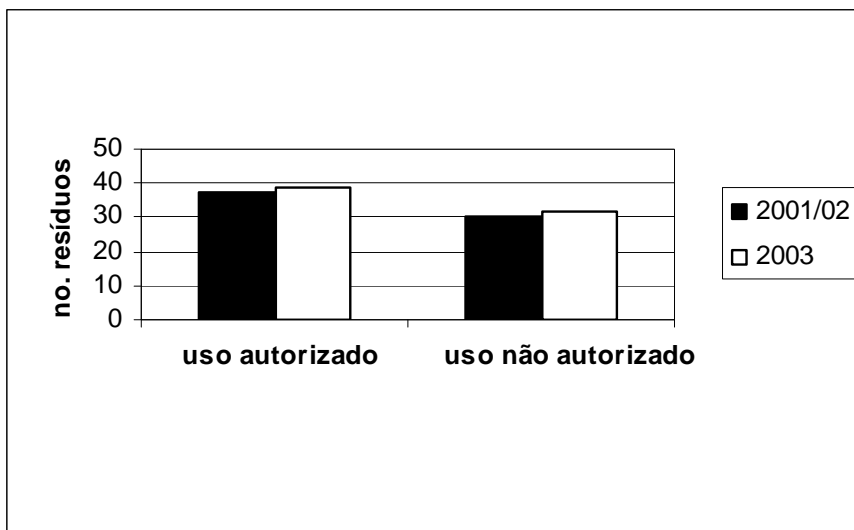
GRÁFICO 2 - PRESENÇA DE PESTICIDAS ACIMA E DENTRO DO LMR NAS CULTURAS PESQUISADAS



5.1.3 PESTICIDAS COM USO NÃO AUTORIZADO

Dos 96 pesticidas investigados nas nove culturas, 30 resíduos de pesticidas foram encontradas em desacordo com a legislação em 2001 e 32 em 2003 (gráfico 3).

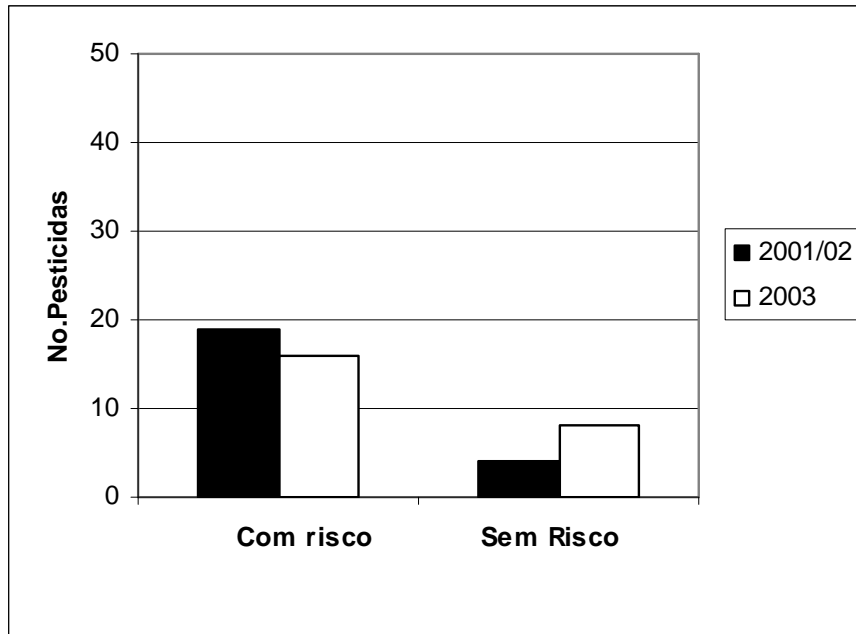
GRÁFICO 3 – RESÍDUOS PRESENTES NAS CULTURAS COM USO AUTORIZADO OU NÃO



5.1.4 CARACTERIZAÇÃO DE RISCO (%IDA)

A caracterização de risco foi feita através do cálculo apenas para os pesticidas (36 em 2001 e 37 em 2003) em que foi encontrado o valor de IDA no índice monográfico da ANVISA. Em 2001 foram encontradas 19 pesticidas que estavam com %IDA > 100 (com risco tóxico) e 4 com %IDA < 100 (sem risco tóxico). Em 2003, o número de pesticidas com risco tóxico diminuiu para 16 e o número de pesticidas que não apresentam risco tóxico aumentou para 8 (gráfico 4).

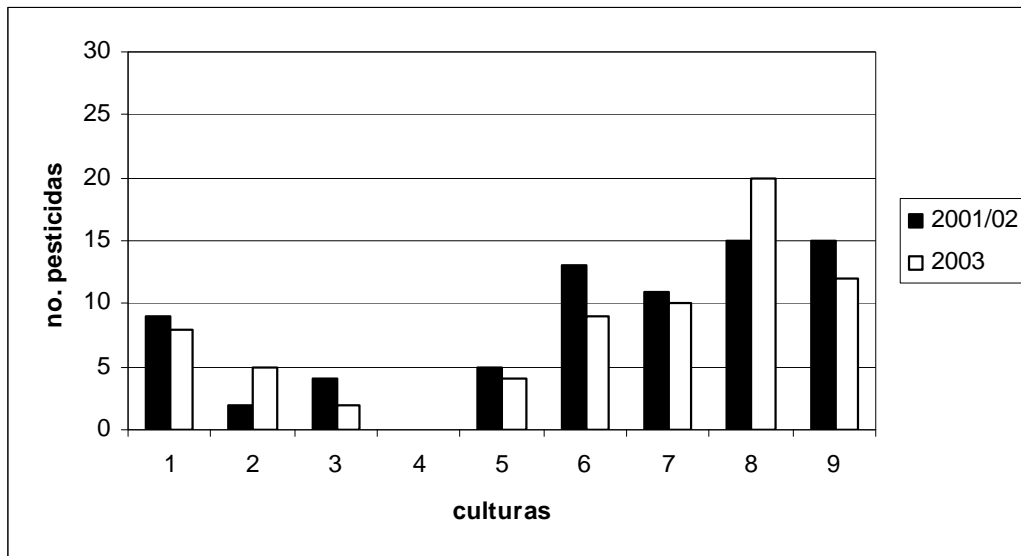
GRÁFICO 4 - RESÍDUOS DE PESTICIDAS COM OU SEM RISCO TÓXICO (23 AMOSTRAS EM 2001/02 E 24 EM 2003)



5.1.5 - PRESENÇA DE DIFERENTES PESTICIDAS NA MESMA CULTURA

No gráfico 5 está demonstrada a proporção de diferentes pesticidas utilizados em uma mesma cultura. Pode-se constatar que há um número maior de pesticidas em 2003 nas culturas de banana e morango. Em 8 das 9 culturas pesquisadas foram encontrados resíduos de pesticidas. A exceção foi a cultura de cenoura. Em todas as culturas positivas para pesticidas foram detectados mais de um pesticida utilizado.

GRÁFICO 5 - NÚMERO DE PESTICIDAS PRESENTES NAS CULTURAS INVESTIGADAS

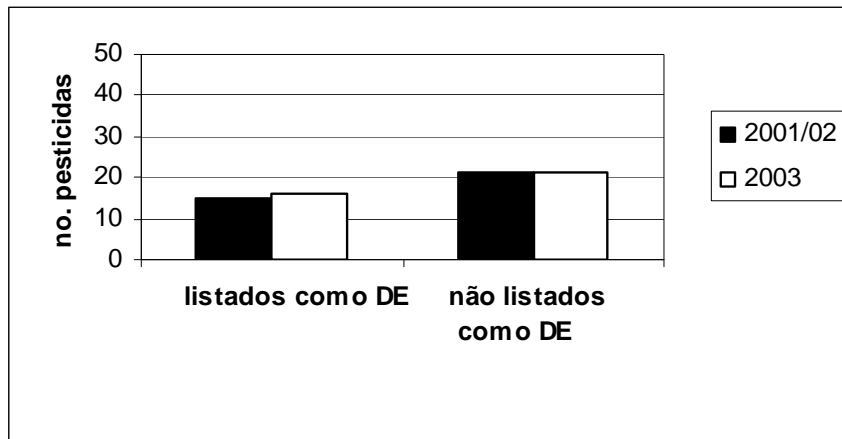


NOTA: 1=alface, 2=banana, 3=batata, 4=cenoura, 5=laranja, 6=maçã, 7=mamão, 8=morango, 9=tomate.

5.1.6 PESTICIDAS LISTADOS COMO POSSÍVEIS DESREGULADORES ENDÓCRINOS

Entre os 36 pesticidas presentes como resíduos nas culturas pesquisadas em 2001/02, 15 (42%) deles estavam presentes em listas como possíveis DE. No ano de 2003, apesar dos pesticidas investigados serem diferentes, o número de resíduos com indicação de DE não se alterou (16 - 43%) (gráfico 6).

GRÁFICO 6 - LISTADOS COMO POSSÍVEIS DESREGULADORES ENDÓCRINOS (DE)

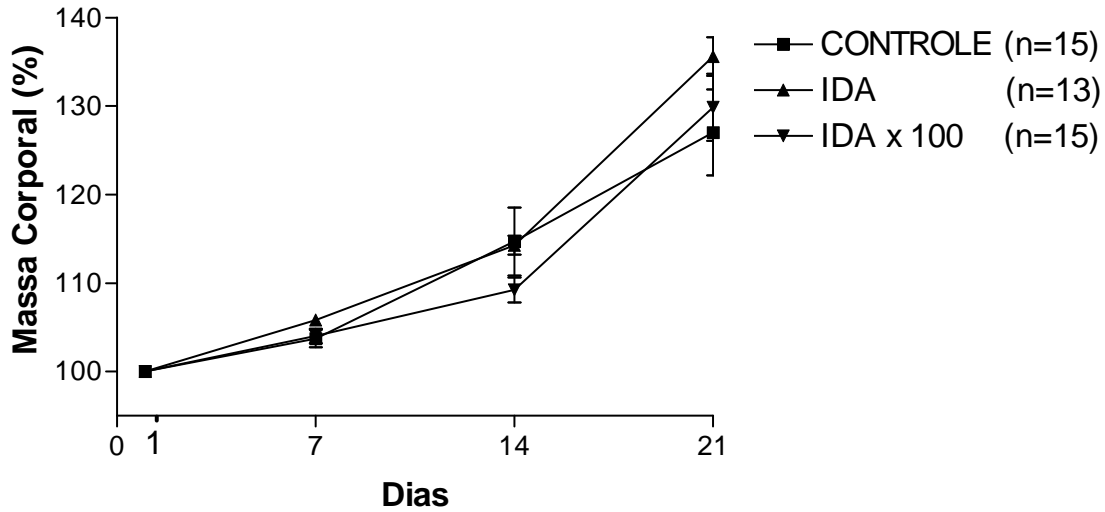


5.2 TOXICIDADE REPRODUTIVA EM RATOS WISTAR EXPOSTOS À MISTURA DE PESTICIDAS

5.2.1 PRENHEZ E LACTAÇÃO

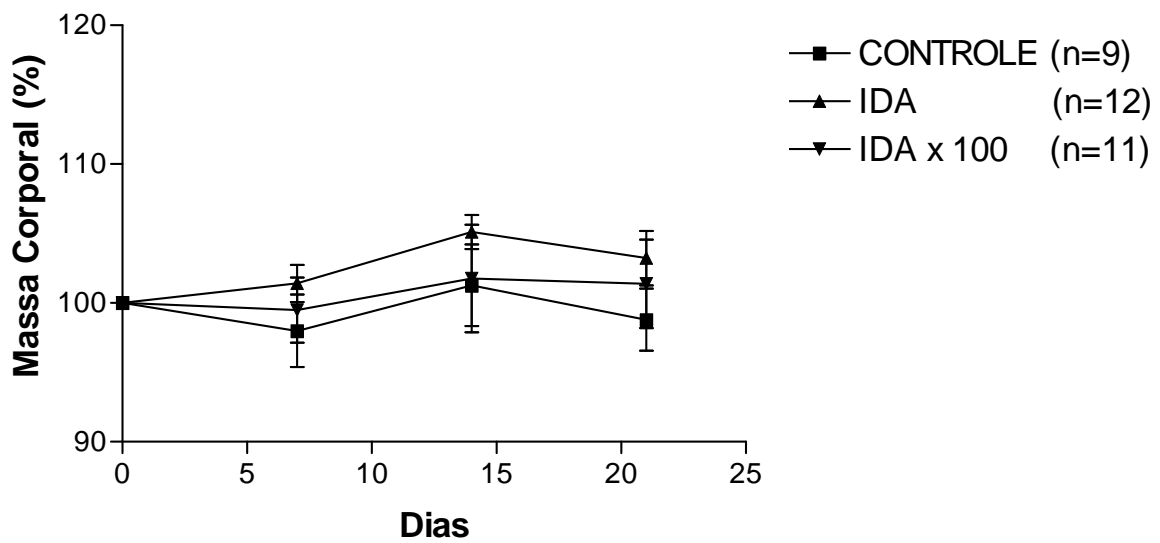
As fêmeas tratadas com os pesticidas combinados foram avaliadas quanto ao ganho de massa durante o período gestacional (prenhez) (gráfico 7) e período lactacional (gráfico 8). A administração da mistura de pesticidas (carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós) nas doses avaliadas não afetou o ganho de massa corporal das progenitoras no período gestacional, nem interferiu na sua massa durante a lactação.

GRÁFICO 7 - MASSA RELATIVA CORPORAL DURANTE A PREENHEZ



NOTAS: Massa corporal relativa de ratas Wistar durante a prenhez (percentual em relação à massa corporal no primeiro dia de prenhez). n = número de animais.

GRÁFICO 8 - MASSA RELATIVA CORPORAL DURANTE A LACTAÇÃO



NOTAS: Massa corporal relativa de ratas Wistar durante a lactação (percentual em relação à massa corporal no primeiro dia de lactação). n = número de animais.

5.2.2 MASSA DE ÓRGÃOS DAS PROGENITORAS

A massa relativa dos órgãos (fígado e rins) não foi afetada pelos pesticidas nas doses avaliadas para as ratas progenitoras expostas durante a prenhez e lactação (tabela 2).

TABELA 2 - MASSA RELATIVA DE ÓRGÃOS DE RATAS EXPOSTAS NA PRENHEZ E LACTAÇÃO

Variáveis / Grupos	Controle (n=9)	IDA (n=12)	IDAx100 (n=11)
Massa relativa do fígado (%)	4,63 ± 0,22	4,67 ± 0,16	4,67 ± 0,20
Massa relativa dos rins (%)	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01
Massa corporal absoluta (g)	280 ± 7,50	287 ± 6,46	278 ± 6,60

NOTAS: Massa relativa de órgãos (em relação à massa corporal) de ratas Wistar expostas à mistura dos pesticidas Carbaril, Lambda-cialotrina e Metamidofós, nas doses relativas à IDA e IDAx100. Os resultados expressam média ± erro padrão. As progenitoras foram utilizadas como unidade estatística.

Os pesticidas não interferiram na duração da prenhez, no índice de nascimento, desmame e viabilidade, nas perdas pós-implantações, no tamanho das ninhadas e na razão de sexo (tabela 3).

TABELA 3 – DADOS DA PREENHEZ E LACTAÇÃO

Variáveis / Grupos	Controle (n=9)	IDA (n=12)	IDAx100 (n=13)
Tempo de Prenhez (dias)	22,2 ± 0,42	22,3 ± 0,45	22,2 ± 0,58
Tamanho das Ninhadas	9,90 ± 3,07	9,75 ± 2,73	10,0 ± 1,83
Índice de Nascimento %	97,2	98,6	100,0
Índice de Viabilidade %	87,2	90,0	90,7
Índice de Desmame %	87,2	89,2	69,9
Perdas Pós- implantações%	13,2 ± 24,2	9,1 ± 16,6	2,5 ± 4,47
Razão Sexual (%) (m/f)	57 / 43	46 / 54	54 / 46

NOTAS: Ratas Wistar prenhas tratadas diariamente, via oral, do sexto dia de prenhez ao 21º dia de lactação, com mistura dos pesticidas: carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses relativas à IDA e IDAx100.

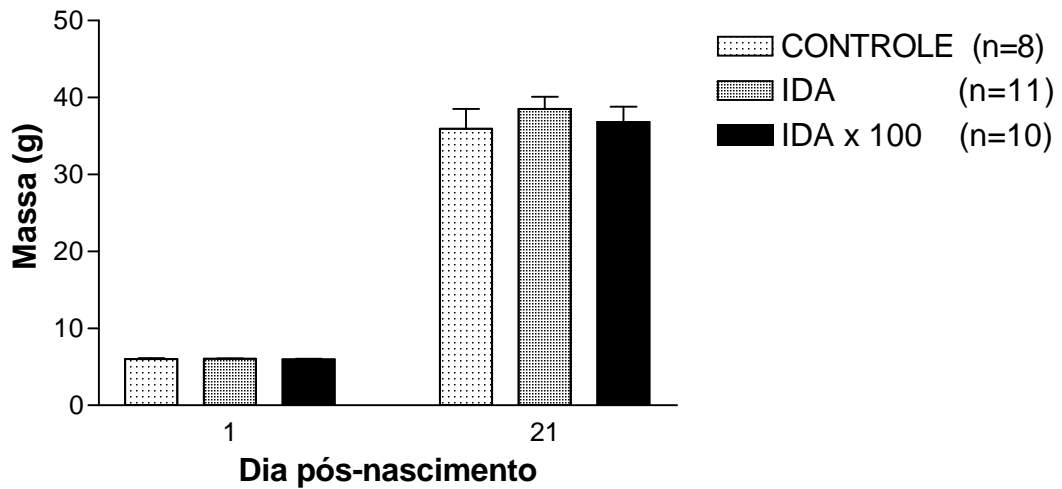
Os resultados expressos como média ± erro padrão ou como percentual, exceto na variável razão sexual, onde foi apresentado a razão machos/fêmeas.

As ninhadas foram utilizadas como unidade estatística, exceto na variável razão sexual, onde cada filhote foi utilizado como unidade estatística.

5.2.3 DESCENDENTES NO PERÍODO LACTACIONAL

A massa corporal ao nascer e ao desmame não diferiu entre os descendentes expostos à mistura de pesticidas e os que receberam apenas veículo (gráfico 9). O desenvolvimento ponderal dos filhotes durante a lactação não foi afetado com a administração dos pesticidas (gráfico 10), bem como o período (dias) para descolamento bilateral das orelhas, aparecimento de pêlos e abertura bilateral dos olhos (tabela 4).

GRÁFICO 9 - MASSA ABSOLUTA DE FILHOTES NO 1ºDPN E NO 21ºDPN

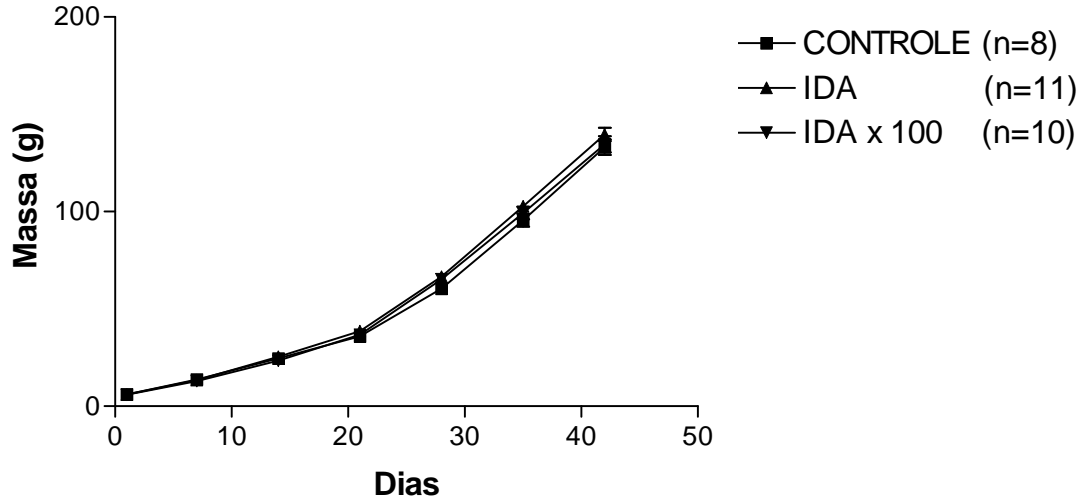


NOTAS: Massa corporal absoluta dos filhotes no 1º.dpn e no 21º.dpn, expostos durante prenhez e lactação à mistura de pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós nas doses IDA e IDAx100.

Os resultados expressos como média \pm erro padrão.

As ninhadas foram utilizadas como unidade estatística.

GRÁFICO 10 – DESENVOLVIMENTO PONDERAL DA PROGÊNIE



NOTAS: Ganho de massa dos filhotes de ratas Wistar durante a prenhez, com percentual em relação à massa no primeiro dia de prenhez, expostos durante prenhez e lactação à mistura de pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós nas doses IDA e IDAx100

Os resultados expressos como média \pm erro padrão.

As ninhadas foram utilizadas como unidade estatística.

TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS DO DESENVOLVIMENTO GERAL DE RATOS WISTAR ATÉ O DESMAME

Variáveis / Grupos	Controle (n=8)	IDA (n=11)	IDAx100 (n=10)
Descolamento de Orelhas (dias)	3,19 ± 0,54	3,66 ± 0,95	3,54 ± 1,47
Aparecimento de Pêlos (dias)	8,62 ± 0,64	8,79 ± 0,6	8,67 ± 0,51
Abertura de Olhos (dias)	15,3 ± 0,46	15,3 ± 0,51	15,0 ± 0,56

NOTAS: Características do desenvolvimento geral de ratos Wistar expostos à mistura dos pesticidas: carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses relativas à IDA e IDAx100.
Os resultados expressos como média ± erro padrão.
As ninhadas foram utilizadas como unidade estatística.

5.2.4 DESENVOLVIMENTO SEXUAL DOS DESCENDENTES

A exposição à mistura dos pesticidas não interferiu nas variáveis externas de desenvolvimento sexual dos descendentes masculinos e femininos. Entre os tempos médios para descida dos testículos à bolsa escrotal e para separação prepucial houve diferença significativa apenas na variável separação prepucial entre o grupo IDA e o grupo Controle. O tempo para a abertura do canal vaginal nas fêmeas não foi significativamente diferente entre os grupos testados e o grupo controle (tabela 5).

TABELA 5 - DESENVOLVIMENTO SEXUAL DOS DESCENDENTES

Variáveis / Grupos	Controle (n=8)	IDA (n=11)	IDAx100 (n=10)
Descida de Testículos (dias)	15,7 ± 0,38	15,7 ± 0,24	15,3 ± 0,15
Separação Prepuccial (dias)	34,9 ± 0,35	33,8 ± 0,22*	34,2 ± 0,20
Abertura de Canal Vaginal al (dias)	34,7 ± 0,66	35,5 ± 1,51	35,4 ± 1,37

NOTAS: Período (dias) para a descida dos testículos, completa separação prepuccial e abertura de canal vaginal de ratos Wistar expostos à mistura dos pesticidas: carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses relativas à IDA e IDAx100.

Os resultados expressam média ± erro padrão.

As ninhadas foram utilizadas como unidade estatística.

5.2.5 CICLO ESTRAL

A exposição da mistura dos pesticidas não foi capaz de interferir no ciclo estral de fêmeas expostas no período gestacional e lactacional. O dia para o primeiro estro, o intervalo de dias entre os estros e a regularidade do ciclo estral (três ciclos completos) não foram afetados pelos pesticidas em relação ao controle (tabela 6).

TABELA 6 – INTERVALO ENTRE ESTROS, DIA DO PRIMEIRO ESTRO E REGULARIDADE DO CICLO DE RATAS DESCENDENTES EXPOSTAS NA PRENHEZ E LACTAÇÃO

Variáveis / Grupos	Controle (n=8)	IDA (n=11)	IDAx100 (n=10)
Intervalo (dias) entre estros	6,20 ± 1,09	7,42 ± 1,82	6,29 ± 0,96
Dia do 1º. estro	38,2 ± 3,30	39,0 ± 3,62	40,1 ± 4,38
Ciclo regular	25 (78,1%)	34 (79,1%)	31 (79,5%)

NOTAS: Intervalo de dias entre os estros, dia do primeiro estro e regularidade do ciclo de ratas Wistar expostas na prenhez e lactação à mistura dos pesticidas: carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses relativas à IDA e IDAx100.

Os resultados expressam como média ± erro padrão, exceto na variável de regularidade de ciclo, onde foi expresso o percentual.

As ninhadas foram utilizadas como unidade estatística, exceto nas variáveis dia do 1º estro e regularidade de ciclo, onde foram utilizadas cada fêmea da progênie como unidade estatística,

5.2.6 MASSA DE ÓRGÃOS DA PROGÊNIE FEMININA

Em relação a massa relativa dos órgãos da progênie feminina (fígado, rins), houve diferença estatística significativa entre os grupos teste e o grupo controle para a variável fígado (tabela 7).

TABELA 7 - MASSA RELATIVA (%) DE ÓRGÃOS DE DESCENDENTES FÊMEAS EXPOSTAS NA PRENHEZ E LACTAÇÃO

Variáveis / Grupos	Controle (n=8)	IDA (n=11)	IDAx100 (n=10)
Massa corporal absoluta (g)	202 ± 8,69	207 ± 4,91	206 ± 4,45
Massa do fígado (%)	3,46± 0,06	3,75± 0,07*	3,82± 0,08*
Massa dos rins (%)	0,33± 0,01	0,33± 0,01	0,33± 0,01

NOTAS: Massa relativa de órgãos (em relação à massa corporal) de ratas Wistar expostas à mistura dos pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses relativas à IDA e IDAx100.

Os resultados expressam média ± erro padrão.

As ninhadas foram utilizadas como unidades estatísticas.

5.2.7 MASSA DE ÓRGÃOS DA PROGÊNIE MASCULINA

A massa relativa dos órgãos da progênie de ratos (fígado, rins) não foi afetada pelos pesticidas no protocolo desenvolvido e nas doses avaliadas. (tabela 8).

A massa relativa dos órgãos sexuais dos descendentes machos (vesícula, próstata e epidídimos) não apresentou diferença significativa entre os grupos testados e o grupo controle. Apenas a massa relativa dos testículos apresentou um aumento significativo no grupo IDAx100 em relação ao grupo controle (tabela 8).

TABELA 8 - MASSA RELATIVA (%) DE ÓRGÃOS DOS DESCENDENTES MACHOS EXPOSTOS NA PRENHEZ E LACTAÇÃO

Variáveis / Grupos	Controle (n=16)	IDA (n=22)	IDAx100 (n=20)
Massa corporal absoluta (g)	374 ± 4,73	371 ± 7,09	355 ± 6,08
Massa do fígado (%)	3,36± 0,06	3,36± 0,05	3,51± 0,06
Massa dos rins (%)	0,32± 0,01	0,32± 0,01	0,32± 0,01
Massa dos testículos (%)	0,40± 0,01	0,43± 0,01	0,44± 0,01*
Massa da vesícula seminal (%)	0,14± 0,01	0,14± 0,01	0,13± 0,01
Massa da próstata (%)	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01
Massa dos epidídimos (%)	0,14± 0,01	0,15± 0,01	0,15± 0,01

NOTAS: Massa relativa de órgãos e glândulas anexas (em relação à massa corporal) de ratos Wistar expostos à mistura dos pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses relativas à IDA e IDAx100.

Os resultados expressam média ± erro padrão.

As ninhadas foram utilizadas como unidades estatísticas.

Foram utilizados dois animais de cada grupo (duplicata).

Quando os órgãos eram pares o resultado foi expresso como média entre eles.

5.2.8 CONTAGEM DE ESPERMATOZÓIDES E PRODUÇÃO ESPERMÁTICA DIÁRIA

Não foram demonstradas diferenças significativas no número de espermatozóide da cauda do epidídimo entre os grupos expostos aos pesticidas durante a prenhez e lactação e o grupo controle (tabela 9). A produção espermática diária e o tempo de trânsito espermático também não apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos.

TABELA 9 – CONTAGEM DE ESPERMATOZÓIDES, PRODUÇÃO E TEMPO DE TRÂNSITO ESPERMÁTICO DIÁRIO DE DESCENDENTES MACHOS EXPOSTOS NA PREENHEZ E LACTAÇÃO

Variáveis / Grupos	Controle (n=8)	IDA (n=11)	IDAx100 (n=10)
No. espermatozóides x 10⁶	241 ± 11,0	267 ± 15,3	235 ± 14,5
Produção espermática diária	47,9 ± 6,74	38,8 ± 1,77	36,1 ± 1,63
Tempo de trânsito espermático (dias)	7,57 ± 0,62	7,29 ± 0,36	6,56 ± 0,36

NOTAS: Número de espermatozóides, produção espermática e tempo de trânsito espermático diário de ratos Wistar machos expostos à mistura dos pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses relativas à IDA e IDAx100.

Os resultados expressam média ± erro padrão.

As ninhadas foram utilizadas como unidade estatística.

6 DISCUSSÃO

Os alimentos que fazem parte da cesta básica da população brasileira devem apresentar qualidade na hora do consumo, assim como ter qualidade durante sua produção e no restante das etapas (armazenamento, transporte, industrialização, etc). Desta maneira o alimento produzido com qualidade que chega até a mesa do consumidor deve ser saudável. Durante a produção agrícola o uso de agrotóxicos é uma das maneiras mais comuns para a obtenção de melhores rendimentos. Contaminantes ambientais, como os pesticidas, presentes nas culturas em forma de resíduos podem representar riscos para a saúde da população. Como apresentado no relatório do PARA, pôde-se constatar que a grande maioria das culturas investigadas foi positiva para a presença de resíduos de pesticidas. A presença de resíduos de agrotóxicos nos alimentos leva à exposição crônica de uma grande variedade de compostos, já que há o consumo desses alimentos e o uso de vários tipos de pesticidas em uma mesma cultura.

Nesta pesquisa foi calculado o risco tóxico da ingestão crônica de pesticidas encontrados na alimentação, assim como os possíveis efeitos adversos da mistura de três pesticidas sobre a reprodução de animais modelos.

6.1 RESÍDUOS DE PESTICIDAS NA ALIMENTAÇÃO E RISCO TÓXICO

A forma de utilização de pesticidas constatada pela análise do relatório do PARA em 2001/02 foi muito parecida com a do ano de 2003, quando se verifica que o número de pesticidas encontrados nas amostras não foi muito diferente entre um relatório e outro. Resultado este já esperado, pois não houve nenhuma orientação diferente para os produtores em relação ao uso de pesticidas nos dois períodos investigados. O relatório do PARA apresentou como resultado final várias amostras com mais de um resíduo de pesticidas, assim como muitas amostras com pesticidas usados irregularmente ou com concentrações acima do LMR (ANVISA, 2005).

A presença de resíduos de pesticidas não autorizados pela legislação leva a um fato preocupante na prática agrícola. O uso incorreto de pesticidas pelos agricultores deixa uma lacuna a ser preenchida por programas educacionais, que podem ser realizados através das universidades, por meio de programas de extensão universitária. Não basta a exigência da venda do produto através da apresentação da receita agrônômica, mas também a indicação correta dos pesticidas para cada cultura, para que estes possam ser utilizados com maior segurança e eficácia. Isso aponta para a ineficácia da simples obrigatoriedade da venda de produtos com receita agrônômica como mecanismo de redução do uso incorreto sem a devida fiscalização e atuação pelos órgãos competentes (SOBREIRA e ADISSI, 2003).

No resultado final apresentado no relatório do PARA o uso não autorizado de pesticidas foi o principal problema do uso irregular. Apesar da forma de avaliação ser diferente, este trabalho chegou a resultado semelhante quanto ao uso irregular. Este é um problema que pode ser diminuído através de ações governamentais e exigências para que esse conhecimento seja difundido entre os agricultores.

Quando se comparou a concentração de resíduos encontrada com o LMR de cada pesticida, nos dois períodos da pesquisa, verificou-se que houve uma diminuição do número de pesticidas como concentrações acima do LMR no ano de 2003 em relação à 2001/02 (27 para 23 respectivamente). Não se pode definir com exatidão os motivos dessa diminuição. Apesar disso, o fato de encontrar amostras em concentrações acima do LMR gera preocupações, pois, alimentos ingeridos com estes resíduos podem levar à toxicidade, principalmente se o produto for bioacumulado e a exposição for crônica.

Ao avaliarmos o número de pesticidas utilizados em uma mesma cultura podemos concluir que muitas vezes esse número é excessivo, levando em conta que vários deles são utilizados de maneira irregular. Além disso, também podemos perceber que grande parte deles tem seu uso não autorizado e muitas vezes acima do LMR, o que pode levar a toxicidade em longo prazo. Nesse estudo notamos que algumas culturas destacam-se por esse uso excessivo, como no caso do morango, onde em 2001/02 foram encontrados 15 diferentes tipos de pesticidas e em 2003 esse número

aumentou para 20. A cultura de banana, apesar de não estar entre as culturas com maior número de diferentes pesticidas, também teve um aumento de quatro para cinco entre os relatórios do PARA de 2001/02 e 2003. Algumas culturas apresentaram uma variedade grande de tipos de pesticidas. As culturas de alface, maçã, mamão, morango e tomate, apresentaram mais de sete tipos diferentes de resíduos de pesticidas em ambas as avaliações (ANVISA, 2005).

A ANVISA publicou o índice monográfico com os principais dados dos pesticidas utilizados na agricultura. Onde consta vários aspectos químicos e toxicológicos importantes para a avaliação de seu uso. Para vários dos pesticidas citados neste trabalho não consta o valor da IDA no índice monográfico, o que prejudicou o cálculo de risco tóxico, já que optamos em utilizar os dados preconizados no Brasil (ANVISA, 2003b).

O número de pesticidas que apresentaram risco tóxico foi menor em 2003 em relação à 2001/02, passando de 19 para 16 entre os pesticidas utilizados para o cálculo. CALDAS e SOUZA (2001) avaliaram 281 compostos através da ingestão diária teórica máxima (IDTM) e consideraram que 23 deles apresentavam risco à saúde do consumidor brasileiro. Mesmo com diferentes abordagens, os dois trabalhos levantam a hipótese do risco à saúde da população com o consumo residual destas substâncias. O risco tóxico teve uma diminuição na quantidade de pesticidas considerados de risco, porém este risco não deveria existir, já que a IDA e o LMR são variáveis aplicadas para dar segurança ao consumidor. Esse uso é, muitas vezes, irregular, merecendo contínua avaliação do nível de resíduos de pesticidas e a fiscalização de seu uso. Esta fiscalização não deve ser feita apenas entre estes alimentos, mas abrangendo também outras variedades consumidas pela população brasileira, assim como a abrangência da totalidade dos estados brasileiros.

O número de pesticidas encontrados no relatório do PARA e listados por várias agências internacionais com potencial de influenciar o sistema endócrino não diferiu entre os anos de 2001/02 e 2003. A investigação de substâncias com possível atividade endócrina tem crescido atualmente. Vários centros de pesquisa têm desenvolvido inúmeros trabalhos correlacionando possíveis efeitos adversos sobre o sistema

endócrino com exposição ambiental a essas substâncias. Este trabalho correlacionou no mínimo 16 diferentes pesticidas com possível atividade endócrina, evidenciando a necessidade de estudos com estas substâncias isoladas ou misturadas em protocolos utilizando-se animais modelo.

6.2 TOXICIDADE REPRODUTIVA EM RATOS WISTAR EXPOSTOS À MISTURA DE PESTICIDAS

Alguns estudos mostram dados que relacionam incidência de intoxicações com a utilização de pesticidas, como por exemplo, carbamatos, piretróides e organofosforados (FARIA e cols., 1999; LEVIGARD e ROZEMBERG, 2004). Atualmente há uma crescente preocupação em relação à possibilidade de interação entre os diferentes compostos, podendo haver efeitos sinérgicos adversos sobre a saúde humana e/ou animal. Uma especial atenção também tem sido dada aos possíveis efeitos adversos advindos da exposição de substâncias químicas durante os períodos críticos de desenvolvimento, muitas vezes irreversíveis (EPA, 1996).

Vários estudos podem ser feitos para caracterizar a toxicidade reprodutiva de substâncias isoladas ou misturadas. Dentre esses estudos, a exposição de animais *in utero* e durante a lactação a substâncias suspeitas, é um protocolo validado e indicado. Pressupõe-se que uma alteração que ocorra em animais de laboratório possa também ocorrer em seres humanos expostos aos mesmos compostos. Desta maneira destaca-se a importância deste tipo de teste para a obtenção de dados toxicológicos. Para estimar a toxicidade para seres humanos a partir de um estudo em animais, são respeitadas as diferenças interespecíficas, e considerada maior sensibilidade do ser humano em relação a outros mamíferos (PRESIBELLA, 2004; DOURSON e cols., 2002; LU, 1991).

Pouco se sabe sobre o possível efeito adverso de misturas, sendo necessária a utilização de protocolos validados pelas agências reguladoras e pela comunidade científica, com o intuito de avaliar os riscos da exposição aos contaminantes ambientais. Atualmente existem poucos estudos de exposição de pesticidas misturados

buscando possíveis efeitos adversos sobre a função reprodutiva e possível sinergismo entre estas substâncias. Em função disso e com a possibilidade de comparação com outras pesquisas é que foi desenvolvido esse trabalho.

A administração oral de três diferentes pesticidas procura aproximar-se da ingestão diária em que a população está sujeita. A mistura foi feita usando-se os pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, substâncias suspeitas de interferirem adversamente sobre o sistema endócrino.

6.2.1 DADOS DA PRENHEZ E LACTAÇÃO

Os dados obtidos durante o período da prenhez e lactação permitem avaliar as condições de toxicidade aparente das progenitoras. A mortalidade materna é um sinal de toxicidade, mas existem outras variáveis que podem ser usadas como indicativos de efeitos adversos, como a massa corporal durante o tratamento, dados da prenhez e sinais clínicos de toxicidade (EPA, 1991; EPA, 1996). Assim, se não houver sintomas de toxicidade materna, supõe-se que o processo de prenhez ocorreu sem a interferência desses efeitos adversos. Variações no peso podem indicar efeitos negativos no desenvolvimento dos filhotes. Assim como a diminuição ou o aumento no tempo de prenhez pode influenciar na sobrevivência dos filhotes. A taxa de sobrevivência e o ganho de massa dos filhotes na lactação são dependentes de sua massa ao nascer, do estado de saúde de cada indivíduo, assim como o tamanho da ninhada. Os pesticidas podem interferir no desenvolvimento dos descendentes por afetar diretamente ou indiretamente os filhotes (PRESIBELLA, 2004)

A administração da mistura dos pesticidas (carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós) não afetou a massa das progenitoras durante o período gestacional e lactacional, assim como a massa do fígado e de rins nas doses testadas. Também não foi notada interferência nos dados da prenhez (tempo de prenhez, índice de nascimento, índice de desmame, índice de viabilidade, perdas pós-implantações, tamanho das ninhadas e razão sexual), indicando que a mistura nas doses utilizadas não induz toxicidade materna.

Esses dados corroboram com resultados obtidos por ARAÚJO (2005), onde estes mesmos pesticidas administrados isoladamente também não induziram toxicidade materna. Estes resultados sugerem que o valor da IDA estipulada para estes pesticidas é apropriado quando testado em animais, como no protocolo desenvolvido. Mas lembrando que o rico tóxico existe para a população brasileira que consome alimentos que apresentam seus resíduos.

6.2.2 DESENVOLVIMENTO GERAL DOS DESCENDENTES NO PERÍODO LACTACIONAL

O desenvolvimento geral no período lactacional (desenvolvimento ponderal e o tempo para o descolamento dos pavilhões auriculares, aparecimento de pêlos e abertura de olhos), não foi afetado pela mistura dos pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós nas doses testadas. Em outro trabalho (ARAÚJO, 2005) com os mesmos pesticidas, mas administrados isoladamente, também não houve interferência nestas variáveis investigadas. Estes resultados são indicativos da ausência de toxicidade na progênie em desenvolvimento nas doses testadas.

6.2.3 DESENVOLVIMENTO SEXUAL DOS DESCENDENTES

As variáveis utilizadas para avaliação da possível interferência endócrina dos pesticidas no desenvolvimento sexual foram os tempos para a descida dos testículos para o saco escrotal, separação prepucial, abertura do canal vaginal, dia do primeiro estro e regularidade do ciclo estral. Agentes que influenciem no equilíbrio hormonal podem interferir nos processos descritos, podendo acelerar ou retardar estes processos (EPA, 1996).

O ciclo estral normal indica um bom funcionamento do sistema neuroendócrino reprodutivo e também dos ovários. Porém, diversos compostos podem induzir alterações no ciclo estral sem comprometer a fertilidade (PRESIBELLA, 2004; EPA, 1996).

Neste estudo, os descendentes machos de ratas Wistar expostas à mistura de pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós no período gestacional e lactacional, na dose correspondente à IDA, tiveram uma antecipação no tempo para a separação prepucial. Esta interferência foi de aproximadamente um dia e possivelmente devido ao limitado número de observações (uma vez ao dia pela manhã). Estes resultados são biologicamente normais, não sendo um indicativo de toxicidade ou de desenvolvimento anormal da progênie. A outra variável investigada (tempo para a descida dos testículos) não foi afetada em nenhuma dose testada. ARAÚJO (2005), utilizando o mesmo protocolo com os pesticidas isolados, não encontrou nenhuma diferença nessas variáveis investigadas, confirmando que o achado acima citado está dentro da normalidade.

Em relação às variáveis investigadas na progênie feminina não houve diferença significativa no tempo para a abertura do canal vaginal, no dia para o primeiro estro e na regularidade do ciclo estral. Estes resultados sugerem que a mistura dos pesticidas não induz efeitos adversos nas doses testadas nestas variáveis. Quando a mistura foi testada em um teste de (anti)estrogenicidade (uterotrófico) em ratas imaturas, os resultados sugeriram um efeito estrogênico, pois o peso absoluto e relativo do útero foi significativamente maior que o do controle (ARAÚJO, 2005).

Neste trabalho, a administração dos pesticidas foi feita nas progenitoras com exposição da progênie *in utero* e durante a lactação, enquanto no teste uterotrófico a administração foi feita diretamente no animal a ser avaliado. Desta maneira, diferentemente do teste uterotrófico, os pesticidas que atravessam a barreira placentária e que são eliminados pelo leite estão em concentração menor do que a administrada. Os pesticidas podem sofrer interações químicas ou farmacológicas *in vivo*, e assim produzir efeitos antagônicos (estrogênicos e anti-estrogênicos) e com isso diferenciar dos resultados em mistura e isolados. Para confirmar esses dados seria interessante a realização de novos testes de curta e longa duração com diferentes doses dos pesticidas misturados, isolados e administrados combinados dois a dois.

6.2.4 AVALIAÇÃO DOS DESCENDENTES MACHOS E FÊMEAS EM IDADE ADULTA

A toxicidade de uma substância pode ser avaliada investigando-se o aspecto macroscópico e a massa de seus órgãos. O fígado e rins são órgãos responsáveis pela “detoxicação” do organismo, e em casos de intoxicação podem ter seu volume e/ou peso aumentado. Os animais foram avaliados quanto à massa do fígado e dos rins. A massa corporal absoluta dos descendentes, assim como a massa do fígado e dos rins não apresentou diferenças significativas entre os grupos testes da mistura e o grupo controle. Estes resultados indicam que as doses testadas não produziram toxicidade geral nos descendentes.

Além dos órgãos de “detoxicação”, órgãos sexuais como testículos e epidídimos e glândulas sexuais acessórias como a vesícula seminal e a próstata foram avaliados. As glândulas sexuais acessórias e os epidídimos não apresentaram diferenças significativas de suas massas entre os grupos tratados e o grupo controle. Porém, a massa dos testículos foi significativamente maior no grupo IDAx100 em relação ao grupo controle.

A variação na massa de órgãos reprodutivos pode ser usada para avaliar a toxicidade reprodutiva de diversos compostos. Alterações na massa relativa de órgãos reprodutivos evidenciam um agente como potencialmente prejudicial ao sistema reprodutivo (ZENICK e CLEGG, 1989). A massa de testículos apresenta uma variação pequena entre animais da mesma espécie, sendo um marcador sensível de injúria gonadal (EPA, 1996). Porém, este achado isolado não pode ser configurado como efeito androgênico, pois em outras variáveis investigadas não houve diferença entre os grupos testados. Quando estes pesticidas foram investigados isoladamente (ARAÚJO, 2005), a massa dos testículos não foi afetada, evidenciando que a mistura teve seu efeito devido a uma possível interação química ou farmacológica. Outra hipótese a ser levantada é que a mistura dos pesticidas induziu efeito estrogênico nesta variável, interferindo por exemplo, na reabsorção de líquidos pelos ductos eferentes, levando a um aumento da massa dos testículos. Esta possível hipótese corrobora com os

achados do teste uterotrófico, onde o útero também teve aumento de massa quando exposto a mistura dos pesticidas (ARAÚJO, 2005).

Os descendentes também foram avaliados quanto a número de espermatozóides, produção espermática diária e tempo de trânsito espermático. O número de células espermáticas mostra a integridade da espermatogênese nos testículos. O número de espermatozóides na cauda do epidídimo é uma das avaliações mais significativas da função do epidídimo (AMANN, 1982; ZENICK e CLEGG, 1989). Em nenhuma destas variáveis houve diferença significativa entre os grupos testados da mistura de pesticidas e o grupo controle. Esses dados são consistentes com trabalho realizado com os pesticidas isolados, que também não apresentaram diferenças nestas variáveis (ARAÚJO, 2005).

6.2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação constante do uso de pesticidas na agricultura deve ser continuada e cada vez mais abrangente, tanto quanto ao número de alimentos quanto ao número de pesticidas. A pesquisa com objetivos de avaliar o risco tóxico de populações, devido ao consumo de pesticidas através da alimentação, deve ser sempre priorizada antes da liberação de seu uso. A evidência de qualquer efeito adverso em experimentos com modelos animais, relacionado com o uso de alimentos contaminados, deve ser considerado como um alerta. Para isso devem ser utilizados protocolos experimentais validados por agências reguladoras internacionais e comunidade científica. O estudo avaliando a ingestão da mistura de pesticidas possibilita uma avaliação mais próxima da realidade.

O risco tóxico não deve existir em nenhuma hipótese, pois os valores de IDA e LMR já são definidos para este fim, dando margem de segurança para a quantidade de resíduos de pesticidas nos alimentos. Quanto menor o risco maior será a qualidade dos alimentos, no que se refere ao uso de pesticidas e à saúde da população.

7 CONCLUSÕES

Com este trabalho, avaliando o risco tóxico do uso de pesticidas na alimentação e a possível toxicidade reprodutiva em ratos expostos a diferentes doses de misturas de pesticidas, podemos concluir que:

- a) De acordo com a avaliação dos relatórios do PARA de 2001/02 e de 2003, houve um uso mais racional dos pesticidas, já que os LMR foram mais respeitados, apesar de serem ainda altos.
- b) Dentre os pesticidas que tem seu valor de IDA definido, o consumo *per capita* de resíduos não a ultrapassa, estando dentro da margem de segurança estabelecida.
- c) O número de pesticidas utilizados em uma mesma cultura é grande, assim como o número de pesticidas com uso irregular, deixando a população exposta a uma variedade desnecessária de resíduos, sendo este, dado preocupante.
- d) A população exposta pela ingestão de alimentos contaminados com resíduos de pesticidas está sujeita ao risco tóxico crônico.
- e) A administração da mistura de pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses correspondentes à IDA e IDAx100, mostrou ser segura não provocando toxicidade em ratas prenhas e lactantes.
- f) A mistura de pesticidas carbaril, lambda-cialotrina e metamidofós, nas doses correspondentes à IDAx100, provocou alteração de peso de testículos nos descendentes em doses que não causam toxicidade materna nem induzem toxicidade geral.

O panorama do uso de pesticidas entre os anos de 2001/02 e 2003 teve poucas alterações. Assim, a constatação da problemática do uso irregular e algumas vezes abusivo e desnecessário, mostra a necessidade de melhorias na fiscalização e na prática agrícola e continuidade de trabalhos como o PARA.

Os resultados do protocolo experimental revelam que a exposição à mistura dos três pesticidas é capaz de resultar em alterações nos órgãos reprodutivos masculino da progênie exposta.

REFERÊNCIAS

AMANN, R. P. Use of animal models for detecting specific alterations in reproduction. **Fundam Appl Pharmacol**, v. 2, n. 82, p. 13-25, 1982.

ANDERSEN, H. R. e cols. Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity *in vitro*. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 179, n. 1, p. 1-12, 2002.

ANVISA. Agrotóxicos e Toxicologia: Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos: relatório anual. **Citação e referências a documentos eletrônicos**. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 22 dez., 2003.

ANVISA. Agrotóxicos e Toxicologia: monografia de produtos agrotóxicos. **Citação e referências a documentos eletrônicos**. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 06 nov., 2003b.

ANVISA. Agrotóxicos e Toxicologia: Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos: relatório anual. **Citação e referências a documentos eletrônicos**. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 02 fev., 2005.

ARAÚJO, S.L. Exposição de ratos wistar aos inseticidas lambda-cialotrina, carbaril e metamidofós. Curitiba, 2005. 89f. Dissertação (Mestrado em farmacologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

ASSOCIAZIONE AMBIENTE E LAVORO (AMBLAV). Scheda tratta dalla Banca dati SINTALEX 7.0, 2000. **Citação e referência a documentos eletrônicos**. Disponível em: <<http://www.amblav.it/Download/Lamba-cialotrina.pdf>> Acesso em: 25 de março de 2004.

AZIZ, M. H. e cols. Neurodevelopmental consequence of gestacional exposure (GD14-GD20) to low doses of deltamethrin in rats. **Neuroscience Letters**, v.300, n. 3 p.161-165, 2001.

BAKER, V. A. Endocrine disrupters - testing strategies to assess human hazard. **Toxicology in vitro**, v. 15, p. 413-419, 2001.

BERNARDI, M. M. Exposição aos medicamentos durante o período perinatal. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 691-699.

CAGE, S. A. e cols. Lambda-cyhalothrin. **National Poisons Information Service**. Birmingham, UK, 1998.

- CALDAS, E. D.; SOUZA, L. C. de. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Rev Saúde Pública**, v. 34, n. 5, p. 529-537, 2000.
- CASTILLO C.G. e cols. Behavioral effects of exposure to endosulfan and methyl parathion in adult rates. **Neurotoxicology and Teratology**, vol.24 , p, 797–804, 2002.
- COLLUCCI, C. 22% dos alimentos estão contaminados. **Folha de S. Paulo**, 21 abr. 2003. Cotidiano, saúde, p. C4.
- COX, C. Carbaryl. **Journal of Pesticide Reform**, v.13, n 1, p. 31-16, 1993.
- DALSENTER, P. R. e cols. Reproductive toxicity and toxicokinetics of lindane in the male offspring of rats exposed during lactation. **Hum Exp Toxicol**, v. 16, n. 3, p. 146-153, 1997.
- DOURSON, M.; CHARNLEY, G.; SCHEUPLEIN, R. Differential sensitivity of children and adults to chemical toxicity. II Risk and regulation. **Regul Toxicol Pharmacol**, v. 35, n. 3, p. 448-467, 2002.
- ECOBICHON, D. J. Toxic effects of pesticides. In: KLASSEN, C. D. **Casarett & Doull's Toxicology: the basic science of poisons**. New York: McGraw-Hill, 1996. p. 643-689.
- EPA (Environmental Protection Agency). Guidelines for developmental toxicity risk assessment. **EPA/600/FR-91/001**, Washington, 1991.
- EPA (Environmental Protection Agency). Guidelines for reproductive toxicity risk assessment. **EPA/630/R-96/009**, Washington, 1996.
- EPA (Environmental Protection Agency). Special report on environmental endocrine disruption: An Effects Assessment and Analysis. **EPA/630/R-96/012**, Washington, 1997.
- EPA (Environmental Protection Agency). Human health risk assessment: methamidophos, Washington. 2000.
- EPA (Environmental Protection Agency). Protocol RTI P. O. Box 12194 research triangle park, NC 27709 RTI-839. **Citação e referências a documentos eletrônicos**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/meetings/2002/march/inuterolactationprotocol.pdf>> Acesso em: 05 abr. 2002.
- FARIA, N.M.X.; FACCHINI, L.A.; FASSA, A.G.; TOMASI, E. Estudo transversal sobre saúde mental de agricultores da Serra Gaúcha (Brasil). **Rev. Saúde Pública**, v.33, n.4, p.33-34, 1999.
- FRIENDS OF EARTH (FOE). Hormone disrupting chemicals found in baby food. Press Release. Reino Unido, 2000.

GARRY, V. F. e cols. Reproductive outcomes in women of the Red River Valley of the north. I. The spouses of pesticide applicators: pregnancy loss, age at menarche, and exposures to pesticides. **J Toxicol Environ Health A**, v. 65, n. 11, p. 769-786, 2002.

GO, V. e cols. Estrogenic potential of certain pyrethroid compounds in the MCF-7 human breast carcinoma cell line. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, n. 3, p. 173-177, 1999.

GÖETTLICH, P. What are Endocrine Disruptors?, 2003. **Citação e referência a documento eletrônico**. Disponível em: <<http://www.mindfully.org/Pesticide/EDs-PWG-16jun01.htm>> Acesso em: 23 de dezembro de 2003.

GRAY Jr., L. E. Xenoendocrine disrupters: laboratory studies on male reproductive effects. **Toxicol Lett**, v. 102-103, p. 331-335, 1998.

HAFEZ E. S. E., ed. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 1995.

HEINDEL, J.J. e cols. Assessment of the Reproductive and Developmental Toxicity of Pesticide/Fertilizer Mixtures Based on Confirmed Pesticide Contamination in California and Iowa Groundwater, **Fundamental and Applied Toxicology**, vol. 22, n.4, p. 605-621, 1994.

HOF, A.; HEIMANN, D.; RÖMBKE, J. Further development for testing the effects of pesticides on wolf spiders. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 31, p. 267 – 270, 1995.

IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Citação e referências a documentos eletrônicos**. Disponível em <www.ibge.gov.br> Acesso em: 22 dez., 2003.

ITO N. e cols. Effect of ingestion of 20 pesticides in combination at acceptable daily intake levels on rat liver carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**, vol. 33, n. 2, p. 159-163, 1995

ITO N. e cols. Lack of carcinogenicity of pesticide mixtures administered in the diet at acceptable daily intake (ADI) dose levels in rats **Toxicology Letters**. v. 82/83, p. 513-520, 1995.

ITO N. e cols. Effects of pesticide mixtures at the acceptable daily intake levels on rat carcinogenesis **Food and Chemical Toxicology** vol.34, p.1091-1096, 1996.

IYANIWURA, T.T. An *in vitro* evaluation of the potential toxicities and interactions of carbamates insecticides. **Toxic. in Vitro** Vol. 3, No. 2, pp. 91-93, 1989 .

KLIGERMAN, A.D. e cols. Analyses of cytogenetic damage in rodents following exposure to simulated groundwater contaminated with pesticides and a fertilizer. **Mutation Research**, 300 p.125-134, 1993.

KOIFMAN, S.; KOIFMAN, R. J.; MEYER, A. Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. **Cad Saúde Pública**, v. 18, p. 435-445, 2002.

LEVIGARD Y.E.; ROZEMBERG B. A interpretação dos profissionais de saúde acerca das queixas de “nervos” no meio rural: uma aproximação ao problema das intoxicações por agrotóxicos. **Cad. Saúde Pública**, v.20, n.6, p.1515-1524, 2004.

LU, F. C. Toxicology evaluation: assessment of safety/risk. In: **Basic Toxicology: fundamentals, target, organs, and risk assessment**. 2. ed. Miami: Taylor & Francis, 1991, p. 327-344.

MONIZ, A. C. e cols. Perinatal fenvalerate exposure: behavioral and endocrinology changes in male rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 21, n. 5, p. 611-618, 1999.

NATIONAL PESTICIDE INFORMATION CENTER (NPIC).The U.S.EPA Reference Dose Tracking Report. Washington, 1997. Disponível em URL: <http://npic.orst.edu/tracking.htm>.

NATIONAL PESTICIDE TELECOMMUNICATIONS NETWORK (NPTN). Lambda-cyhalothrin. **Technical Fact Sheet**. Corvallis, Oregon, 2001.

PESTICIDE ACTION NETWORK – UK (PAN-UK). A catalogue of lists of pesticides identifying those associated with particularly harmful health or environmental impacts. Briefing Paper List of Lists. Reino Unido, 2001.

PESTICIDE FACT SHEET (PFS). Carbaryl. **Information Ventures**, 2004.

PIZZAIA JUNIOR. Pesticidas agrotóxicos aptos no Paraná. **Secretaria de Estado da Agricultura e do abastecimento**. Curitiba, Paraná, 2003.

PRESIBELLA, K. M. Efeitos da associação dos pesticidas deltametrina e endosulfano sobre o sistema reprodutivo de ratos wistar. Curitiba, 2004.125f. Dissertação (Mestrado em farmacologia) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

RATNASOORYA, W. D.; RATNAYAKE, S. S. K. e JAYATUNGA, Y. N. A. Effects of pyrethroid insecticide ICON (lambda cyhalothrin) on reproductive competence of male rats. **Asian Journal of Andrology**, v. 4, p. 35-41, 2002.

REYS, L.L. Tóxicos ambientais desreguladores do sistema endócrino. **RFML**, série III, v.6, n.4: p.213-225, 2001.

SANTAMARTA J. Por um futuro sem contaminantes orgânicos persistentes. **Agroecol.e Desenv.Rur.Sustent.**, Porto Alegre, v.2, n.1, p.46-56, jan./mar.2001.

SYNGENTA. Lambda-cyhalothrin, 2004. **Citação e referência a documento eletrônico**. Disponível em:<<http://www.bugspray.com/catalog/products/page162b.html>> Acesso em: 23 de março de 2004.

SOBREIRA, A. E. G.; ADISSI, P. J. Agrotóxicos: falsas premissas e debates. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.8, n.4, p.985-990, 2003.

SONNENSCHNEIN, C.; SOTO, A. M. An update review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonist. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 65, n. 1-6, p. 143-150, 1998.

SULTAN, C. e cols. Environmental xenoestrogens, antiandrogens and disorders of male sexual differentiation. **Mol Cell Endocrinol**, v. 178, p. 99-105, 2001.

WANG, T.C.; LEE, T.C.; LIN, M.F.; LIN, S.Y. Induction of sister-chromatid exchanges by pesticides in primary rat tracheal epithelial cells and Chinese hamster ovary cells. **Mutation Research**, vol.188, p.311-321, 1987.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO/PCS/98.21**: The WHO recommended classification of pesticides by hazard, WHO, Geneva, 2002.

WOODS, H. F. Organophosphates. **Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment**. 1999.

ZENICK, H.; CLEGG, E. D. Assessment of male reproductive toxicity: A risk assessment approach. In: **Principles and methods of toxicology**. In: New York: Raven Press, 1989. p. 275-309.

ANEXOS

Pesticidas encontrados como resíduos nos relatórios do PARA de 2001/02 e 2003 e listados por diferentes autores como possíveis desreguladores endócrinos

Pesticidas	FOE (2000)	GOETTLICH (2003)	PAN-UK (2001)
Acefato			
Azinfós etílico			
Azinfós metílico			
Azoxistrobina			
Captana			
Carbaril		√	
Carbendazina	√		√
Carbofurano			√
Cipermetrina		√	
Clorotalonil			
Clorpirifós	√		√
Clorpirifós metil			
Deltametrina			
Diazinona			
Diclorvós			√
Dicofol		√	√
Dieldrin			
Difeconazole			
Dimetoato			√
Ditiocarbamatos		√	
Endosulfano		√	√
Esfenvalerato			
Etiona			

Fenitrotiona			
Fenpropratrina			
Fentiona			
Fentoato			
Folpeto			
Imazalil			
Iprodiona	√	√	
Lambda-cialotrina		√	
Metamidofós			
Metidationa			
Monocrotofós			
Parationa etílica		√	
Parationa metílica			
Permetrina		√	
Pirazofós			√
Pirimifós metílico			
Procimidona		√	√
Procloraz			
Profenofós			
Propiconazole			
Tetradifona			
Tiabendazole			
Triazofós			
Triclorfon			
Vinclozolina	√	√	√

Pesticidas encontrados como resíduos nos relatórios do PARA de 2001/02 e 2003

Pesticidas	%IDA > 100 (com risco tóxico)
Acefato	√
Azinfós etílico	
Azinfós metílico	
Azoxistrobina	
Captana	
Carbaril	√
Carbendazina	√
Carbofurano	√
Cipermetrina	
Clorotalonil	√
Clorpirifós	√
Clorpirifós metil	
Deltametrina	
Diazinona	√
Diclorvós	
Dicofol	√
Dieldrin	
Difeconazole	
Dimetoato	√
Ditiocarbamatos	
Endosulfano	√
Esfenvalerato	
Etiona	
Fenitrotiona	√

Fenproprina	
Fentiona	
Fentoato	
Folpeto	
Imazalil	
Iprodiona	
Lambda-cialotrina	√
Metamidofós	√
Metidationa	√
Monocrotofós	√
Parationa etílica	
Parationa metílica	√
Permetrina	√
Pirazofós	
Pirimifós metílico	
Procimidona	
Procloraz	
Profenofós	
Propiconazole	
Tetradifona	
Tiabendazole	√
Triazofós	√
Triclorfon	
Vinclozolina	
