



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA
NÚCLEO DE PESQUISAS REPLICON

**ANÁLISE DE MUTAGENICIDADE EM SANGUE PERIFÉRICO DE
AGENTES DE COMBATE A ENDEMIAS DO MUNICÍPIO DE APARECIDA
DE GOIÂNIA (GO)**

Goiânia, março de 2015.



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA
NÚCLEO DE PESQUISAS REPLICON

**ANÁLISE DE MUTAGENICIDADE EM SANGUE PERIFÉRICO DE
AGENTES DE COMBATE A ENDEMIAS DO MUNICÍPIO DE APARECIDA
DE GOIÂNIA (GO)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Mestrando: Douglas Dantas Rodrigues
Orientadora: Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva

Goiânia, março de 2015.

Dedico aos meus amados pais Olavo e Cleonice, que se esforçaram ao máximo, com amor e dedicação, para que eu pudesse ter a oportunidade de trilhar o meu próprio caminho e pudesse realizar meus sonhos, sempre me dando apoio nas horas mais importantes.

Ao meu irmão mais velho Lucas, por servir de exemplo cujo qual pude me espelhar.

Ao meu avô Olavo, que infelizmente não pode ver o seu neto realizar esse grande sonho.

Aos meus professores, por se esforçarem para passar seus conhecimentos a mim, permitindo meu crescimento profissional.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo a minha mãe, **Cleonice Rodrigues Dantas**, que meu deu o dom da vida, e se dedicou de corpo e alma para poder me criar, me oferecendo amor, carinho, cuidados, e por sempre me apoiar nas escolhas que fiz na minha vida.

Ao meu querido pai, **Olavo Francisco Rodrigues Filho**, pelo amor, sabedoria, por me apoiar e acreditar em mim e pela coragem que me inspira sempre.

A meu orientador **Prof. Dr. Cláudio Carlos Da Silva**, que dedicou muito do seu tempo me orientando, obrigado pelos ensinamentos, atenção, amizade e dedicação ao longo destes 2 anos, seus conhecimentos e incentivos, foram fundamentais para a concretização deste trabalho e da minha vida profissional.

A **Prof. Dr^a Daniela de Melo e Silva**, que esteve sempre ao meu lado, me orientado nos projetos e correndo junto comigo para que esse trabalho se concretizasse.

À Pontifícia Universidade Católica de Goiás e, em especial, ao Núcleo de Pesquisa Replicon, pela disponibilização de suas instalações para que esta pesquisa pudesse se concretizar.

A **Prof^a Patrícia Bonilha**, que me ajudou muito durante meus anos na faculdade, se esforçando para passar seus conhecimentos em genética a mim, e me oferecendo oportunidades que me permitiram melhorar como profissional e cidadão.

A todos os meus professores que são os maiores responsáveis por eu estar concluindo esta etapa da minha vida, por compartilharem a cada dia os seus conhecimentos, com muito amor e dedicação.

A minha família, pelo amor, incentivo e confiança em todos os momentos.

A toda a equipe do Núcleo de Pesquisa Replicon da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, em especial, **Wanessa Fernandes Carvalho, Aldaires Vieira de Melo, Alex Silva Cruz, Damiana Miriam da Cruz e Cunha, Macks Wendhell Gonçalves, Fernanda Craveiro Franco**, dentre outros colegas que contribuíram e foram fundamentais para a realização dessa pesquisa.

Aos meus amigos, em especial, **Nicolas Gustavo, Marcelo Regis, João Paulo, João Manso, Aparecido, Paulo José, Lilian Julian, Victor Kasuo, Tiago Epaminondas** que apesar de minha ausência, stress, e até mesmo chatice, nunca deixaram de estar ao meu lado, sempre me apoiando em tudo que precisei.

E finalmente, agradeço a todos que me ajudaram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho. **MUITO OBRIGADO** a todos vocês!

“There is no knowledge that is not power” (Ralph Waldo Emerson).

SUMÁRIO

RESUMO	VIII
ABSTRACT.....	IX
Lista de Sigla	X
Lista de Figuras.....	XI
Lista de Tabelas.....	XII
Lista de Quadros	XIII
1. INTRODUÇÃO	- 14 -
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	- 17 -
2.1 Aspectos gerais da epidemia de dengue	- 17 -
2.2 Tipo e classificação dos principais pesticidas utilizado em campanha de controle de epidemias.....	- 18 -
2.3 Toxicologia dos principais pesticidas	- 19 -
2.3.1 Organoclorados (OG).....	- 19 -
2.3.2 Organofosforados (OP)	- 21 -
2.3.3 Piretróides	- 23 -
2.4. Teste da colinesterase sérica	- 24 -
2.5. Ensaio para detecção de genotoxicidade e mutagenicidade.....	- 25 -
2.6. Teste de micronúcleo (MN)	- 26 -
2.6.1 Micronúcleo em Linfócitos T binucleadas.....	- 28 -
3. OBJETIVOS	- 31 -
3.1. Objetivo Geral	- 31 -
3.2 Objetivos específicos.....	- 31 -
4. METODOLOGIA.....	- 32 -
4.1. Participação Institucional	- 32 -
4.2. Grupo Amostral	- 32 -
4.3. Coleta de material biológico.....	- 32 -

4.4. Teste de Micronúcleo em Sangue Periférico	- 33 -
4.5. Teste de colinesterase (CHE).....	- 33 -
4.6. Análise Estatística	- 34 -
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	- 35 -
5.1. Características dos grupos caso e dos controles.....	- 35 -
5.2. Tempo de exposição e relato de intoxicação do grupo caso.....	- 36 -
5.3. Relato do uso de EPI's pelos agentes de combate a endemias	- 38 -
5.4. Principais pesticidas utilizados pelo ACEs.....	- 39 -
5.5. Dosagem da enzima acetilcolinesterase	- 41 -
6. CONCLUSÃO.....	- 47 -
7. REFERÊNCIAS.....	- 48 -
8. APÊNDICES 1.	- 53 -
8. APÊNDICES 2.	- 56 -
ANEXO 1.....	- 59 -

RESUMO

Os agentes de combate a endemias (ACEs) são as categorias mais exposta aos efeitos de pesticidas, pois sua exposição se dá desde o preparo da calda dos pesticidas até a aplicação do mesmo. O uso de EPIs é essencial para a proteção desses trabalhadores, todavia eles muitas vezes os dispensam. Fatores como a falta de conhecimento acerca do uso correto dos pesticidas ou não respeito aos usos das EPIs podem estar relacionados com o risco de intoxicação. Sabe-se que os pesticidas podem causar danos no DNA em pessoas que são ocupacionalmente expostas. Apesar de existir muitos estudos sobre o dano em agricultores, poucos estudos foram realizados com ACEs. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o dano genômico em ACEs da cidade de Aparecida de Goiânia (GO) e correlacionar o dano com os quadros de intoxicação e com uso de EPIs e aos estilos de vidas dos agentes. Foram selecionados para pesquisa 39 ACEs e 39 pessoas da comunidade local que não foram ocupacionalmente expostos a pesticidas. Através de um questionário estruturado foram coletados dados sobre estilo de vida dos participantes, tais como idade, sexo, etilismo, tabagismo, além de dados acerca do uso de EPIs e sinais e sintomas de intoxicação dos ACEs. A avaliação do dano genômico foi realizada pela da técnica de micronúcleo, e o teste de colinesterase foi realizado nos ACEs para observar a presença de intoxicação crônica. O grupo exposto foi composto por 21 homens (53,8%) e 18 mulheres (46,2%). Dos 39 agentes, 10 (25,6%) fumavam e 29 (74,4%) não fumavam e 23 (58,9%) bebiam e 16 (41,1%) não bebiam. A avaliação da colinesterase foi normal em todos os agentes, porém, ao comparar a frequência dos micronúcleos do grupo caso com controle, foi observada uma diferença estatística ($p < 0,05$). Ao correlacionar o uso de EPIs com dano genômico, não foi encontrada uma diferença significativa. Com base nos achados dessa pesquisa, pode-se afirmar que o uso de pesticidas por ACEs representa um risco de dano genômico, o que pode trazer sérios problemas de saúde para os mesmos. Vale salientar que há uma necessidade de educação sobre o risco do uso de pesticidas, principalmente para os grupos ocupacionalmente exposto.

Palavras-chaves: pesticidas, micronúcleo, genotoxicidade, colinesterase.

ABSTRACT

The agent to combat epidemic (ACEs) are the more exposed classes to effect of pesticides, since their expositions is given to preparation to application of pesticides. The uses of PPE are essential to protection of these workers, yet they often dispense their uses. Factors such as lack of knowledge about the correct use of pesticides or no respect for the PPE uses may be related to the risk of intoxication. It is well known that pesticides may cause DNA damage in people who are occupationally exposed. Although there are many studies on the damage to farmers, few studies have been performed with ACEs. In this context, this study aimed to evaluate the genomic damage in ACEs of the city of Aparecida de Goiânia (GO) and to correlate the damage with intoxication reports and use of PPE and styles of life of the agents. We selected for research 39 ACEs and 39 people from the local community who were not occupationally exposed to pesticides. Based on a structured questionnaire was collected lifestyle information of the participants, such as age, gender, alcohol consumption, tobacco use, and data on the use of PPE and signs and symptoms of intoxication of ACEs. The evaluation of genomic damage was made by micronucleus technique, and the cholinesterase test was performed in ACEs to observe the presence of chronic intoxication. The exposed group consisted of 21 men (53.8%) and 18 women (46.2%). Of agents 39, 10 (25.6%) smoked and 29 (74.4%) did not smoke; 23 (58.9%) drank and 16 (41.1%) did not drink. The evaluation of cholinesterase was normal in all agents, but when comparing the frequency of micronuclei in the case group with control, a statistical difference ($p > 0.05$) was observed. By correlating the use of PPE with genomic damage, was not found a significant difference. Based on the findings of this research, it can be states that the use of pesticides by ACEs is a risk to it in genomic damage, which can lead to serious healths problems for the same. Worth pointing out that there are a need for education about the risk of using pesticides, particularly for occupationally exposed group.

Keywords: pesticides, micronuclei, genotoxicity, cholinesterase.

Lista de Sigla

ACEs: Agentes de combate a endemias

EPI: Equipamento de proteção individual

DH: Dengue hemorrágica

DL-50: Dose letal 50

OG: Organoclorados

OP: Organofosforados

DDT: Dicloro-difenil-tricloroetano

AChE: Acetilcolinesterase

ACh: Acetilcolina

SNC: Sistema nervoso central

AC: Aberrações cromossômicas

MN: Micronúcleo

HUMN: *Human MicroNucleus*

CHE: colinesterase

IARC: *Internacional Agency of Research on Cancer*

LAS: Laboratório de saúde

SNC: Sistema nervoso central

PUC-GO: Pontifícia Universidade Católica de Goiás

GABA: ácido γ -aminobutírico

KCL: Cloreto de potássio

Lista de Figuras

Figura 1. Municípios infestados pelo <i>Aedes aegypti</i> no Brasil em 2006 (Secretaria de vigilância e saúde)	19
Figura 2- fórmula estrutural do DDT.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 3 – formação de um micronúcleo causado pela exposição a um agente químico	28
Figura 4 – estrutura química da citocalasina B.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 5 – células binucleadas típicas obtidas de cultura a curto prazo de linfócito com inibição por CTB	Erro! Indicador não definido.
Figura 6 – imagem de linfócito binucleado típicos com presença de um micronúcleo. (imagem própria)	Erro! Indicador não definido.
Figura 7 – Principais tipos de manuseios dos pesticidas pelos agentes de combate de endemias de Aparecida de Goiânia.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 8. Relação dos usos dos EPIs em agente de combate a endemias de Aparecida de Goiânia.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 9. Principais pesticidas utilizados nas campanhas de combate a endemias de Aparecida de Goiânia	Erro! Indicador não definido.
Figura 10 – Célula binucleada com a presença de 2 micronúcleo (seta azul) e célula binucleada normal (seta preta). (coloração Panótico).....	45
Figura 11 – Célula binucleada com a presença de 1 micronúcleo (na seta) (coloração panótico)	Erro! Indicador não definido.
Figura 12 – Célula binucleada com a presença de 2 micronúcleos. (coloração Panótico)	Erro! Indicador não definido.
Figura 13 – Células binucleadas com presença de vários micronúcleos (coloração panótico)	Erro! Indicador não definido.
Figura 14. Frequência de células micronucleadas nos grupos exposto e controle	Erro! Indicador não definido.
Figura 15. Associação entre idade e frequência de micronúcleos, nos ACEs.	Erro! Indicador não definido.

Lista de Tabelas

RESUMO	VIII
ABSTRACT.....	IX
Lista de Sigla	X
Lista de Figuras.....	XI
Lista de Tabelas.....	XII
Lista de Quadros	XIII
1. INTRODUÇÃO.....	- 14 -
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	- 17 -

Lista de Quadros

Quadro 1. Intoxicação por inibidores de col1W2
VBB
BBBBBBBBBBBBBBBBBBinesterase**Erro! Indicador não definido.**

1. INTRODUÇÃO

Os pesticidas, também conhecidos como agrotóxicos, estão entre os mais importantes fatores de risco para a saúde dos trabalhadores e para o meio ambiente. Usados em grande escala por vários setores produtivos e mais intensamente pelo setor agropecuário, são ainda utilizados no combate a endemias e epidemias. O emprego de pesticidas nas campanhas de saúde pública para controle de endemias, no Brasil, iniciou em meados dos anos de 50, em paralelo ao uso abusivo e deliberado desses insumos, sem grandes cuidados quanto aos riscos biológicos e ambientais provenientes do seu uso (ABRASCO, 2012).

Inicialmente no Brasil, essas substâncias eram conhecidas erroneamente como “defensores agrícolas” pela Constituição de 1988, o que excluía seu uso nas atividades de vigilância sanitária, além de mascarar os efeitos negativos à saúde humana e ambiental (CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA III, 1997). O termo “agrotóxico” foi introduzido no Brasil pela Lei Federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto 98.816, de 11 janeiro de 1990, atualmente, revogado pelo Decreto 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Assim, pelo Artigo 2, Inciso I, da Lei Federal nº7.802, o termo “agrotóxico” ficou definido como: *“Agrotóxicos e afins são os produtos e componentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, desseccantes, estimuladores e inibidores do crescimento.”*

Na literatura inglesa, estas mesmas substâncias químicas são denominadas de “pesticidas”, uma vez que, também, denota a larga gama de substâncias químicas usadas no controle de pragas, além de conotar seu caráter prejudicial, sem remeter apenas à utilização agrícola (como em “agrotóxicos”, pelo radical “agro”).

Os pesticidas tem sido alvo de preocupação alarmante por parte dos diversos segmentos da sociedade, devido a seu potencial risco ao ambiente (CUNHA *et al.*, 2005), uma vez que o uso indiscriminado regido por fatores, como: uso inadequado, alta toxicidade, falta do uso de equipamentos de proteção e precariedade dos mecanismos de

vigilância, pode gerar danos à saúde humana, animal e ambiental (SILVA *et al.*, 2005; DOMINGUES *et al.*, 2004; SANCHES *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2001).

Vale ressaltar que o uso de pesticidas não gera somente impacto ambiental, mas também impactos sociais e sanitários, os quais são agravados pela ampla utilização desses produtos, pelo desconhecimento dos riscos associados a sua utilização, pelo desrespeito às normas de segurança, pela livre comercialização, pela pressão comercial por parte das empresas produtoras e distribuidoras e os problemas sociais presentes, principalmente, no meio rural (foco de seu maior emprego) (MOREIRA *et al.*, 2002).

O uso de pesticidas para controle de vetores em campanhas de combates a endemias é entendido oficialmente como uma medida de prevenção. Assim, configura-se uma ideia de que estes produtos químicos são benéficos para a saúde e os riscos à saúde humana, decorrente dessas substâncias tóxicas, são ocultados. No Brasil, o uso de pesticidas tem sido intenso desde a febre amarela, doença de chagas e, ultimamente, dengue.

Conforme Lima e cols. (2009), os agentes de combate a endemias (ACEs) representam a categoria mais exposta aos efeitos dos pesticidas nas campanhas antivetoriais, pois a exposição se dá desde o preparo da calda até a aplicação nas áreas intra ou peridomiciliares. Os servidores podem absorver esses produtos pelas vias dérmica e aérea, principalmente entre aqueles que realizam nebulização. Fatores como falta de equipamentos de proteção individual (EPI) ou desconhecimento da forma correta de manipulação de cada produto aumentam os riscos de intoxicação e possíveis danos mutagênicos causados pelo seu uso.

Agentes mutagênicos são substâncias que tem a capacidade de modificar a molécula de DNA, levando a mutações que podem estar associados a neoplasias. Várias substâncias, como o álcool, o tabaco, drogas de abuso, medicamentos entre outras, são sabidamente mutagênicos (RIBEIRO, SALVADON E MARQUES, 2004; DUSMAN *et al.*, 2012).

O dano mutagênico pode ser realizado através do teste de micronúcleo em sangue periférico, permitindo assim a avaliação rápida e barata do potencial mutagênico de várias substâncias. Utilizando também o teste de micronúcleo, é possível fazer o biomonitoramento de populações que são expostas a substâncias potencialmente mutagênicas, como os pesticidas (RIBEIRO, SALVADON E MARQUES, 2004).

Apesar da importância do uso de pesticidas para nossa sociedade, poucos estudos foram realizados para demonstrar o potencial mutagênico dos pesticidas, especialmente nos ACEs, que são um grupo potencialmente expostos. Visando isso, o presente estudo avaliou os danos mutagênicos nos ACEs através do teste de micronúcleo, e correlacionou o aumento da frequência de micronúcleo com o uso de equipamentos de proteção individual (EPI). Os hábitos de vidas dos ACEs também foram correlacionados com o dano genômico.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da endemia de dengue

A dengue é uma doença viral cujo agente etiológico é um vírus do gênero *Flavivirus*. Atualmente são conhecidos quatro sorotipos do vírus, sendo eles denominados DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4. A dengue é amplamente distribuída pelo mundo, sendo encontrada em todos os continentes com exceção da Europa (BORGES et al., 2012; TAUIL, 2001).

Clinicamente, as manifestações variam deste uma simples síndrome viral benigna, até um quadro grave de dengue hemorrágica (DH). Os fatores de risco relacionado com a gravidade da doença são: a cepa do sorotipo do vírus infectante (o DEN-2 é considerado mais virulento), o estado imunitário do paciente, a idade dos pacientes (pacientes mais novos tem mais risco de desenvolverem DH) e diferenças étnicas (a DH ocorre mais em brancos do que em negros) (TAUIL, 2001; DIAS, et al., 2010).

O vírus é transmitido pela picada do mosquito *Aedes aegypti*, um mosquito de ambiente urbano que se encontra amplamente distribuído em todo território nacional. Estima-se que ele esteja em contato com 2,5 bilhões de pessoas no mundo todo (ÁZARA, 2009).

O mosquito *Aedes aegypti* foi introduzido no Brasil no período colonial, provavelmente sendo trazido junto com o tráfico de escravos. A partir daí o mosquito se adaptou ao ambiente urbano o que levou a uma rápida distribuição espacial em todo território nacional (BARRETO, TEIXEIRA, 2008).

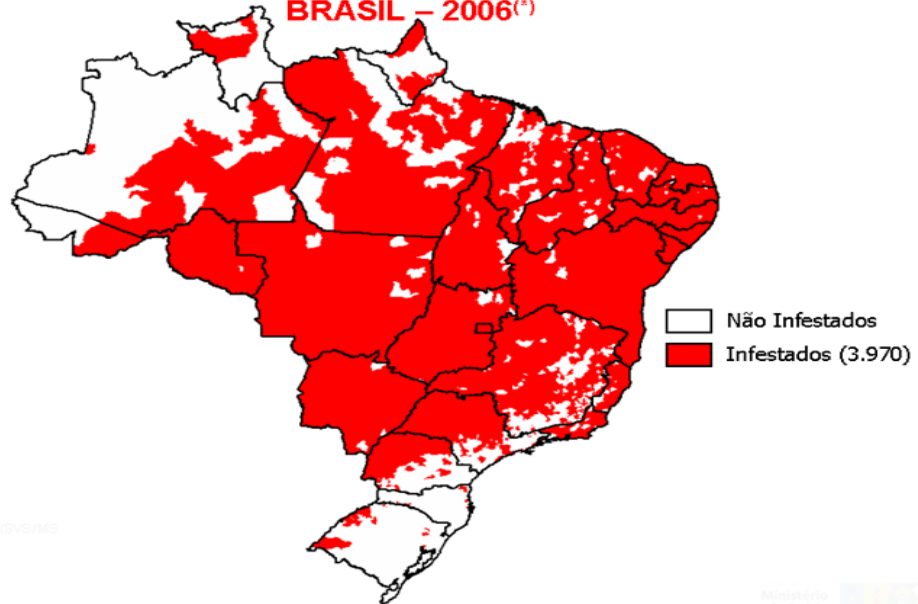
Em 1950, graças à epidemia de febre amarela, que também é transmitida pelo *Aedes aegypti*, foi realizada uma grande campanha de combate ao mosquito, o que levou em 1955 a erradicação dele no território nacional. Em 1976 um foco do mosquito foi encontrado em Salvador (BA) e a espécie mais uma vez se dispersou em todo o território brasileiro, sendo endêmica em vários estados, como mostra a Figura 1. (ÁZARA, 2009; BARRETO, TEIXEIRA, 2008).

Figura 1. Municípios infestados pelo *Aedes aegypti* no Brasil em 2006 (Secretaria de vigilância e saúde)



Secretaria de Vigilância em Saúde

Municípios Infestados por *Aedes aegypti* BRASIL – 2006^(*)



Fonte: Secretaria de vigilância e saúde (2006)

Atualmente o único modo de controle da doença se dá pela eliminação do vetor *Aedes aegypti*, seja combatendo os criadouros (água parada), seja combatendo o próprio mosquito utilizando pesticidas químicos, sendo essa a principal abordagem nas atuais campanhas de combate a endemias (BORGES et al., 2012).

O uso indiscriminado de pesticidas no controle do vetor está gerando uma pressão evolutiva nos mosquitos, levando as populações resistentes a certos pesticidas, o que faz com que novos pesticidas sejam introduzidos nas campanhas sem se saber ao certo os reais riscos a saúde humana e ao meio ambiente (BORGES et al., 2012).

2.2 Tipo e classificação dos principais pesticidas utilizado em campanha de controle de endemias

Os pesticidas, também denotados de agrotóxicos, são substâncias químicas especificamente desenvolvidas para uso no controle de pragas e doenças de plantas, em atividades agrícolas, pastagens para pecuária, florestas nativas e plantadas, ambientes hídricos, urbanos e industriais e nas atividades de vigilância sanitária para o controle de doenças zoonóticas (STENERSEN, 2004).

Segundo a agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA) (2011) a classificação toxicológica dos pesticidas é de extrema importância para o conhecimento dos riscos inerente ao produto, do ponto de vista de seus efeitos agudos. Sendo assim os pesticidas são classificados conforme sua classe toxicológica, sua toxicidade e sua dose letal 50 (DL-50) e com bases nesses parâmetros são determinadas certas cores (tabela 1) (RIBAS, MATSUMURA, 2009).

Tabela 1. Classificação dos pesticidas de acordo com efeitos à saúde humana

Classe toxicológica	Toxicidade	DL-50	Faixa colorida
I	Extremamente tóxico	< 5 mg/kg	Vermelha
II	Altamente tóxico	Entre 5 e 50 mg/kg	Amarela
III	Mediamente tóxico	Entre 50 e 500 mg/kg	Azul
IV	Pouco tóxico	Entre 500 e 5000 mg/kg	Verde
-	Muito pouco tóxico	Acima de 5000 mg/kg	-

Fonte: RIBAS, MATSUMURA, 2009

Conforme novos pesticidas são produzidos e os antigos vão perdendo sua eficácia em eliminar os vetores, as campanhas de combate a endemias vão utilizando outros pesticidas. As principais classes de pesticidas utilizadas são os organoclorados (OG), organofosforatos (OP), carbomatos e peritróides (BRAGA, VALLE, 2007).

2.3 Toxicologia dos principais pesticidas

2.3.1 Organoclorados (OG)

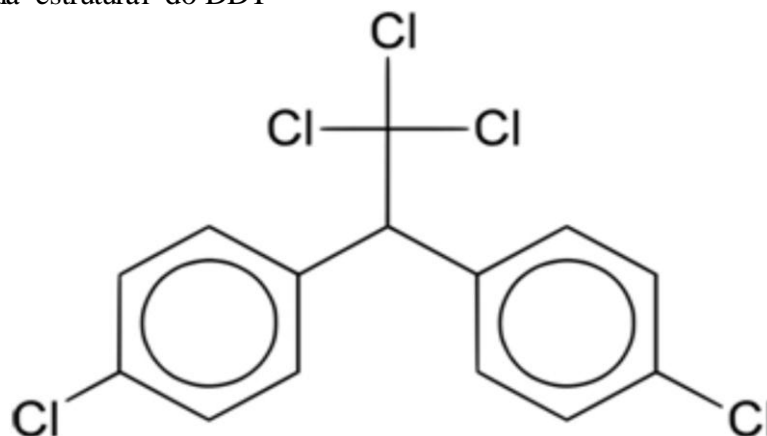
Organoclorados (OG) são pesticidas que contêm os elementos carbono, hidrogênio e cloro na sua composição. Eles são classificados em 4 grupos: difenil-alifáticos; hexaclorociclohexanos; ciclodienos; e policloroterpanos. Apesar de apresentarem diferenças, as intoxicações em humanos por qualquer um deles são bastante similares, levando a quadros de hiperexcitabilidade, ataxia, tremores musculares e convulsões. (BRAGA, VALLE, 2007; OGA, 2014).

Os OG foram amplamente utilizados no mundo, principalmente na agricultura, mas em 1970, com o surgimento de pesticidas mais seguros, seu uso decaiu, chegando a ser proibido em vários países (OGA, 2014).

Os OG podem ser absorvidos por via cutânea, respiratória ou gastrointestinal. A absorção pode ser modificada pelo solvente que ele é diluído ou pela presença de gordura e o estado físico do pesticida. Por ser altamente lipossolúvel, sua distribuição se dá principalmente pelo tecido adiposo, mas o DDT tem a capacidade de se depositar em todos os tecidos do corpo. Alguns OG podem se acumular indefinidamente no corpo e ser encontrado no leite materno e no tecido fetal (OGA, 2014).

Entre os principais pesticidas utilizados em campanhas de controles de endemias em toda América latina que pertencem a esse grupo, o mais famoso é o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT). A Figura 2 mostra sua forma estrutural. Em 1948 o entomologista suíço Paul Muller ganhou o Prêmio Nobel da medicina pela descoberta da aplicação do DDT nos controles de vetores. Atualmente, por causa da sua toxicidade e pela capacidade de permanecer por longos períodos no meio ambiente, seu uso foi descontinuado nas campanhas de combate a endemias e na agricultura, sendo até mesmo proibido em muitos países (BRAGA; VALLE, 2007; GUINATI; GONÇALVES; REED, 2014; BAHIA; GUIMARÃES; ASMUS, 2014).

Figura 2. Fórmula estrutural do DDT



Fonte: Fogaça, 2013.

O mecanismo de ação dos DDT ainda não é muito claro, mas acredita-se que ele age nos canais de sódio, destruindo assim o equilíbrio iônico da célula, impedindo assim

uma transmissão normal de impulsos nervosos. Ele se acumula na gordura corporal e pode causar neuropatia periférica, discrasia sanguínea, aplasia medular, lesões renais, arritmias, promoção de tumores, alterações endócrinas, alterações no sistema reprodutivo, óbito fetal e aborto espontâneo e hepatotoxicidade (BRAGA; VALLE, 2007; BAHIA; GUIMARÃES; ASMUS, 2014; RIVEIRO et al., 2011).

Em caso de intoxicação aguda por OG, não existe antídoto específico. O máximo que se pode fazer é manter as funções vitais e controlar as convulsões com benzodiazepínicos seguidos por fenobarbital, e manter o paciente em observação por no mínimo 12 horas para que se possa observar a evolução dos sintomas (OGA, 2014).

2.3.2 Organofosforados (OP)

Organofosforados (OP) são os pesticidas que apresentam fósforo na sua composição. Eles foram descobertos em 1937 por Shrader e logo substituiu os OG nas campanhas de combate a endemias por causa das muitas vantagens que ele apresentava, como por exemplo, ser biodegradável e não se acumularem nos tecidos (BRAGA; VALLE, 2007).

Atualmente existem no mercado 29 princípios ativos de OP em 79 formulações. No site da ANVISA há uma lista dos OP utilizados no Brasil. Em campanhas de controles de endemias, um dos OP mais utilizado é o Malathion. Na cidade de Aparecida de Goiânia (GO) 38% dos agentes de combate a endemias relataram usar ou terem usados esse composto no seu trabalho (OLIVEIRA, 2014; OGA, 2014).

A absorção dos OP se dá principalmente por vias cutâneas, pelo trato respiratório e por via gastrointestinal. A absorção cutânea é maior em altas temperaturas ou quando há alguma lesão na pele. Após a absorção, os OP são rapidamente biotransformados pelo fígado em produtos menos tóxicos e distribuídos para todos os tecidos do corpo. A eliminação dos compostos da biotransformação do OP ocorre principalmente pela urina e pelas fezes, sendo que 80 a 90% da dose absorvida são eliminadas dentro de 48 horas. A meia vida dos OP, após ingestão única, varia de minutos a poucas horas, dependendo do composto da via de absorção (OGA, 2014).

O mecanismo de ação dos OP se dá pela inibição das acetilcolinesterase (AChE), o que leva a um acúmulo de acetilcolina (ACh) nas sinapses. Esse acúmulo de acetilcolina na sinapse leva a uma paralisia espástica. A intoxicação aguda por OP é

definida pelos efeitos da hiperatividade nos neurônios muscarínicos e nicotínicos o que leva a uma manifestação clínica bem característica (Quadro 1) (CAVALIERE et al., 1996; BRAGA; VALLE, 2007; DALTO et al., 2011;).

Em caso de intoxicação aguda por OP, deve-se primeiramente desobstruir e aspirar as secreções e manter as funções respiratórias e cardiovasculares, mantendo uma boa oxigenação. Em caso de convulsão, deve-se controlá-la antes de qualquer outro procedimento utilizando um antiepilético, como o diazepam. Após as primeiras medidas, recomenda-se que faça um esvaziamento gástrico com soro fisiológico em caso de ingestão dos OP (OGA, 2014).

Em casos de intoxicações mais graves, pode-se usar, após tomar as medidas imediatas, fármacos de ação anticolinérgica, sendo o mais utilizado a atropina. A dose total de atropina varia de caso para caso e sempre deve ser estabelecida conforme a necessidade do paciente. Também pode usar pralidoxima após o paciente atingir a atropinização. Esse fármaco reativa a AChE, o que ajuda a melhorar o quadro do paciente (OGA, 2014).

Quadro 1. Intoxicação por inibidores de colinesterase

Tecido nervoso e receptores afetados	Locais afetados	Manifestações clínicas
Fibras Nervosas pós-ganglionares parassimpáticas (Receptores Muscarínicos)	Glândulas exócrinas; Olhos; Trato gastrointestinal; Trato respiratório; Sistema cardiovascular; Bexiga;	Sialorréia, lacrimejamento e sudorese; Miose, ptose palpebral, borramento de visão hiperemia conjuntiva; Náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, tenesmo, incontinência fecal; Hipersecreção brônquica, rinorreia, broncoespasmo, dispneia, cianose; Bradycardia e hipotensão; Incontinência urinaria;
Fibras pré-ganglionares simpáticas e parassimpáticas (receptores nicotínicos I)	Sistema cardiovascular;	Taquicardia, hipertensão, palidez;
Nervos motores somáticos (receptores nicotínicos II)	Músculo esquelético;	Fasciculações, câimbras, diminuição dos reflexos tendinosos,

		fraqueza muscular generalizada, paralisia, tremores;
Cérebro (receptores de acetilcolina)	SNC;	Sonolência, letargia, fadiga, labilidade emocional, confusão mental, perda de concentração, cefaleia, coma com ausência de reflexos, ataxia, tremores, respiração Cheyne-Stokes, dispneia, convulsões, depressão do centro respiratório e cardiovascular;

Fonte: Centro de Controle de Intoxicações de Niterói (2000)

2.3.3 Piretróides

Os piretróides sintéticos são produzidos em laboratório, a partir de uma substância natural extraído do crisântemo, o piretro. Em comparação as outras classes de pesticidas os piretróides garantem uma segurança maior, pois ele é biodegradável; não cumulativo; apresenta baixa toxicidade em aves e mamíferos e alta toxicidade em insetos, sendo eficaz contra um grande espectro de insetos (BRAGA; VALLE, 2007; FIGUEIREDO, 2014; SANTOS; AREAS; REYES, 2007).

Graças às vantagens apresentadas pelos piretróides, o seu uso vem aumentando tanto na agricultura como nas campanhas de combate a endemias. Na cidade de Aparecida de Goiânia (GO) 41% dos agentes de combate a endemias relataram já terem usado ou ainda usam algum pesticida da classe dos piretróides, sendo que os pesticidas utilizados são a deltametrina e a cipermetrina (OLIVEIRA, 2014).

Os piretróides podem ser divididos em 2 grupos, os que apresentam um grupo ciano na porção fenoxibenzil (tipo II) e que não apresenta esse grupo (tipo I). A intoxicação parece estar relacionada com o tipo de piretróide envolvido. Enquanto o tipo I causa uma paralisia progressiva, o tipo II age preferencialmente no sistema nervoso central (SNC) induzindo a síndrome da coreoatetose tipo II, que é caracterizado por hipersensibilidade, salivação excessiva, agitação das mãos e tremores periódicos (SANTOS; AREAS; REYES, 2007).

Os piretróides são amplamente absorvidos por via oral e em pequena quantidade por via dérmica. A absorção pode ser aumentada pela presença de solventes orgânicos utilizado na sua composição. Após serem absorvidos, os piretróides são rapidamente distribuídos por todo o organismo, inclusive o cérebro. Os piretróides sofrem

principalmente reações de hidrólise no fígado e são rapidamente eliminados na urina (OGA, 2014).

O mecanismo de ação dos piretróides é similar ao do DDT, interferindo nos canais de Cálcio, mas em concentrações altas os piretróides do tipo II também podem interagir com o complexo receptor inotrópico do ácido γ -aminobutírico (GABA) (SANTOS; AREAS; REYES, 2007).

2.4. Avaliação da colinesterase sérica

A ACh é um dos principais neurotransmissores do sistema nervoso autônomo. Ele se encontra principalmente nas junções neurais efectoras parassimpáticas, nas junções neuromusculares, nos gânglios autônomos, na medula adrenal e no SNC (KLEMZ; ASSIS, 2005).

A ACh age como estímulo entre duas fendas sinápticas, permitindo que o impulso nervoso passe do neurônio pré-sináptico para o neurônio pós-sináptico. Isso ocorre porque a ACh se liga a receptores específicos no neurônio pós-sináptico, permitindo o influxo de íons sódio e potássio, o que faz com a membrana desse neurônio se despolarize (SHERWOOD, 2011).

Após o impulso nervoso ser completado, a ACh tem que ser retirada da fenda sináptica para que ocorra a despolarização do neurônio. Se houver um aumento na liberação de ACh, como observado por acidentes com aranha viúva negra, vários sinais e sintomas relacionados com o estímulo dos neurônios aparecem (ALMEIDA, CARDOSO, 2009).

A enzima responsável por retirar a ACh da fenda sináptica é a AChE. A AChE entra na fenda sináptica e captura a ACh, retirando-a da fenda, permitindo assim que o neurônio se polarize de novo. A AChE realiza sua função em poucos milissegundos (SHERWOOD, 2011).

A AChE é sintetizada principalmente pelos eritrócitos, pulmões, baços, terminações nervosas e na substância cinzenta do cérebro (AChE verdadeira) e no fígado, pâncreas, coração, na substância branca do cérebro e no soro (AChE falsa). (BURTIS; ASHWOOD, 1994).

Vários produtos químicos agem inibindo a AChE, entre eles os OP. A inibição da AChE evita a desativação da ACh, levando ao um quadro de sintomas relacionados a

estimulação dos neurônios. A intoxicação dos OP normalmente leva ao óbito por depressão respiratória (RIBEIRO; MELLA, 2007).

A avaliação da AChE é de extrema importância para avaliar a intoxicação por OP, e deve ser realizado regularmente por todas as pessoas que são ocupacionalmente expostos a OP, como agricultores e ACEs. O governo recomenda que avaliação seja feita semestralmente (RIBEIRO; MELLA, 2007).

Valores diminuídos (abaixo 3930 U/L nas mulheres e 4620 U/L nos homens) de AChE no soro está relacionado com intoxicação aguda ou crônica por OP, mas também podem ser encontrados em pacientes com problemas hepáticos (hepatite, cirrose) e carcinoma metastático (RIBEIRO; MELLA, 2007; BURTIS; ASHWOOD, 1994).

O aumento da AChE (acima de 10800 U/L nas mulheres e 11500 nos homens) não tem valor clínico na avaliação da intoxicação por OP, mas podem ser encontrados em pacientes com síndrome nefrótica, tirotoxicidade, hemocromatose, em pacientes diabéticos obesos e em pacientes com ansiedade e os outros problemas psíquicos. (BURTIS; ASHWOOD, 1994).

2.5. Estudo da genotoxicidade e mutagenicidade

Há uma grande preocupação acerca dos efeitos mutagênicos e carcinogênicos de agentes genotóxicos que os seres humanos podem ser ocupacionalmente ou acidentalmente expostos (MARQUES; RIBEIRO; SALVADORI, 2000).

Vários testes de curta duração estão disponíveis para avaliar o dano genômico, mutações gênicas, danos cromossômicos ou lesões do DNA. Esses testes são de extrema importância para avaliação do risco de novos produtos químicos que surgem no mercado (MALUF, PALAZZO, 2011).

Entre os testes de avaliação de dano no DNA, pode-se citar o teste de aberrações cromossômicas (AC), troca de cromátides-irmãs, ensaio cometa e o teste de micronúcleo. Todas elas são técnicas relativamente simples e baratas, podendo ser realizado com teste de triagem de novas substâncias, para verificar o potencial mutagênico e genotóxicos delas (MALUF, PALAZZO, 2011).

O ensaio cometa, também conhecido como eletroforese de célula única, é um método rápido e barato para avaliar dano genômico. Ele é amplamente utilizado na

avaliação de dano genômico em humanos, no monitoramento ecológico, teste de genotoxicidade e para avaliar o reparo do DNA (MALUF, BAGATINI, 2011).

As AC estão intimamente relacionadas a neoplasias. O teste de AC é um teste mutagênico utilizado para detectar alterações estruturais, sendo um dos poucos métodos direto para mensurar mutação em sistemas exposto a mutagênicos ou carcinogênicos potenciais. (PALAZZO, MALUF, 2011).

As trocas de cromátides-irmãs são empregadas para avaliar a resposta citogenética a exposição a agentes químicos. Ela consiste em uma manifestação citológica onde há permuta entre os produtos de replicação do DNA em *loci* homólogos de cromátides irmãs. Esse processo de troca envolve a quebra e posterior reunião de parte dos cromossomos (BAGATINI, MALUF, 2011).

2.6. Teste de micronúcleo (MN)

O micronúcleo é biomarcador amplamente utilizado em estudos de biomonitoramento e na epidemiologia molecular e citogenética para determinar a presença e a extensão do dano cromossômico em populações que são expostas a agentes genotóxicos, como os pesticidas (PALAZZO; MALUF, 2011; BOLOGNESI et al., 2010).

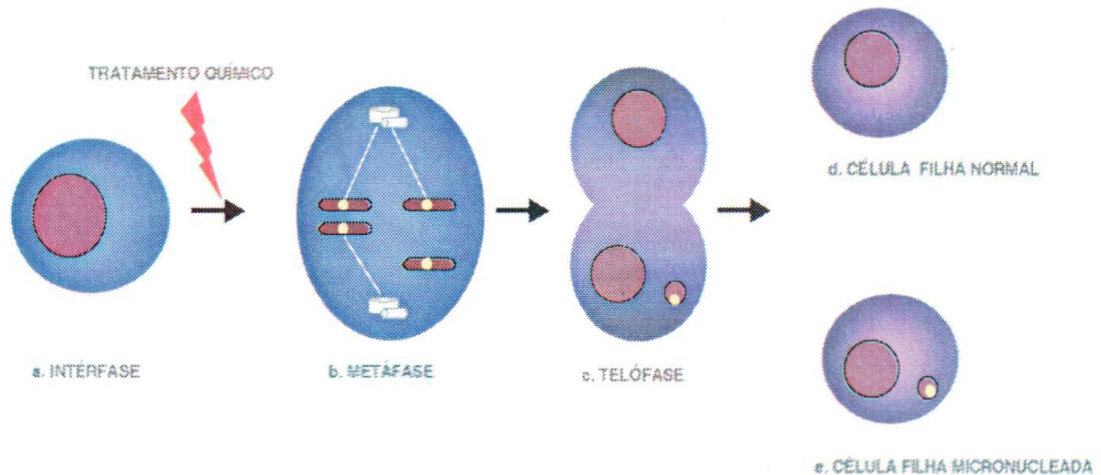
Pode-se afirmar que o MN detecta agentes genotóxicos clastogênicos e interferentes da formação do fuso mitótico. Em comparação as outras técnicas de avaliação de mutagenicidade, a avaliação do MN é mais simples, requer menos treinamento e menos tempo de análise, além de conferir uma maior sensibilidade ao estudo, graças a amplitude estatística que pode ser atingida com a análise de um número maior de células (PALAZZO; MALUF, 2011).

O MN pode ser observado facilmente em células em interfase como sendo um corpúsculo intracitoplasmático livre. Sua avaliação pode ser feita em linfócitos, em células da medula óssea, em células esfoliativas entre outros tipos celulares. Sua avaliação pode ser feita *in vitro*, ou utilizando um modelo animal, como camundongo ou peixe, além da avaliação de genotoxicidade em humanos (AGOSTINI, 1993).

Os MN são formados a partir de um fragmento cromossômico ou um cromossomo inteiro que durante a divisão celular, na anáfase, se perdeu. Isso pode ocorrer por falha no fuso acromático, no cinetócoro, por dano em subestruturas cromossômicas, por

alterações fisiológicas ou por falha em outras partes do aparato mitótico. A frequência de MN se encontra aumentada em células expostas a agentes clastogênicos e aneugênicos. A Figura 3 mostra a formação de um MN causado pela exposição a um agente químico (PALAZZO; MALUF, 2011).

Figura 3. Formação de um micronúcleo causado pela exposição a um agente químico



Fonte: FIGUEREIDO, 2012

Em 1997 foi criado o projeto *Human MicroNucleus* (HUMN) com a colaboração de 40 laboratórios ao redor do mundo. Esse projeto tinha como objetivo criar um padrão de análise internacional do MN para que a técnica possa ser amplamente utilizada em pesquisa de efeito mutagênico. Foram definidos nesse projeto os seguintes critérios de análise de MN (PALAZZO; MALUF, 2011).

- O diâmetro dos MN geralmente varia entre 1/16 e 1/3 do diâmetro de um dos núcleos.
- Os MN têm um formato redondo ou oval.
- Os MN não podem ser refringentes, o que os diferencia de alguns artefatos como partículas de corante.
- Os MN não podem apresentar qualquer conexão com o núcleo principal.
- Os MN podem encostar-se ao núcleo principal, mas não pode haver sobreposição, e os respectivos limites nucleares devem ser distinguíveis.
- Os MN normalmente apresentam a mesma intensidade de cor do núcleo principal, mas podem apresentar uma coloração mais intensa.

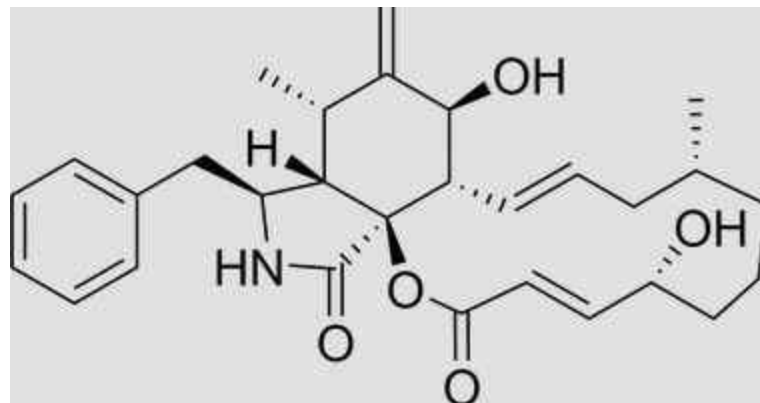
2.6.1 Micronúcleo em Linfócitos T binucleadas

Para que se possa avaliar o efeito biológico do MN é necessário utilizar células que tenham passado por pelo menos 1 ciclo celular. Isso dificultava a técnica, pois era complicado avaliar quais células de uma cultura tinha passado pelo ciclo (FENECH, 1993).

Para solucionar esse problema, em 1985 Fenech e Morley utilizaram a citocalasina B para bloquear a citocinese, levando assim a uma população de células binucleadas. Assim era possível separar as células que passaram por divisão das que não passaram por divisão. Essa técnica ficou conhecida como micronúcleo com bloqueio da citocinese (PALAZZO; MALUF, 2011).

A citocalasina B é uma substância obtida do metabolismo de fungos que tem a capacidade de se ligar a actina, impedindo assim a citocinese e conseqüentemente o ciclo celular. Isso leva a um apoptose das células. A citocalasina B, originalmente chamada de phomin, foi a primeira citocalasina isolada e até hoje é utilizado como ferramenta para estudo de divisão celular e mobilidade celular. A Figura 4 mostra a estrutura química da citocalasina B (HAIDLE; MYERS, 2004).

Figura 4. Estrutura química da citocalasina B



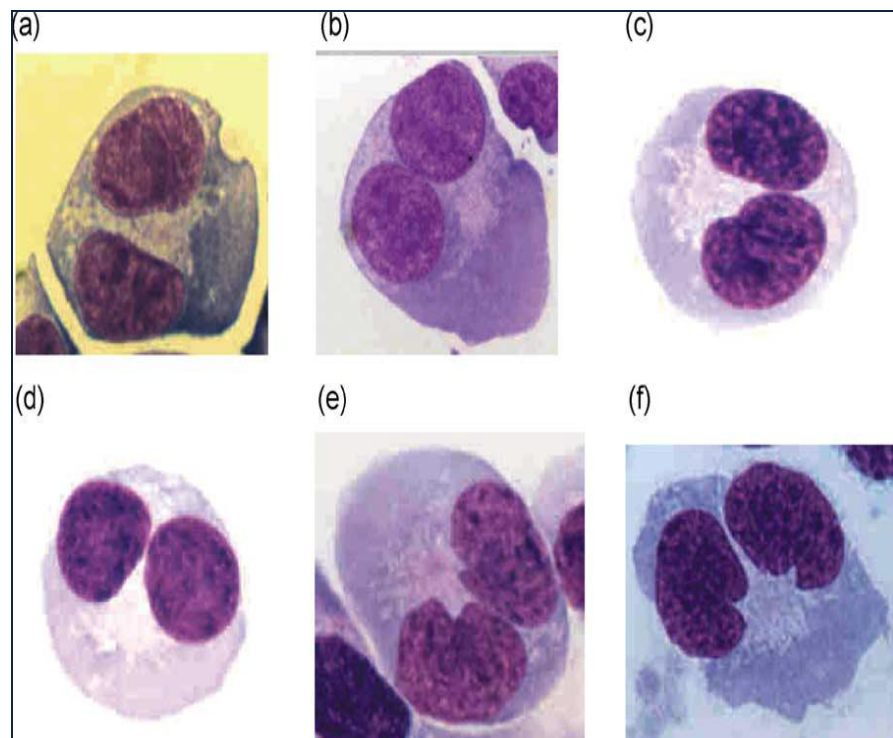
Fonte: HAIDLE; MYERS, 2004 (com modificações)

Na avaliação microscópica do MN em linfócitos T, é necessário contar no mínimo 1000 células binucleadas. A frequência de MN em uma única célula também é um fator relevante. Além disso, é possível analisar outras anomalias citogenéticas nesse teste, como ponte nucleoplasmática ou o bud nuclear (PALAZZO; MALUF, 2011).

Os critérios de avaliação de células binucleadas e dos micronúcleos também foram definidos no projeto HUMN (HUman MicroNucleus), e são descritos abaixo (FENCH et al., 2003). (Figura 5, Figura 6)

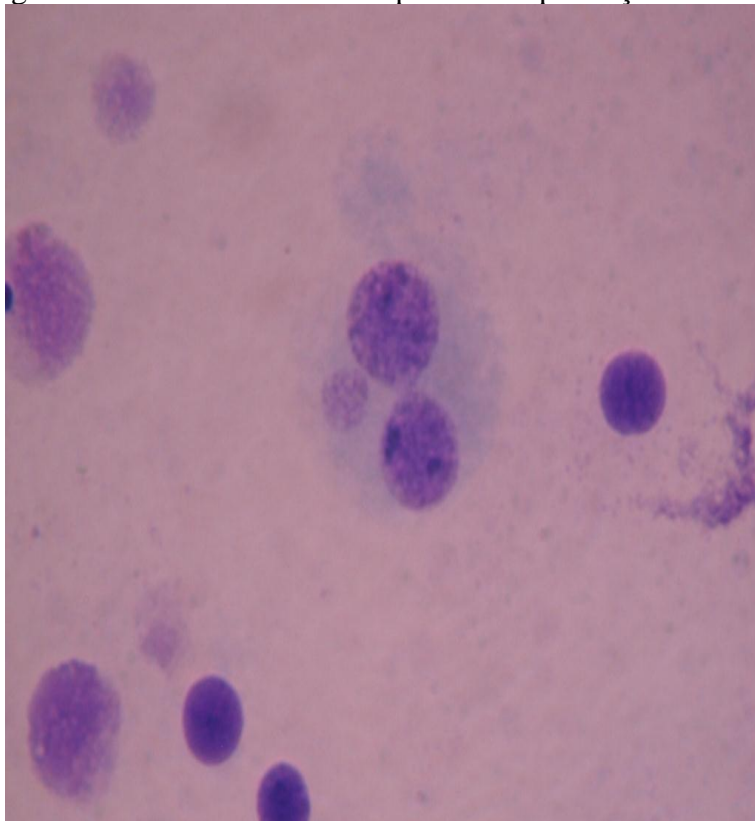
- Os dois núcleos das células binucleadas devem estar situados no mesmo limite citoplasmático.
- A membrana nuclear deve estar intacta.
- Os tamanhos dos núcleos devem ser aproximados.
- O padrão e a intensidade de coloração do núcleo devem ser iguais.
- Os núcleos da célula binucleada podem estar em contato, mas é importante que não tenha sobreposição.

Figura 5. Células binucleadas típicas obtidas de cultura em curto prazo de linfócito com inibição por CTB



Fonte: FENCH et al., 2003

Figura 6. Imagem de linfócito binucleado típicos com presença de um micronúcleo.



Fonte: RODRIGUES[©], 2015

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Analisar a frequência de células micronucleadas em agentes de combate a endemias (dengue), do município de Aparecida de Goiânia.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a dosagem de acetilcolinesterase plasmática nos agentes de combate a endemias e associar com relatos de intoxicação;
- Determinar a frequência de micronúcleos em linfócitos do sangue periférico de indivíduos expostos ocupacionalmente durante ao combate a endemias;
- Comparar a frequência de células micronucleadas nos agentes de combate a endemias com o grupo controle;
- Correlacionar o uso de EPI, o estilo de vida e o tempo de uso de inseticidas e demais pesticidas, com a frequência de células micronucleadas nos agentes de combate a endemias;
- Contribuir para uma melhor compreensão dos efeitos adversos à saúde humana resultantes da exposição ocupacional durante ao combate das endemias.

4. METODOLOGIA

4.1. Participação Institucional

Neste estudo houve a participação Institucional do NPR – Núcleo de Pesquisas Replicon / Pontifícia Universidade Católica de Goiás, em parceria com o LaGene – Laboratório de Citogenética Humana e Genética Molecular / SES – Secretaria de Estado da Saúde. Também participou do estudo a Vigilância Sanitária do Estado de Goiás, que recebeu os resultados deste trabalho, tendo em vista o devido respeito ao sigilo de dados de identificação pessoal que é garantido aos participantes.

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, de acordo com a resolução CNS 196/96.

4.2. Grupo Amostral

O público alvo neste estudo foi constituído por 39 agentes de combate à endemias, do controle de vetores, que tenham e/ou tiveram contato com pesticidas utilizados para combater a dengue, no município de Aparecida de Goiânia. Dados como idade, escolaridade, renda, hábitos sociais e tempo de exposição foram coletados, com a utilização de um questionário de estilo de vida (Apêndice 1). O grupo controle foi composto por 39 pessoas da comunidade, do município de Goiânia, que não foram ocupacionalmente expostos a pesticidas.

O termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2) e o questionário foram aplicados em parceria com a Vigilância Sanitária do Estado de Goiás, após a realização de uma reunião com os agentes de saúde para elucidação da pesquisa. Participaram da pesquisa pessoas que estão trabalhando diretamente com os pesticidas e maiores de 18 anos.

4.3. Coleta de material biológico

Foram coletados, por punção penosa, 5-10mL de sangue periférico, para realização da cultura celular, visando à obtenção de células binucleadas. As coletas do

grupo caso foram realizadas no centro de combate a endemias para controle de vetores da cidade de Aparecida de Goiânia. As coletas do grupo controle foram realizadas no Laboratório de saúde (LAS), da PUC/GO.

4.4. Teste de Micronúcleo em Sangue Periférico

O teste de micronúcleo em sangue periférico permite avaliar o dano genético causado pela exposição ao pesticida. Ele consiste em analisar a presença de micronúcleo em linfócitos binucleados.

Para obtenção de linfócitos binucleados foi utilizada a técnica de cultura celular, que consiste em incubar a 37°C 1,0 mL de sangue total em meio RPMI com soro fetal bovino mais fitohemaglutinina por 44 horas. Após completar às 44 horas, foi acrescentado ao meio uma solução de citocalasina B, que inibe a citocinese, aumentando assim o número de células binucleadas. Após o acréscimo de citocalasina B, o material foi incubado por 72 horas, ao qual, foram acrescentadas solução de cloreto de potássio (KCL), ou solução hipotônica e a solução Carnoy (3 de álcool metílico: 1 de ácido acético), denominada solução fixadora, para obter as lâminas para posterior análise. O Anexo 1 descreve o protocolo para obtenção de células binucleadas.

As lâminas obtidas após a cultura celular foram coradas com panótico, utilizando o protocolo padrão, e foram analisadas em microscópio óptico. Foram contadas 1000 células binucleadas e a quantidade de micronúcleos observados nessas células foram utilizadas para posterior análise estatística.

4.5. Teste de colinesterase (CHE)

A enzima CHE tem uma função importante na regulação dos impulsos nervosos através da degradação da ACh na junção neuromuscular e na sinapse nervosa. Existem dois tipos de CHE: a AChE, também conhecido como colinesterase verdadeira ou colinesterase de tipo I, que se encontra principalmente nos eritrócitos, nos pulmões e no tecido nervoso, e a CHE sérica, que é sintetizada principalmente pelo fígado e também é conhecida como colinesterase falsa ou tipo II.

A determinação da CHE é um ótimo marcador para avaliação da intoxicação por produtos que inibem sua função, como os OP, que inibem a AChE e diminuem a CHE sérica.

A determinação bioquímica da CHE sérica se dá por metodologia cinética e consiste na hidrólise da butiriltiocolina pelo CHE em butirato e tiocolina. A tiocolina reduz o ferricianeto de potássio, que apresenta uma cor amarela, a ferrocianeto de potássio, que é incolor.

O sangue dos pacientes foi coletado e foi centrifugado para obtenção do soro, que foi armazenado a 2-8°C. A CHE apresenta uma estabilidade de 15 dias em soro nessa temperatura.

Foram misturados 0,02ml do soro do paciente em 2,0ml do reagente de trabalho, que contém tampão de pirofosfato e butiriltiocolina, e então a solução foi incubada a 37° por 3 min. A absorbância foi lida em 2 tempos, 60 segundos e 120 segundos. O cálculo foi realizado conforme sugerido pelo fabricante para se obter o valor da CHE.

4.6. Análise Estatística

Os hábitos de vida do grupo exposto, assim como a idade, número de filhos e demais variáveis, foram coletadas com a aplicação do questionário e foram plotadas em planilhas do excel, sendo correlacionadas com as frequências de micronúcleo. Nessas análises foram verificadas se as frequências de micronúcleo estão associadas com o uso crônico de pesticidas. Além disso, foi verificado se o tabagismo, etilismo e o tempo de exposição aos pesticidas também foram capazes de aumentar os índices de dano ao genoma dos trabalhadores, quando comparados com o grupo controle. As análises incluíram estatística descritiva, teste t e Regressão Linear Simples. Todos os testes foram conduzidos com nível de significância de $p < 0,05$ e intervalo de confiança de 95%, com o uso do programa BioEstat 5.0 (Ayres *et al.*,2003).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Características dos grupos caso e dos controles

O grupo caso foi composto por 39 agentes de combate a endemias da cidade de Aparecida de Goiânia. Dos 39 agentes, 21 (53,8%) eram homens e 18 (46,2%) eram mulheres.

O grupo controle também foi composto por 39 indivíduos da comunidade que não foram ocupacionalmente expostos a pesticidas. Dos 39, 20 (51,3%) eram homens e 19 (48,7%) eram mulheres. A média de idade do grupo caso foi 37,8 anos e do grupo controle foi 28 anos. Os hábitos de vida do grupo caso e do grupo controle estão demonstrados na tabela abaixo (Tabela 2).

Tabela 2. Dados sobre o sexo, etilismo, tabagismo e idade do grupo caso e controle.

Variáveis	Casos N (%)	Controles N (%)
Sexo		
Homens	21 (53,8%)	20 (51,3%)
Mulheres	18 (46,2%)	19 (48,7%)
Total	39	39
Média de idade		
	37,8 anos	28 anos
Tabagismo		
Fumantes	10 (25,6%)	1 (2,6%)
Não fumantes	29 (74,4%)	38 (97,4%)
Total	39	39
Etilismo		
Etilistas	23 (58,9%)	1 (2,6%)
Não etilistas	16 (41,1%)	38 (97,4%)
Total	39	39

Alguns estudos, como o de Lucchese (2008) relatam que certas substâncias, como o tabaco e o álcool, têm dados suficientes para classifica-los como cancerígenos para seres humanos, sendo que eles atendem os pré-requisitos para serem classificados em agências internacionais como o *Internacional Agency of Research on Cancer-IARC*.

Entretanto, alguns estudos, como o Eraso (2010) afirmam que há certa carência de informação acerca do assunto para afirmar que essas substâncias sejam cancerígenas. Para o presente estudo, foram considerados como hábitos sociais, com potencial capacidade de causar lesão no DNA, o tabagismo e o etilismo, pois se sabe que individualmente ou em conjunto, os dois estão relacionados com dano ao DNA.

5.2. Tempo de exposição e relato de intoxicação do grupo caso

O tempo de exposição aos pesticidas, além do relato de intoxicação, são fatores relevantes para verificar um possível dano ao DNA causado pelo uso de pesticidas. Dos agentes analisados, 20,5% (8 agentes) relataram ter tido algum caso de intoxicação por pesticida durante o seu tempo de trabalho, e 79,5 (31 agentes) relataram que nunca tiveram casos diagnosticados de intoxicação. Esses dados podem estar subestimados, pois muitas vezes o agente se intoxica, mas não procura ajuda médica e acaba não relatando a intoxicação. A Tabela 3 demonstra o tempo de exposição aos pesticidas do grupo caso.

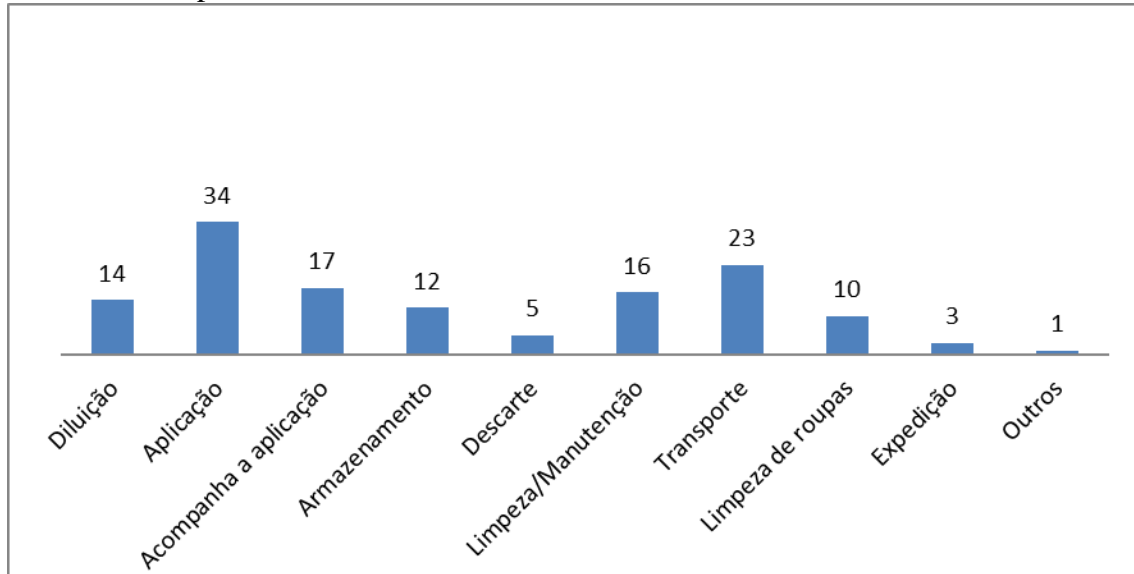
Tabela 3. Tempo de exposição dos ACEs de Aparecida de Goiânia (GO), em anos

Tempo de exposição (anos)	N (%)
1 a 12	33 (84,7%)
13 a 24	05 (12,8%)
25 a 36	00 (0%)
Mais de 36	01 (2,5%)

Conforme a tabela acima, a maioria dos agentes (84,7%) usou pesticida por aproximadamente 12 anos. Entre os principais meios de manuseio, pode-se citar: diluição, aplicação, acompanhamento da aplicação, armazenamento, descarte, limpeza dos vasilhames, carga e descarga, transporte, limpeza da roupa usada na aplicação dos pesticidas e expedição; vale ressaltar que muitos ACE manuseiam os pesticidas de

várias formas diferentes. A Figura 7 ilustra os principais meios de manuseio do pesticida entre os agentes analisados.

Figura 7. Principais tipos de manuseios dos pesticidas pelos agentes de combate de endemias de Aparecida de Goiânia



Além disso, muitos agentes relataram a presença de sinais e sintomas de intoxicação após o uso dos pesticidas ou constantemente. A Tabela 4 demonstra as principais queixas dos agentes.

Tabela 4 - Sinais de intoxicação relatados pelos ACE de Aparecida de Goiânia (GO)

Alterações/Sinais apresentados pelos ACE	Ocorrência (%)
Sono	33,3%
Vômito	12,8%
Chiadeira no peito	33,3%
Tremor	20,5%
Falta de ar	25,6%
Tontura	38,4%
Náusea	25,6%
Tosse	43,5%
Formigamento nas mãos	41,0%
Visão Turva	35,8%
Salivação	28,2%
Cefaléia	66,6%

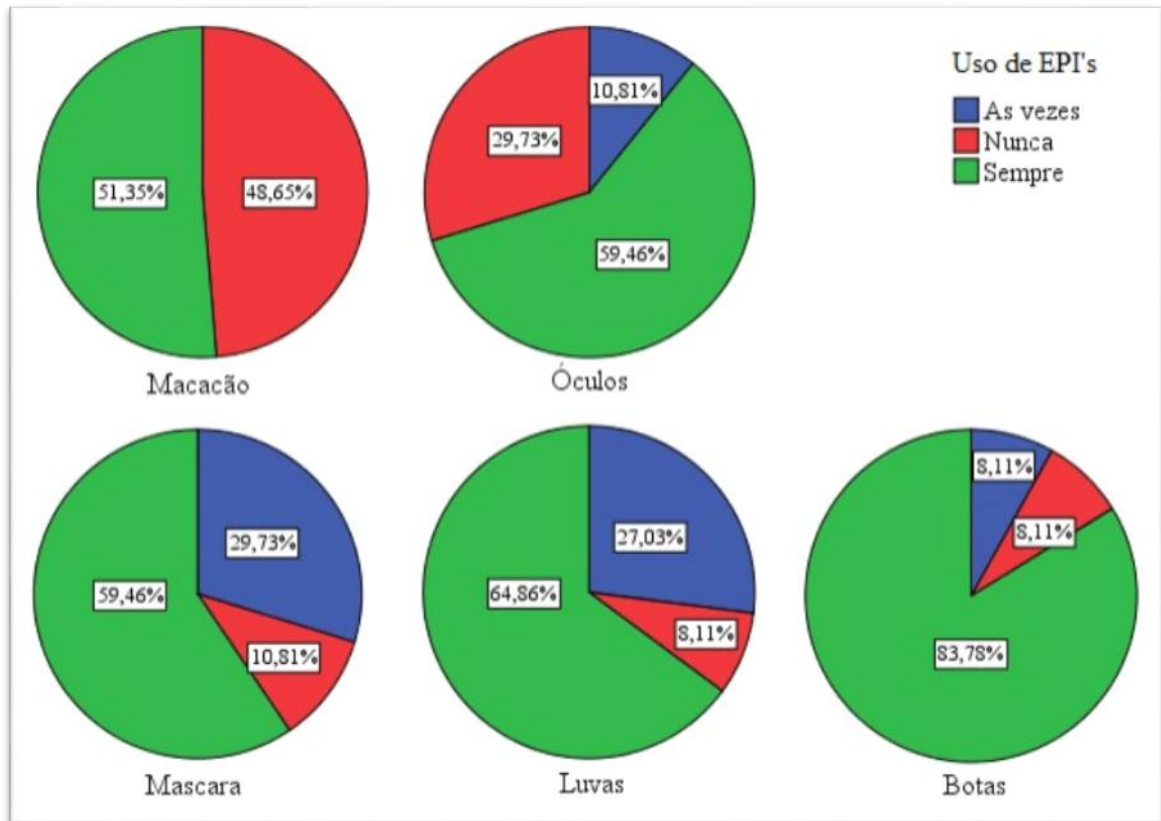
Irritação da mucosa	15,3%
Sudorese	38,4%
Formigamento nos pés	33,3%
Memória	33,3%
Irritação da pele	28,2%
Lacrimejamento	43,5%
Confusão mental	7,6%

Vale ressaltar que os sintomas relatados são condizentes com a clínica de intoxicação e foram relatados em outros estudos (Candido et, al 2013, Godoy, 2014, Reis, 2014). Os sintomas mais relatados foram cefaléia (66,6%), tosse e lacrimejamento (43,5), que são sinais típicos de danos causados por aspiração dos vapores dos pesticidas (RIBEIRO; MELLA, 2007).

5.3. Relato do uso de EPI's pelos agentes de combate a endemias

O uso de EPI's é de extrema importância para a proteção individual das pessoas que são ocupacionalmente expostas a agentes perigosos, como ácidos, bases, fluidos biológicos e toxinas. Todavia, alguns ACEs dispensam o uso de EPIs, o que pode representar um risco a saúde do mesmo, por estarem constantemente expostos a pesticidas. Pesquisas indicam que o uso correto de EPI's reduzem os sinais de intoxicação e o dano genômico de pessoas que são expostas a pesticidas (FARI et al, 2007; BULL et al 2006). As Figuras 8 demonstra os principais EPI's utilizados pelos ACEs, de Aparecida de Goiânia. O desrespeito ao uso de EPI's não é exclusividade dos ACEs de Aparecida de Goiânia. Uma pesquisa realizada na Bahia mostrou que 71,7% dos agentes envolvidos na aplicação do pesticida não utilizavam EPI's corretamente (CARVALHO, 1991).

Figura 8. Relação dos usos dos EPIs em agentes de combate a endemias de Aparecida de Goiânia.

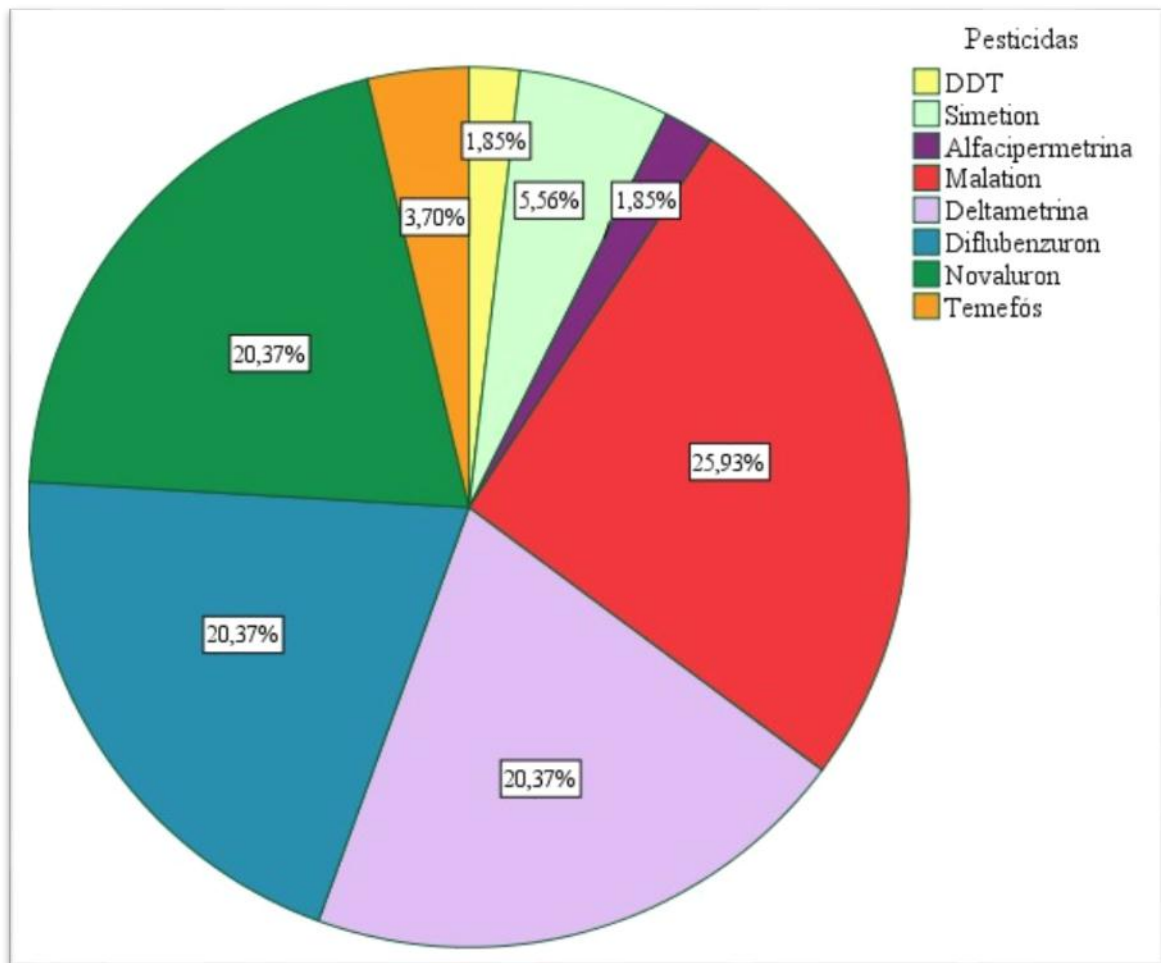


5.4. Principais pesticidas utilizados pelo ACEs

No combate a endemias, como é o caso da dengue, vários pesticidas já foram utilizados, pois no decorrer do tempo a larva e o mosquito transmissor da dengue, podem adquirir resistência, obrigando o governo a mudar o pesticida, para obter o mesmo efeito. Por isso, vários ACEs utilizaram e ainda utilizam pesticidas nas campanhas de combate a endemias. A Figura 9 ilustra os pesticidas mais utilizados.

Dentre os pesticidas mais utilizados, destaca-se o malathion (25,93%), a deltametrina (20,37%) e o diflubezuron (20,37%). O malathion é um organofosforato capaz de inibir a acetilcolinesterase, levando ao aumento de colinesterase na fenda sináptica, o que causa sua toxicidade. Em intoxicação em humanos observam-se principalmente sintomas como salivação, sudorese, cefaleia, vômitos, miose e em casos mais graves, pode levar a coma e óbito (CALDAS, 2000).

Figura 9. Principais pesticidas utilizados nas campanhas de combate a endemias de Aparecida de Goiânia



A deltametrina é um pesticida da classe dos piretróides, portanto sua toxicidade para os mamíferos é baixa. Ela age nos canais de sódio das membranas das células nervosas causando assim uma despolarização. Entre os sintomas mais comuns da intoxicação por deltametrina pode-se citar náusea, vômito, diarreia, cefaleia, vertigem e fraqueza muscular (CALDAS, 2000). O diflubezuron é uma classe nova de pesticida que está sendo utilizado no combate a endemias de dengue. Ele age inibindo a síntese de quitina no estágio imaturo da larva, levando a sua morte. Não se sabe ao certo se o diflubezuron é capaz de causar intoxicação graves nos seres humanos (BORGES et. al, 2012).

5.5. Dosagem da enzima acetilcolinesterase

Apesar da observada predominância do uso de organofosforado (malathion) (Figura 9), conhecido por ser facilmente absorvido pelo organismo humano, pelas vias oral, dérmica e respiratória (ROMÃO *et al.*, 2004), e, ainda, por induzir a inibição da colinesterase, neste grupo, não se observou alterações anormais das dosagens dessa enzima (Tabela 5).

Um dos principais indicadores laboratoriais de intoxicação por organofosforados e carbamatos é a enzima colinesterase, a qual se apresentou, neste estudo, dentro dos padrões de normalidade (\bar{x} 10.486±2.436) (Tabela 5). Contudo, devido à apresentação de queixas sintomáticas pelos agentes, associada aos longos períodos de exposição a pesticidas, vê-se que, a interpretação desse parâmetro deva ser reavaliada, pois, o tratamento do indivíduo que apresenta quadro clínico de intoxicação não deve aguardar os resultados de exames laboratoriais, os quais são sujeitos a variações. Portanto, resultados, isolados tornam-se complexos quando da ausência da anamnese do paciente, em que resultados, dentro dos valores de referência, podem, ainda, serem representantes de uma supressão, clinicamente significativa desta enzima no organismo (SOLOMON, 2000).

Tabela 5. Resultados das dosagens da enzima acetilcolinesterase dos agentes de combate a endemias do município de Aparecida de Goiânia, GO.

DOSAGEM DE ACETILCOLINESTERASE				
Parâmetro	Média ± Dp (Mín. – Máx.)	Valor de referência*	Unidade	Metodologia
Colinesterase	10.486 ± 2.436 (4217 – 15.633)	4.620 – 11.500	U/L	Colorimétrico, cinético Sem-automação: BTS310

*Valores de referência segundo indicado nas bulas dos kits utilizados para respectivas dosagens.
Legenda: ±Dp = Desvio padrão, Mín.= valor mínimo encontrado, Máx. = valor máximo encontrado.

5.6. Resultados da frequência de micronúcleos nos grupos exposto e controle

As Figuras 10 e 11 ilustram diversas células binucleadas observadas no sangue periférico dos agentes de combate a endemias.

Figura 10. Célula binucleada com a presença de 2 micronúcleos (A) e célula binucleada normal (B). (coloração Panótico).

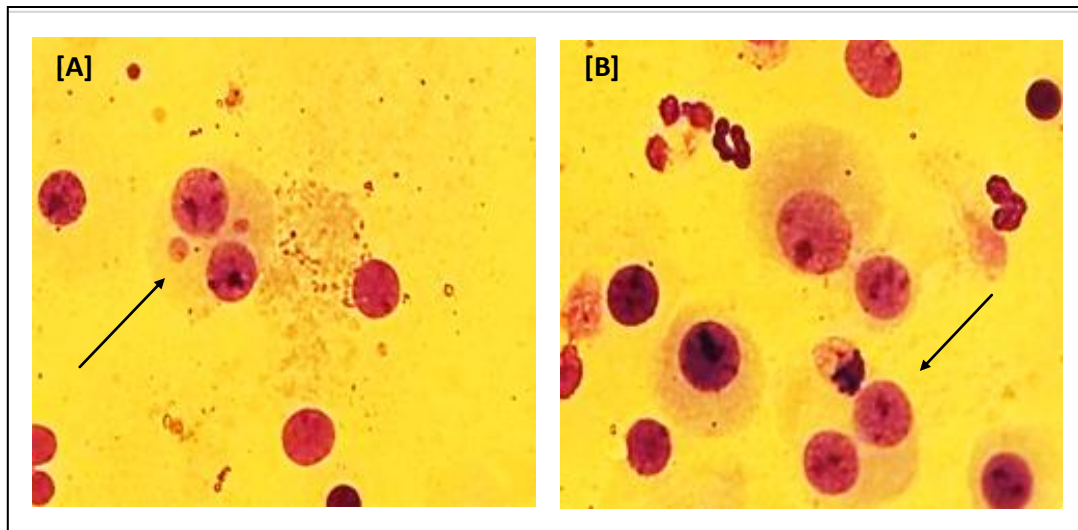
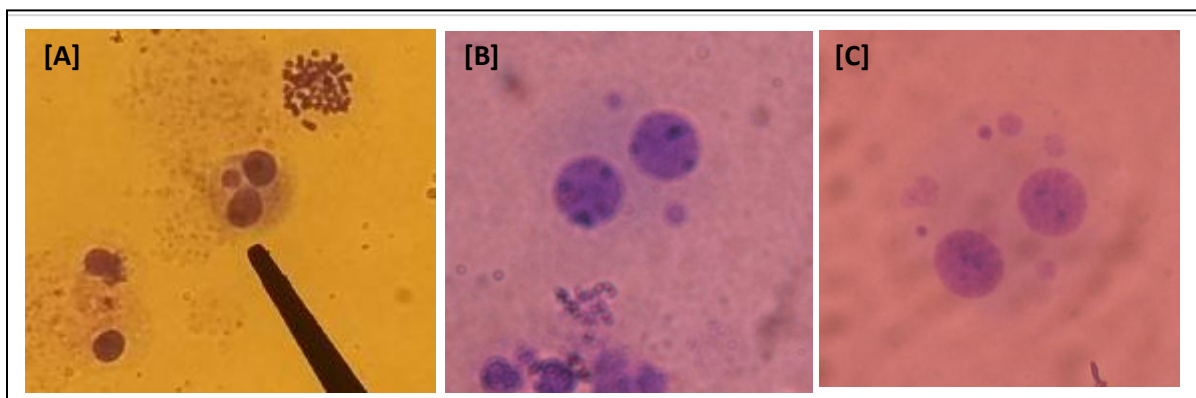


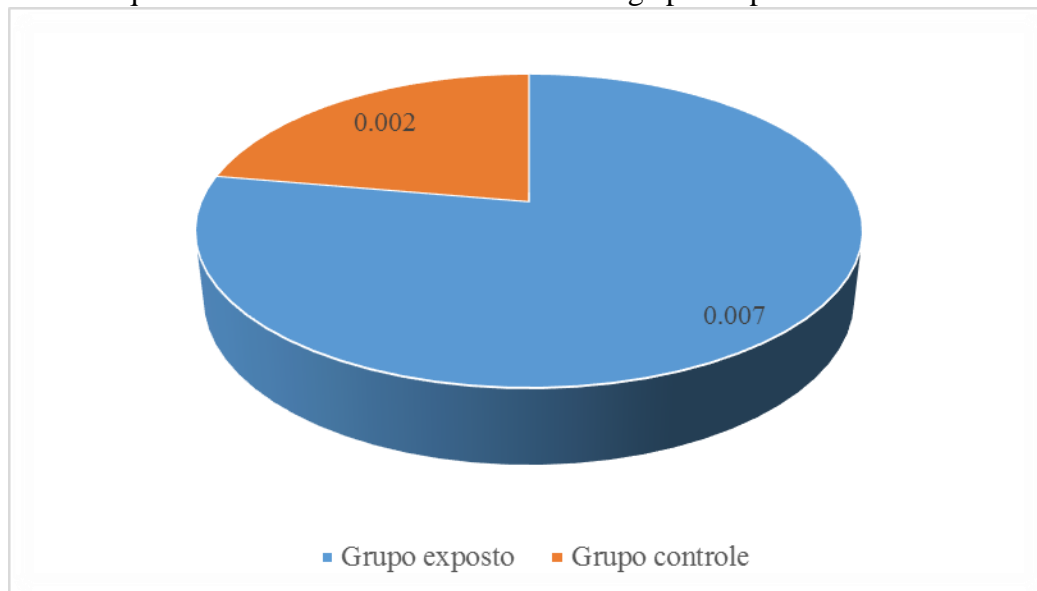
Figura 11. Células binucleada com a presença de 1 micronúcleo (A) , célula binucleada com 2 micronúcleos (B) e célula binucleada com vários micronúcleos (C). (coloração Panótico).



Após as análises de 78.000 células binucleadas, 39.000 por grupo (exposto e controle), foram encontradas as frequências de 0,007 células micronucleadas nos agentes de combate a endemias e de 0,002, nos indivíduos do grupo controle, demonstrando um aumento de 3,5 vezes de células micronucleadas no grupo exposto,

ao se comparar com o grupo controle. Dessa forma, há uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($G=89.97$; $p<0,0001$), conforme demonstrado na Figura 12.

Figura 12. Frequência de células micronucleadas nos grupos exposto e controle

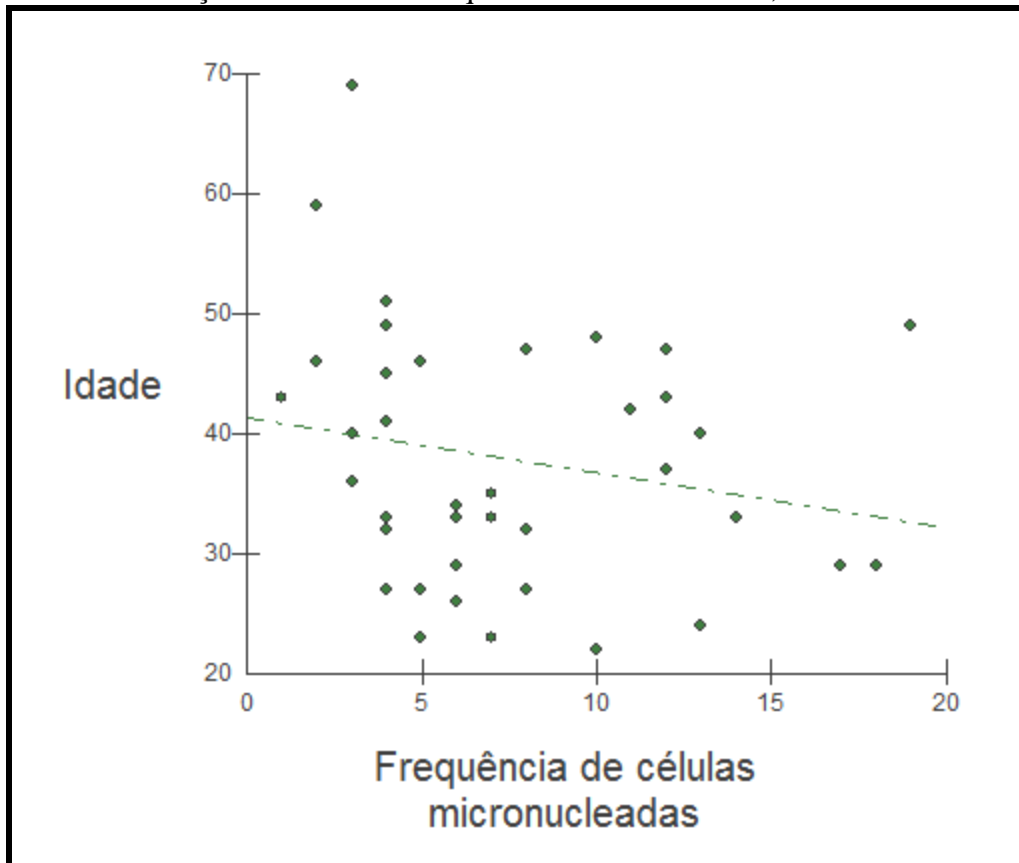


Ao associar a idade, com a frequência de células micronucleadas, não houve uma diferença estatisticamente significativa, ou seja, indivíduos mais velhos, não apresentaram um incremento na frequência de micronúcleos ($F=1,5$; $p= 0,22$) conforme apresentado na Figura 13.

Ao associar os hábitos de vida, dos agentes de combate a endemias, tais como tabagismo e o consumo de álcool, em ml, com a frequência de micronúcleos, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($F=2,0$ e $p= 0,16$; $F=0,84$ e $p=0,6$). Ao associar o uso de EPI's, com a frequência de células micronucleadas, não houve uma diferença estatisticamente significativa, entre os agentes que usavam ou não tais equipamentos ($p > 0,05$).

Nos estudos realizados por Reis et al. (2002), o número de micronúcleos encontrados em indivíduos expostos a agentes mutagênicos, tais como os pesticidas, foi maior do que o observado em células dos indivíduos do grupo controle. Este resultado também foi observado no presente estudo e a análise dos dados demonstrou resultados estatisticamente significativos.

Figura 13. Associação entre idade e frequência de micronúcleos, nos ACEs.



Em outras pesquisas, com trabalhadores rurais da região de Passo Fundo, Rio grande do sul, foi demonstrado que os pacientes que são expostos a pesticidas apresentam uma frequência maior de micronúcleo que o grupo controle. Naquele estudo foram analisados 50 trabalhadores rurais e 30 indivíduos da comunidade que não eram ocupacionalmente expostos. Os resultados apresentados por aquele grupo corroboram com os achados no presente estudo (PACHECO; HACKEL, 2002).

Em outros trabalhos que realizaram técnicas para observar o dano genômico em indivíduos ocupacionalmente expostos a pesticidas, como por exemplo, o ensaio cometa, ou até mesmo os MN, não foi observada uma relação entre o uso de EPIs e dano genômico aumentado (OLIVEIRA, 2014; PACHECO; HACKEL, 2002).

Esse aumento da quantidade MN pode-se relacionar aos efeitos no mecanismo de reparo do DNA, ou ao elevado nível do estresse oxidativo, como consequência do acúmulo de radicais livres, formados durante o metabolismo de xenobióticos, levando a um maior grau de genotoxicidade. O teste do MN indica perda e/ou quebra cromossômica e é um dos mais utilizados no biomonitoramento do efeito mutagênico ocasionado por vários agentes ambientais (FENECH, 2002).

Segundo Fenech (2002), algumas variáveis como idade e sexo influenciam a ocorrência de MN, mas esta variável não apresentou um resultado significativo no presente estudo, o que poderia ser explicado pelo pequeno número amostral. Vários trabalhos analisam um número maior de células por indivíduo (BURIN et al., 2004; WODJA et al., 2006) do que o utilizado neste trabalho (1000 células/indivíduo), o que poderia sugerir a falta de diferenças significativas entre as variáveis. Entretanto, alguns trabalhos que também utilizaram 1000 células/indivíduo conseguiram encontrar diferenças entre os grupos analisados (MAFFEI et al., 2002; LIEBER, 1998) e outros que também utilizaram a mesma quantidade de célula não encontraram diferença significativa para essas variáveis (PACHECO; HACKEL, 2002).

Marcadores biológicos podem refletir a exposição a agentes carcinogênicos e sua interação a macromoléculas, como o DNA. As alterações do DNA por substâncias químicas são reconhecidamente um primeiro passo na iniciação de processos carcinogênicos, deve-se dar maior ênfase aos métodos que detectem a atividade genotóxica em humanos (JAGETIA GC et al., 2001).

Os pesticidas são agentes potencialmente genotóxicos e mutagênicos e seu uso indiscriminado pode estar relacionado ao dano genômico. Vários trabalhos correlacionam o uso de pesticidas com o dano genômico, medido por outras técnicas como quebra cromossômica (JOVICIC et. al, 2013; GARAJ-VRHOVAC, 2002), ensaio cometa (OLIVEIRA, 2014).

As alterações nucleares induzidas por agentes genotóxicos são considerados como potenciais marcadores do processo de iniciação da transformação maligna (TOLBERT PE, SHY CM, ALLEN JW, et al., 1992). A avaliação dessas alterações genômicas é importante para o conhecimento do mecanismo de ação desses agentes e da sensibilidade celular, buscando avaliar os impactos ambientais, genéticos e do estilo de vida sobre a estabilidade genômica da população humana. Para tanto, o teste do micronúcleo apresenta grande importância e vantagens sobre demais testes por ser um

teste relativamente fácil de realizar, fornecendo resultados com forte suporte estatístico (FENECH et al., 1999).

6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos nesta pesquisa pode-se concluir que:

- O monitoramento da saúde dos agentes sanitários que combatem a dengue deve ser constante e intensificado, sendo realizado frequentemente o teste de colinesterase, uma vez que o contato com inseticidas, seja a curto, médio ou longo prazo, é um fator que causa alterações e danos ao DNA e intoxicação crônica.
- Que a exposição ocupacional aos pesticidas está relacionada a uma frequência aumentada de micronúcleo quando comparado a um grupo controle que não é exposto.
- O estilo de vida, idade e sexo dos agentes sanitários não influenciou nos resultados obtidos junto à frequência de micronúcleos, mas isso pode ter ocorrido pelo número amostral da pesquisa.
- Faz-se necessário discutir e promover entre os agentes um maior entendimento sobre a importância do uso dos EPI's de forma completa e sistematizada.
- O uso dos pesticidas para o combate de insetos vetores de endemias deve ser racionalizado, ou seja: não se deve ter estes agentes como primeira alternativa de controle. Nesse sentido, deve-se investir em ações de profilaxia nas quais a população esteja envolvida em ações combativas cotidianas.
- Devem-se ampliar os estudos sobre os efeitos do uso dos pesticidas sobre a saúde humana, animal e do meio ambiente.

7. REFERÊNCIAS

ABRASCO (Rio de Janeiro) (Org.). **Um alerta sobre os impactos dos Agrotóxicos na Saúde Parte 1: Agrotóxicos, Segurança Alimentar e Saúde.** 2012. Disponível em: <<http://www.abrasco.org.br/UserFiles/File/ABRASCODIVULGA/2012/DossieAGT.pdf>>. Acesso em: 06 fev. 2015

AGOSTINI, Janete Maristela S. O teste de Micronúcleo: seu uso no homem. **Biotemas**, São Paulo, v. 6, n. 2, p.1-19, jan. 1993.

ÁZARA, Tatiana Mingote Ferreira de. **Captura de culicídeos com ênfase em Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) e Aedes albopictus (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) em área urbana de Manaus (AM).** 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

BAHIA, Camila Alves; GUIMARÃES, Raphael Mendonça; ASMUS, Carmen Ildes Rodrigues Fróes. Alterações nos marcadores hepáticos decorrentes da exposição ambiental a organoclorados no Brasil. **Caderno de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 2, p.133-141, abr. 2014.

BARRETO, Maurício L.; TEIXEIRA, Maria Glória. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. **Estudos Avançados**, Bahia, v. 22, n. 64, p.53-72, out. 2008.

BOLOGNESI, Claudia et al. Micronuclei and pesticide exposure. **Mutagenesis**, Oxford, v. 26, n. 1, p.19-26, jan. 2010.

BORGES, Rosana Alves et al. MECANISMOS DA AÇÃO LARVICIDA DO DIFLUBENZURON SOBRE Aedes aegypti EVIDENCIADOS PELAS ALTERAÇÕES ULTR AESTRUTURAIS. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 2, p.222-232, maio 2012.

BRAGA, Ima Aparecida; VALLE, Denise. Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia Serviço Saúde**, Brasília, v. 16, n. 4, p.279-293, dez. 2007.

BURTIS CA, ASHWOOD ER, TIETZ. Textbook of clinical Chemistry, 2. Ed, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994, p 788-96.

CARDOSO, Pedro; ALMEIDA, Paulo G. ENVENENAMENTO POR ARANHAS EM PORTUGAL Verdade ou Mito? **Acta Med Port**, Açores, v. 23, n. 1, p.33-38, jun. 2009.

CARVALHO, W. A. Fatores de riscos relacionados com exposição ocupacional e ambiental a inseticidas organoclorados no Estado da Bahia, Brasil, Boletim de La Oficina Sanitária Panamericana, v.111, n.6, p. 512-24, 1991.

CAVALIERE, Maria J. et al. Miotoxicidade por organofosforados. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 30, n. 3, p.267-272, fev. 1996.

CUNHA, J.P.A.R.; TEIXEIRA, M.M.; VIEIRA, R.F. Avaliação de pontas de pulverização hidráulicas na aplicação de fungicida em feijoeiro. *Ciência Rural*. Vol. 35, n5, santa Maria, Set./Out., p. 1069-1074, 2005.

DALTO, André Gustavo Cabrera et al. Intoxicação por organofosforados em bezerros no Uruguai. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 39, n. 3, p.1-5, abr. 2011.

DIAS, Larissa B. A. et al. Dengue: transmissão, aspectos clínicos, diagnóstico e tratamento. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 43, n. 2, p.143-152, jan. 2010.

ERASO, Yolanda. Migrating techniques, multiplying diagnoses: the contribution of Argentina and Brazil to early'detection policy'in cervical cancer. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, 2010.v. 17, p. 33-51.

FENECH, M. et al. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. **Mutation Research**, USA, v. 534, n. 1, p.65-75, set. 2002.

FIGUEIREDO, Ana Catarina Pereira. **Piretróides: Uma nova geração de insecticidas**. 2014. 33 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de Lusófona, Lusófona, 2014.

FIGUEIREDO, Flávia Rodrigues Gomes. **Ensaio mutagênicos em decocto de *Cochlospermum regium* (Mart. et. Schr.) Pilger (Bixaceae) em *Poecilia reticulata* e linfócitos humanos** FLÁVIA. 2012. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciências Ambientais, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2012.

FOGAÇA, V. R. J. Fórmula Estrutural do DDT. Disponível em: <<http://www.alunosonline.com.br/quimica/o-inseticida-ddt.html>>. Acesso em: 10 jan. 2015.

GUINATI, Bárbara Guerra de Souza; GONÇALVES, Matheus Xavier; REED, Elaine. INSETICIDAS DOMÉSTICOS – COMPOSIÇÃO QUÍMICA, RISCOS E PRECAUÇÕES NA SUA MANIPULAÇÃO. **Estudos**, Goiânia, v. 41, n. 1, p.86-94, mar. 2014.

HADLE, Andrew M.; MYERS, Andrew G. An enantioselective, modular, and general route to the cytochalasins: Synthesis of L-696,474 and cytochalasin B. **PNAs**, Cambridge, v. 101, n. 33, p.12048-12053, ago. 2004.

KLEZ, Claudio; ASSIS, Helena Cristina da Silva de. EFEITOS DO ENDOSULFANO NA ATIVIDADE DA ACETILCOLINESTERASE DE CASCUDO (*Ancistrus multispinnis*, FISH, TELEOSTEI). **Revista Acadêmica de Curitiba**, Curitiba, v. 3, n. 4, p.51-58, dez. 2005.

LUCHESE, Geraldo. **Globalização e regulação sanitária: os rumos da vigilância sanitária no Brasil**. Editora Anvisa, 2008.

MALUF, Sharbel Weidner; RIEGEL, Mariluce. **Citogenética humana**. São Paulo: Artmed, 2011. 334 p.

MARQUES, Edmundo Kanan; RIBEIRO, Lucia Regina; SALVADORI, Daisy Maria Fávero. **Multagênese Ambiental**. Canoas: Ulbra, 2000.

NITERÓI. CENTRO DE CONTROLE DE INTOXICAÇÕES DE NITERÓI - RJ. (Org.). **INTOXICAÇÕES EXÓGENAS AGUDAS POR CARBAMATOS, ORGANOFOSFORADOS, COMPOSTOS BIPYRIDÍLICOS E PIRETRÓIDES.** Niterói - Rj: Centro de Controle de Intoxicação, 2000.

OGA, S; **Fundamentos de toxicologia**, 4ª ed., Editora Atheneu, São Paulo, 2014.

OLIVEIRA, Macxuell Rosa dos Reis. **AVALIAÇÃO DE DANOS GENÔMICOS DE AGENTES DE SAÚDE DE CONTROLE DE ENDEMIAS (DENGUE) DO MUNICÍPIO DE APARECIDA DE GOIÂNIA (GO).** 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2014.

PACHECO, Adil de Oliveira; HACKEL, Christine Instabilidade cromossômica induzida por agroquímicos em trabalhadores rurais na região de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 6, p.1675-1683, dez. 2002.

REIS, S. R.A. et al. Avaliação da presença de micronúcleos em células esfoliadas da língua de indivíduos dependentes químicos de etanol através dos métodos de Feulgen e Papanicolau. **Revista Odonto Ciência**, v.19, n. 46, p. 367-371, 2004.

RIBAS, Priscila Pauly; MATSUMURA, Aida Terezinha Santos. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 10, n. 14, p.149-158, dez. 2009.

RIBEIRO, Amanda Cavalari Cotrim; MELLA, Eliane Aparecida Campesatto. **INTOXICAÇÃO OCUPACIONAL POR ORGANOFOSFORADOS – A IMPORTÂNCIA DA DOSAGEM DE COLINESTERASE.** **Iniciação Científica**, Maringá, v. 09, n. 2, p.125-134, dez. 2007.

RIVERO, Rodolfo et al. Intoxicação por organoclorados (endossulfân) em bovinos no Uruguai. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Montevideo, v. 31, n. 4, p.277-280, set. 2011.

SANTOS, Mônica Alessandra Teixeira dos; AREAS, Miguel Arcanjo; REYES, Felix Guillermo Reyes. PIRETRÓIDES – UMA VISÃO GERAL. **Alimento Nutritivo**, Araraquara, v. 18, n. 3, p.339-349, set. 2007.

SAÚDE, Secretaria de Vigilância e (Org.). **Municípios infestados por Aedes aegypti - BRASIL**. 2006. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>>. Acesso em: 26 nov. 2014.

SHERWOOD, Lauralee. **Fisiologia Humana - das Células aos Sistemas**. 7. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2011.

Stenersen, J. 2004. Chemical Pesticides: Mode of Action and Toxicology. CRC Press LLC, Boca Raton, FL

TAUIL, Pedro Luiz. Urbanização e ecologia do dengue. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 1, p.99-102, jan. 2001.

8. APÊNDICES 1.

ANEXO 1 – QUESTIONÁRIO DE ESTILO DE VIDA

QUESTIONÁRIO

8. APÊNDICES 2.

TCLE – TERMO DE CONSETIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS BIOLÓGICOS E AMBIENTAIS DA EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS POR AGENTES DE SAÚDE DE CONTROLE DE ENDEMIAS DE GOIÂNIA

PESQUISADORES RESPONSÁVEIS PELO PROJETO:

Doutoranda (pesquisadora responsável): Fernanda Franco, M.Sc.

Orientadora: *Profa. Daniela Melo e Silva, Dra.*

Telefones: 99459591 (Daniela) ou 3946-1385 (REPLICON)

Email: silvadanielamelo@gmail.com

O uso de pesticidas no controle de vetores e pragas urbanas é necessário ao combate de doenças e redução a mortalidade, diante do crescente cenário de urbanização. Contudo, esta atividade preventiva exige a mobilização de profissionais dos mais diversos âmbitos neste combate, bem como, devido aos riscos inclusos, cuidados e a boa capacitação destes trabalhadores, com intuito de evitar intoxicações e possíveis acidentes ao indivíduo e/ou ao ambiente.

O objetivo principal deste estudo é científico e se baseia em identificar possíveis efeitos do contato direto ou indireto que possa contribuir para o entendimento sobre a constatação de intoxicação dos agentes de combate a endemias (ACE) diante da exposição ocupacional a pesticidas, no município de Aparecida de Goiânia - Goiás. Em que os resultados desse estudo poderão contribuir para desenvolvimento de políticas de prevenção e assegurar um ambiente seguro e saudável de trabalho.

Prezado (a) senhor (a),

Por este documento, você está sendo convidado (a) a participar desse estudo. E, também, informado (a) e esclarecido (a) sobre como se dará seu envolvimento para que, então, possa decidir sobre sua participação.

A participação é voluntária e gratuita, e implica, basicamente, em:

- aplicação de questionário de estilo de vida;
- coleta sanguínea.

O *questionário de estilo de vida* irá abordar, individualmente, perguntas sobre fatores da sua vida que possam estar correlacionados ao uso de pesticidas e/ou que possam colaborar no entendimento dos resultados obtidos no seu exame laboratorial. A aplicação deste será acompanhada pela equipe de pesquisa, a qual auxiliará em sua compreensão. Contudo, se durante a aplicação, o participante sentir qualquer desconforto, lhe é garantida total liberdade para interromper parcial ou totalmente o preenchimento do mesmo, sem obrigações em justificar essa decisão.

Sua entrevista – contendo dados que permitam sua identificação, informações pessoais e de trabalho - não serão conduzidas (sem sua autorização), a indivíduos não integrantes da equipe de pesquisa. Suas informações, relatos e opiniões ficarão em segredo. O uso dessas respostas será realizado diante de análise e enquadramento estatístico e/ou com conversão dos seus dados identificatórios em códigos (que impeçam sua identificação). A partir de então, os resultados obtidos poderão ser apresentados e publicados, desde que respeitada a garantia de sigilo que lhe foi dada.

A *coleta de sangue* será realizada para obtenção do seu perfil bioquímico e hematológico (baseados nas Diretrizes para Atenção Integral à Saúde do Trabalhador de

Complexidade Diferenciada, do Ministério da Saúde, agosto de 2006. Será realizada a coleta endovenosa de 20mL de sangue.

Nenhuma pesquisa com seres humanos é livre de riscos. Contudo, os procedimentos envolvidos no presente estudo oferecem riscos mínimos aos participantes, sendo eles: possibilidade de aparecimento de hematoma pós-coleta e formação de edema. Mas, caso ocorra qualquer intercorrência devido à coleta de sangue, os pacientes serão encaminhados ao Serviço de Atendimento Médico (SAS/SESMT) da UFG.

Solicita-se para obtenção de resultados clinicamente fidedignos que o participante se apresente: em jejum alimentar (de 10 a 13 horas, não excedendo 14 horas de jejum) e que informe o uso de medicamentos ou a presença de alguma doença.

As entrevistas e análises laboratoriais ficarão sob guarda da pesquisadora responsável por 5 (cinco) anos, e não será permitido acesso de terceiros (além da equipe de pesquisa) a ele.

Ressalta-se que todos os dados que permitam sua identificação pessoal serão mantidos em sigilo profissional e científico. Sendo-lhe garantido que todos os resultados aqui obtidos serão utilizados somente para estudo científico e não irão prejudicar em algum tratamento que o participante já esteja submetido (a), nem tão pouco na sua condição profissional.

Sua participação no estudo não sujeita a equipe de pesquisa a te fornecer tratamento a qualquer enfermidade que possa vir a ser identificada.

Com relação à indenização, diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, você poderá buscar a justiça e o que for decidido judicialmente será acatado pelo pesquisador.

Mesmo após a assinatura deste termo, você tem total liberdade de desistir ou de interromper sua colaboração nesse estudo, no momento em que desejar (até dada a publicação), sem precisar se justificar. Em que a desistência do participante não trará prejuízo algum ao seu trabalho nem a seu bem-estar.

Os resultados dos exames bioquímicos e hematológicos, obtidos nesse trabalho, estarão liberados 30 dias após a realização da coleta, e poderão compor seu dossiê pessoal, caso assim você consinta:

Desejo que os resultados dos meus exames sejam encaminhados a Central de UBV;

Não desejo que os resultados dos meus exames sejam encaminhados a Central de UBV;

Sua colaboração será de extrema importância para o êxito desta pesquisa, pela qual, agradecemos de antemão.

Declaro verdadeiras as informações supra citadas,

Fernanda Franco
Doutoranda
Pesquisadora responsável

Assinatura do participante

.....
CARTA DE ANUÊNCIA DO PARTICIPANTE

Código de
Identificação:

Eu,

residente no endereço: _____

_____,
RG _____, agente do combate de endemias, declaro ter recebido e compreendido todas as informações sobre o estudo *AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS BIOLÓGICOS E AMBIENTAIS DA EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS POR AGENTES DE SAÚDE DE CONTROLE DE ENDEMIAS DE GOIÂNIA*. E, por esta, concordo de livre e espontânea vontade em participar do estudo —. Declaro que foram dadas todas as informações necessárias e que foram esclarecidas todas as dúvidas por mim apresentadas.

Assinatura do participante

ANEXO 1

Protocolo de obtenção de célula binucleada

- 1 Incubar 0,5-1,0mL de sangue total heparinizado por 44h em meio RPMI com 100 μ L de phyto-hemaglutinina a 37C°;
- 2 Após 44h de incubação acrescentar 60 μ L de citocalasina B e deixar incubar a 37C° por mais 28h (deixar completar 72h);
- 3 Transferir a cultura para um tubo falcon de 15mL e centrifugar a 1000RPM por 10min;
- 4 Desprezar o sobrenadante e adicionar, como o vortex, KCl a 0,075M até completar 11mL e incubar por 35min a 37C°;
- 5 Adicionar a solução Carnoy gelada até completar 14mL e aguardar 10 min em temperatura ambiente;
- 6 Após os 10 min, centrifugar por 10 min a 1000RPM, descartar o sobrenadante, e com a ajuda do vortex adicionar 10mL de solução Carnoy e centrifugar outra vez;
- 7 Repita o passo 6 até a cultura ficar límpida (no mínimo 3 vezes);
- 8 Prepare as lâminas por gotejamento com banho maria a 60C°;