

ELIA TIE KOTAKA

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DE TRABALHADORES
A AGROTÓXICOS: contribuições para a realização da
dosimetria passiva pelo método do corpo total e
monitoramento biológico**

Campinas

2005

ELIA TIE KOTAKA

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DE TRABALHADORES
A AGROTÓXICOS: contribuições para a realização da
dosimetria passiva pelo método do corpo total e
monitoramento biológico**

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-
Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de Doutor
em Saúde Coletiva.*

Orientador : Prof. Dr. Flávio Ailton Duque Zambrone

Campinas

2005

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

K848a Kotaka, Elia Tie
Avaliação da exposição de trabalhadores a agrotóxicos:
contribuições para a realização da dosimetria passiva pelo
método do corpo total e monitoramento biológico / Elia Tie
Kotaka. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

Orientador : Flávio Ailton Duque Zambrone
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
Médicas.

1. Biomarcador. 2. Exposição ocupacional. I. Flávio Ailton Duque Zambrone.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
Médicas. III. Título.

ELIA TIE KOTAKA

**Avaliação da exposição de trabalhadores a agrotóxicos:
contribuições para a realização da dosimetria passiva pelo
método do corpo total e monitoramento biológico.**

Prof. Dr. Flávio Duque Zambrone – orientador

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dra. Cristiana Leslie Corrêa

Prof. Dr. Joaquim Gonçalves Machado Neto

Prof. Dr. Ronan José Vieira

Prof. Dr. Satoshi Kitamura

Dedicado a

*Masae Kotaka – mamãe,
Heloisa Curotto – minha primeira professora e
Jusuke Kotaka (in memoriam) – papai*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Flávio Ailton Duque Zambrone, pela orientação na elaboração desta tese.

À equipe do Departamento de Medicina Preventiva e Social, pelo apoio e ensinamentos dispensados.

À minha família, por compreender e perdoar minhas ausências em seu convívio.

Aos meus amigos, que sempre justificaram e apoiaram meu desejo de buscar novos conhecimentos.

As pessoas são expostas a uma variedade de agentes potencialmente danosos no ar que respiram, nos líquidos que bebem, nos alimentos que comem, nas superfícies que tocam e nos produtos que usam. Um aspecto importante da proteção da saúde pública é a prevenção ou redução de exposições aos agentes que contribuem tanto direta como indiretamente ao aumento das taxas de morte prematura, doenças, desconforto ou incapacidade

(IPCS, 2000).

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	<i>xxxi</i>
ABSTRACT	<i>xxxv</i>
1-	39
INTRODUÇÃO	
1.1- Avaliação do risco toxicológico	42
1.2- Considerações éticas	44
1.3- Panorama atual	48
.....	
2- AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO	51
2.1- Dosimetria passiva	58
2.1.1- Exposição dérmica.....	58
2.1.1.1- Exposição das mãos.....	62
2.1.1.2- Exposição da face e pescoço.....	63
2.1.1.3- Exposição dos pés.....	64
2.1.2- Exposição inalatória.....	64
2.2- Monitoramento	64

biológico.....	
3- OBJETIVOS.....	75
3.1- Objetivo	77
geral.....	
3.2- Objetivos	77
específicos.....	

4-	MATERIAL	E	79
MÉTODOS			
4.1-	Protocolo	de	84
pesquisa			
4.2-	Localização	das	áreas
de			84
pesquisa			
4.3-	Seleção	dos	trabalhadores
(voluntários)			85
.....			
4.4-	Tamanho	da	86
amostra			
4.5-	Equipe	de	86
pesquisadores			
4.6-			86
Rotina			
4.7-	Avaliação	da	exposição
de			92
.....			
4.7.1-		Dosimetria	92
passiva			
4.7.2-		Monitoramento	94
biológico			
4.8-			94
Ensaio			
4.9-	Análise	de	resíduos
e			das
amostras			de
sangue			95

5-	RESULTADOS	E	97
DISCUSSÕES.....			
5.1-	Protocolo	de	100
pesquisa.....			
5.2-	Seleção	da	101
localidade.....			
5.3-	Seleção dos trabalhadores (voluntários)		102
.....			
5.4-	Tamanho	da	103
amostra.....			
5.5-	Equipe	de	103
pesquisadores.....			
5.6-			103
Rotina.....			

5.7-	Avaliação	da	104
exposição.....			
5.7.1-	Dosimetria	passiva	104
.....			
5.7.2-		Monitoramento	106
biológico.....			
5.8-	Realização	do	ensaio
campo.....			de 108
5.9-	Armazenamento	das	112
amostras.....			
5.10 -	Remessa	do	material 113
coletado.....			
5.11-	Consolidação	e	análise
dados.....			dos 113
6-			115
CONCLUSÕES.....			
7-		REFERÊNCIAS	119
BIBLIOGRÁFICAS.....			
8-			127
ANEXOS.....			
9-			135
GLOSSÁRIO.....			

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	<i>Acetylcholine</i> (acetilcolina)
AChE	<i>Acetylcholinesterase</i> (Acetilcolinesterase)
ADME	<i>Absortion, distribution, metabolism and excretion</i> (Absorção, distribuição, metabolismo e excreção)
BchE	<i>Butyrylcholinesterase</i> (Butirilcolinesterase)
BPL	Boas práticas de laboratório (<i>GLP = Good Laboratory Practice</i>)
B.p.m.	Batimentos por minuto
CEP	Comissão de Ética em Pesquisa
CENEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CIOMS	<i>Council for International Organizations of Medical Sciences</i>
cm	Centímetro
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões em Alimentos
CNS	Conselho Nacional de Saúde
EPA	Environmental Protection Agency (Agência de Proteção Ambiental)
EU	European Union (União Européia)
FS	Fator de segurança
i.a.	Ingrediente ativo (a.i. = <i>Active ingredient</i>)

IPCS	<i>International Programme on Chemical Safety</i> (Programa internacional de segurança química)
JMPR	<i>Joint meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group</i> (Comitê Conjunto de Peritos FAO/OMS sobre resíduos de pesticidas)
kg	Quilograma
l/min	Litros por minuto
l/ m ³	Litros por metro cúbico
m	Metro
mg	Miligramma
mg/ m ³	Miligramas por metro cúbico
mm Hg	Milímetros de mercúrio
µg	Micrograma
NAS	<i>National Academy of Sciences</i> (Academia Nacional de Ciências)
NIOSH	<i>National Institute for Occupational Safety and Health</i> (Instituto Nacional para Segurança e Saúde Ocupacional)
OMS	Organização Mundial da Saúde (<i>WHO = World Health Organization</i>)
OECD	<i>Organization for Economic Cooperation and Development</i> (Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento)
P.A.	Pressão arterial
POP	Procedimento operacional padrão (<i>SOP = standard operating procedure</i>)

QAU	<i>Quality Assurance Unit</i> (USQ = Unidade de segurança de qualidade)
RE	Resolução
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SUS	Sistema Único de Saúde
WHO	<i>World Health Organization</i> (OMS = Organização Mundial da Saúde)

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1- Localização dos absorventes para medir a exposição dérmica, em áreas que representam as principais regiões do corpo, na metodologia do uso de absorventes, segundo a EPA, 1996.....	60
Tabela 2- Vantagens e limitações dos métodos para estimar a exposição dérmica, segundo a OECD, 1997.....	65

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1- Posição dos absorventes colocados na dosimetria passiva pelo método do uso de absorventes.....	66
Figura 2- Código das regiões do corpo para identificação das amostras de roupa e do lavado da face e pescoço, no método do corpo total...	67
Figura 3- Uso de corantes ou traçadores fluorescentes mostrando possíveis pontos de acúmulo de resíduos.....	68
Figura 4- Cultura de tomate rasteiro.....	81
Figura 5- Aplicação de agrotóxico com sistema mecanizado.....	82
Figura 6- Aplicação de agrotóxico com sistema mecanizado.....	82
Figura 7- Cronograma de desenvolvimento dos ensaios nos estados de São Paulo e Minas Gerais.....	87
Figura 8- Trabalhador auxiliado por membro da equipe na colocação do filtro de ar.....	88
Figura 9- Trabalhador com a roupa protetora, o visor facial e a bomba de amostragem de ar com filtro.....	89
Figura 10- Trabalhador com a roupa protetora, o visor facial e a bomba de amostragem de ar.....	90

Figura 11-	Roupas	testemunhas.	91
Figura 12-	Testemunhas: roupas e bomba de amostragem de ar acoplada ao filtro.		91
Figura 13-	Cronograma dos ensaios realizados nos municípios de Guararapes e Rubiácea, estado de São Paulo, em julho de 2003...		109
Figura 14-	Cronograma dos ensaios realizados nos municípios de Patos de Minas, Presidente Olegário e Varjão de Minas, estado de Minas Gerais, em agosto de 2003.		110

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	129
ANEXO B Ficha médica.....	133

RESUMO

A avaliação da exposição constitui etapa cujo conhecimento é indispensável para a realização da avaliação do risco toxicológico. Ela consiste na quantificação ou estimativa do contato de agentes químicos com as barreiras externas do organismo. Para o conhecimento da exposição necessita-se de instrumentos adequados, baseados em metodologia validada. A dosimetria passiva permite a quantificação das substâncias químicas em contato com a pele e vias aéreas superiores, sendo utilizada na avaliação da exposição dérmica e inalatória. Entre os métodos existentes para a realização da dosimetria passiva, para avaliar a exposição dérmica, aquela que abrange o corpo todo – método do corpo total – apresenta vantagens em relação a outras metodologias. A aplicação do agrotóxico Metamidofós, na cultura de tomate rasteiro, foi acompanhada em ensaio de campo realizados nos estados de São Paulo e Minas Gerais. A dosimetria passiva pelo método do corpo total foi realizada, concomitantemente com a avaliação da exposição inalatória com o uso de filtros especiais acoplados a bombas de amostragem de ar e o monitoramento biológico. As observações durante o ensaio de campo mostraram que a avaliação da exposição pode ser realizada no Brasil. A implementação de diretrizes para a realização da dosimetria passiva pelo método do corpo total e o monitoramento biológico poderá encontrar nesta pesquisa os subsídios necessários.

ABSTRACT

Exposure assessment is the step which knowledge is essential for the risk assessment. Exposure assessment is the estimate or quantification of the contact of chemical agents with the outer part of the organism. To the knowledge of exposure one needs appropriate instruments based on validated methodology. Passive dosimetry allows the quantification of chemicals in contact with skin and respiratory upper tract, and is used for the assessment of dermal and inhalation exposure. Among the methods for the realization of passive dosimetry for dermal exposure assessment, the method that comprehends the whole body – whole body method – presents advantages in relation to other methodologies. The application of the pesticide Methamidophos, in bush culture of tomatoes, was accompanied in the States of São Paulo and Minas Gerais. In this study it was made concurrently, the passive dosimetry by the whole body method, inhalation exposure with the use of special filter bind to personal air sample pump and biological monitoring, during a field assay. The observations during the assay showed that it is possible to evaluate workers exposure in Brazil. The implementations of guidelines for the exposure assessment for passive dosimetry by the whole body method and biological monitoring may find in this reseach the necessary inputs.

1- INTRODUÇÃO

O Programa Internacional de Segurança Química (IPCS), da Organização Mundial da Saúde (OMS), refere que as substâncias químicas tornaram-se parte indispensável da vida humana, passando a sustentar as atividades, o desenvolvimento e o aumento da produtividade na agricultura. Essas substâncias também incrementaram as medidas de prevenção e controle de doenças nas plantas e nos seres humanos (IPCS, 1999).

Os agrotóxicos, pesticidas ou defensivos agrícolas são substâncias químicas empregadas para o controle de diferentes formas de vida, tanto da fauna como da flora, consideradas pragas. O caminho que eles percorrerão, após o registro, pode apresentar rastros de benefícios e riquezas pelo aumento da produtividade, melhor qualidade e maior quantidade de alimentos produzidos ou pelo controle de vetores de doenças. Esse caminho, no entanto, pode apresentar também a ocorrência de efeitos biológicos indesejáveis e danos ambientais difíceis de serem reparados, trazendo malefícios e sofrimentos aos seres humanos e organismos não-alvo, se empregado em contexto de gerenciamento inadequado. Isto é motivo de preocupações, sobretudo quanto ao eventual risco à saúde e ao meio ambiente.

As atividades burocráticas, integrantes da rotina dos órgãos responsáveis pelo registro de produtos agrotóxicos, merecem análise e considerações para que sejam oportunas, realistas e profícuas, objetivando a proteção da saúde do trabalhador e do meio ambiente, sem constituir óbice ao desenvolvimento tecnológico ou à produção agrícola. Isto pode ser realizado com a avaliação do risco, que o Decreto nº 4.074, de 4/1/2002, em seu capítulo IX Art. 95 inciso III refere pela primeira vez no Brasil, como sendo necessário ser implementado.

“A avaliação da exposição dos trabalhadores aos agrotóxicos constitui parte integral da avaliação do risco toxicológico [...]” (OECD, 1997) e tem sido realizada ultimamente com maior frequência nos países mais desenvolvidos, sobretudo Estados Unidos da América e países integrantes da União Européia (U.E.), que dispõem de diretrizes orientando sua realização.

A avaliação da exposição pode ser realizada por estimativa utilizando-se modelos matemáticos, porém os resultados estarão mais próximos da realidade se estiverem baseados na coleta de dados e na quantificação dos resíduos encontrados.

Entre os métodos para a quantificação da exposição estão a dosimetria passiva pelo método do corpo total e o monitoramento biológico, alvos desta pesquisa.

1.1- Avaliação do risco toxicológico

A avaliação do risco toxicológico é definida como a probabilidade da ocorrência de um evento (RITTER, 1981; WILSON, 1984) *apud* COVELLO e MERKHOFFER (1993).

O Programa Internacional de Segurança Química – IPCS (1999) refere que a avaliação do risco toxicológico oferece mecanismos que permitem a revisão estruturada das informações existentes para a estimativa de fatos ambientais ou de saúde humana.

O Projeto Conjunto do IPCS e OECD de Harmonização da Terminologia sobre a Avaliação da Identificação do Perigo/Risco, ao definir a avaliação do risco, salienta os seguintes aspectos (IPCS/OECD, 2004):

- a) a avaliação do risco é um processo;
- b) o seu objetivo é calcular ou estimar o risco toxicológico a um agente;
- c) o alvo do risco poderia ser um organismo, sistema ou (sub)população, com características específicas;
- d) é preciso que haja ocorrência da exposição ao agente em questão, que apresenta características inerentes;

e) devem-se incluir no processo de avaliação as incertezas do avaliador.

A avaliação do risco toxicológico constitui instrumento fundamental para o balizamento do uso dos agrotóxicos, porque mostra os efeitos indesejados, a dose sem efeito, a margem de segurança e a probabilidade de exposição dos trabalhadores e da população em geral.

A avaliação dos riscos e dos benefícios, que o uso dos agrotóxicos representa, pode indicar a necessidade de se modificar a maneira como é utilizada determinada tecnologia, alterando seu enfoque para maior proteção à saúde dos trabalhadores, da população em geral e do meio ambiente, pelo gerenciamento e comunicação adequada de riscos.

A avaliação do risco toxicológico é apresentada pela *National Academy of Medicine*, dos Estados Unidos da América, (NAS, 1983, *apud* COVELLO e MERKHOFFER, 1993) e pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS), da Organização Mundial da Saúde, (IPCS, 1993; IPCS, 1999), como sendo constituída pelas seguintes etapas: identificação do perigo, avaliação dose-resposta, avaliação da exposição e caracterização do risco. A OECD (1997) descreve essas etapas considerando-as como componentes essenciais da avaliação do risco toxicológico: a avaliação detalhada da toxicidade; a mensuração ou a estimativa da exposição, a mensuração da quantidade de pesticida absorvido e a probabilidade do aparecimento de efeitos adversos aos trabalhadores.

Recentemente, ao invés de identificação do perigo, tem sido empregada a expressão “caracterização do perigo”, que pode ser definida como “a descrição qualitativa ou, quando possível, quantitativa das propriedades inerentes ao agente ou da situação que tem o potencial de causar efeitos adversos” (IPCS/OECD, 2004).

A identificação do perigo e a avaliação dose-resposta resultam de estudos realizados, geralmente, em laboratório com animais de experimentação. A

avaliação da exposição e a caracterização do risco dependem do conhecimento estimado ou mensurado do contato dos indivíduos às substâncias químicas.

Para CHESTER (1996), a fim de permitir ao avaliador a escolha de meios que auxiliem na avaliação do risco, refere os trabalhos de grupo realizados na Holanda e Canadá que propuseram a abordagem seriada (*tiered*) escalonada da seguinte maneira:

- Primeiro (*Tier 1*): são adotados os dados gerais sobre a exposição, que se encontram publicados. Esses dados devem ser considerados juntamente com os níveis sem efeitos adversos obtidos nos estudos toxicológicos crônicos por via oral, estudo dérmico sub-agudo, estudos de inalação e outros dados relevantes cujos *end-points* foram identificados, para verificar se as previsões de exposição indicam margens de segurança aceitáveis, não necessitando de investigações mais profundas;
- Segundo (*Tier 2*): existem dados mais abrangentes sobre a absorção dérmica, que permitem maior refinamento da estimativa da dose absorvida;
- Terceiro (*Tier 3*): os dados disponíveis sugerem margens de segurança inadequadas, considerando-se os dados genéricos de exposição e de absorção dérmica. Por isso, é indicada a realização de estudo de campo para medir a exposição ou a dose absorvida.

A avaliação do risco toxicológico, atualmente, passou a constituir parte da análise de risco ao lado do gerenciamento e da comunicação do risco. A análise do risco, portanto, abrange aspecto mais amplo envolvendo tanto a avaliação do risco como o controle de situações onde um organismo, sistema ou (sub)população podem ser expostos a um perigo (IPCS/OECD, 2004).

1.2- Considerações éticas

Toda pesquisa envolvendo seres humanos deve levar em conta a liberdade e a dignidade dos indivíduos que participarão da mesma. O IPCS (1993) refere que o uso de biomarcadores pode ter limitações, seja pela extensão do estudo como pelas implicações éticas e sociais.

A participação dos indivíduos pode ser influenciada por fatores sociais, culturais e étnicos, que podem variar geograficamente de acordo com hábitos, costumes e informações locais.

Por isso, a seleção dos indivíduos para a participação num estudo deve respeitar a dignidade, os direitos humanos e a liberdade de aceitar ou não colaborar com o estudo. A participação deve ser, sempre, voluntária. Além disso, na seleção dos métodos utilizados deve-se dar preferência aos que evitam a invasão do organismo, prevenindo eventuais riscos à saúde individual.

Necessário se faz, deste modo, que sejam definidos critérios cuidadosos para a seleção dos candidatos e que eles sejam informados antecipadamente sobre a pesquisa a ser realizada. A informação deve ser detalhada, para que os participantes fiquem cientes de todos os passos que deverão efetuar. Sua inclusão como voluntário estará condicionada à aceitação dos termos de participação na pesquisa e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A).

As informações aos participantes deverão abranger os seguintes aspectos:

- a) O objetivo da pesquisa;
- b) Qual o tipo de intervenção a que o participante será submetido: os questionamentos sobre dados pessoais e de saúde; os procedimentos para a coleta da amostra biológica; os eventuais sintomas ou sinais clínicos que podem ocorrer, durante ou após a coleta da amostra;
- c) Os eventuais riscos à sua saúde;

- d) A liberdade para deixar a pesquisa se assim o desejar, em qualquer momento;
- e) O nome do médico responsável pela pesquisa, a quem poderá recorrer quando julgar necessário.

No Brasil, a pesquisa envolvendo seres humanos está regulamentada, pelos dos seguintes documentos, do Conselho Nacional de Saúde-CNS, do Ministério da Saúde:

Resolução CNS nº 196, de 10/10/1996:

Incorpora sob a ótica do indivíduo e da coletividade, quatro referenciais básicos da bioética: autonomia, não-maleficência, beneficência e justiça, entre outros, e visa assegurar os direitos e deveres que dizem respeito à comunidade científica, aos sujeitos da pesquisa e ao Estado.

Vale ressaltar que essa Resolução estabelece, entre outros, os seguintes aspectos:

- Item III.1 – trata de eticidade na pesquisa, constando nas alíneas a) a d): a necessidade do consentimento livre e esclarecido; da ponderação entre riscos e benefícios; da garantia de que serão evitados danos previsíveis e da relevância social da pesquisa.
- Item IV trata do consentimento livre e esclarecido, especialmente a necessidade de informar os participantes sobre eventuais riscos, a justificativa da pesquisa, os objetivos e os procedimentos que serão utilizados. Esse termo deve ser entregue por escrito e lido para o participante, que deverá assiná-lo ou identificá-lo por impressão datiloscópica.

- Item VI estabelece normas sobre o protocolo de pesquisa e o tipo de formulário que deverá ser preenchido, para ser submetido à revisão ética. A revisão ética deverá ser feita por comitê especialmente estabelecido para tal: Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, credenciado junto a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, do Ministério da Saúde.

- Item IX estabelece recomendações sobre a operacionalização da pesquisa, sobretudo no que se refere às responsabilidades do pesquisador.

Resolução CNS nº 240, de 5/6/1997:

Define o termo “usuários” para efeito de participação nos Comitês de Ética em Pesquisa das instituições, conforme determina a Resolução CNS nº 196/96, item VII.4.

Resolução CNS nº 251, de 7/8/1997:

Aprova normas de pesquisa envolvendo seres humanos para a área temática com novos fármacos, vacinas e testes diagnósticos.

A regulamentação referida, do Conselho Nacional de Saúde, conforme consta do Preâmbulo da Resolução CNS nº 196/96, está fundamentada nos principais documentos internacionais que emanaram declarações e diretrizes sobre pesquisas que envolvem seres humanos: o Código de Nuremberg (1947), a Declaração dos Direitos do Homem (1948), a Declaração de Helsinque (1964 e suas versões posteriores, de 1975, de 1983 e de 1989), o Acordo Internacional sobre Direitos Cívicos e Políticos (ONU, 1986, aprovado pelo Congresso Nacional em 1992), as Propostas de Diretrizes Éticas Internacionais para Pesquisas Biomédicas Envolvendo Seres Humanos (CIOMS/OMS, 1982 e 1993) e as Diretrizes Internacionais para Revisão Ética de Estudos Epidemiológicos (1991).

Além disso, cumpre as disposições da legislação brasileira vigente, em especial nos seguintes documentos legais:

- Constituição da República Federativa do Brasil;
- Código Civil – que regula os direitos e as obrigações de ordem privadas, concernentes às pessoas, aos bens e às suas relações;
- Código Penal – DL nº 2.848, de 7/12/1940;
- Código dos Direitos do Consumidor – Lei nº 8.078, de 11/9/1990, que dispõe sobre a proteção do consumidor;
- Estatuto da Criança e do Adolescente – Lei nº 8.069, de 13/7/1990;
- Lei Orgânica da Saúde (Lei nº 8080, de 19/9/1990) – que dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes;
- Lei nº 8.142, de 28/12/90 – que dispõe sobre a participação da comunidade na gestão do Sistema Único de Saúde – SUS e sobre as transferências intergovernamentais de recursos financeiros na área de saúde;
- Decreto nº 98.830, de 15/1/1990 – que dispõe sobre a coleta por estrangeiros de dados e materiais científicos no Brasil;
- Lei nº 8.489, de 18/11/1992 e Decreto nº. 879, de 22/7/93 – que dispõe sobre a retirada de tecidos, órgãos e outras partes do corpo humano com fins humanitários e científicos;
- Lei nº 8.974, de 5/1/1995 – que regulamenta os incisos II e V, do parágrafo 1º, do artigo 225 da Constituição Federal, estabelecendo normas para o uso das técnicas de engenharia genética e liberação no meio ambiente de organismos geneticamente modificados;
- Lei nº 9.279, de 14/5/1996 – que regula os direitos e as obrigações relativos à propriedade industrial.

1.3- Panorama atual

A OECD (1997) salienta que os métodos para avaliação da exposição passaram por diversas e amplas revisões, desde que DURHAM e WOLFE (1962), apresentaram pela primeira vez a técnica de dosimetria passiva utilizando o método com uso de absorventes. Durante longo tempo não houve nenhum progresso no sentido de aprimorar a avaliação, conforme refere TREVISAN (2002), ao afirmar que essa situação ficou “[...] inalterada por um período de 25 anos”.

Em 1975 a Organização Mundial da Saúde (OMS) elaborou o primeiro protocolo (*WHO protocol*) para a avaliação da exposição aos produtos organofosforados, incluindo o método do uso de absorventes para medir a exposição dérmica. Em 1982, a OMS revisou o método para que pudesse ser utilizado com todos os pesticidas e incluiu um método alternativo para a quantificação da exposição dérmica – o método do corpo total e o monitoramento biológico (OECD, 1997).

Novos estudos e a elaboração de diretrizes para a avaliação da exposição foram realizados, salientando-se os seguintes:

- FENSKE (1986; 1990) desenvolveu o método com o uso de corantes ou traçadores fluorescentes, que se depositam na pele e podem ser visualizados, por imagem de vídeo.

- LUNDEHN e WESTPHAL (1992) apresentaram orientações e resultados de estudos realizados sobre o método com o uso de absorventes.

- A Agência de Proteção Ambiental (EPA, 1992), dos Estados Unidos da América, publicou as *Guidelines for exposure assessment*, em que descreve os principais aspectos e objetivos da avaliação da exposição.

- A EPA (1996), em suas diretrizes *Occupational and residential exposure test guidelines*, orientou sobre a dosimetria passiva e o monitoramento

biológico e, ao mesmo tempo, referiu que [...] “pouco progresso foi feito para o desenvolvimento de nova metodologia após Durham e Wolfe” (EPA, 1996).

- CHESTER (1996) apresentou na Conferência sobre a avaliação do risco a substâncias agroquímicas ao ambiente e seres humanos (*Environment and human health risk assessment for agrochemicals*), a proposta de orientações harmonizadas para a realização de estudos de exposição dos operadores (*Harmonized guidance for the conduct of operator exposure studies*), focalizando os diferentes métodos existentes para a avaliação da exposição.

- A *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD,1997), publicou as Diretrizes para a condução de estudos de exposição ocupacional a pesticidas durante a aplicação agrícola (*Guidance document for the conduct of studies of occupational exposure to pesticides during agricultural application*), focalizando os diferentes métodos de avaliação de exposição existentes apresentados por CHESTER (1996).

No Brasil, MACHADO NETO (1993) realizou avaliações da exposição de trabalhadores agrícolas a pesticidas, utilizando a dosimetria passiva pelo método do uso de absorventes (MACHADO & MATUO,1993, *apud* TREVISAN, 2002; MACHADO,1997).

A avaliação da exposição dérmica empregando a dosimetria passiva pelo método do corpo total concomitante com o monitoramento biológico, com o uso de biomarcadores, ainda não foi descrita no Brasil, o que justifica a análise da metodologia.

As orientações para a realização da dosimetria passiva pelo método do corpo total associada ao monitoramento biológico, para a avaliação da exposição de trabalhadores agrícolas aos agrotóxicos merecem considerações como contribuição para a regulamentação do Decreto nº 4.074/02.

O Ministério da Saúde, através da ANVISA, solicitou a reavaliação de vários produtos e pela, Resolução 6/2000, incluiu a avaliação da exposição dos

idofós durante a sua aplicação com sistema mecanizado, ter a autorização do seu uso em cultura de tomate rasteiro. zada utilizando-se a dosimetria passiva pelo método do mento biológico.

mento da avaliação solicitada pelo Ministério da Saúde oportunidade para a obtenção de subsídios que pudessem tação do Decreto nº 4.074/02, justificando a realização da

2 - AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO

A definição de exposição como “o contato de um agente biológico, químico ou físico com a parte externa do corpo humano, tais como a pele, boca ou narinas”

(IPCS, 2000), foi discutida no Projeto conjunto de harmonização-avaliação de exposição do IPCS – subgrupo de terminologia. Dessa discussão resultou nova definição de exposição: “o contato entre um agente e o alvo” (IPCS, 2002).

A simples presença de uma substância perigosa no ambiente não representa risco à saúde da população ou do indivíduo. É preciso que ocorra a exposição, o contato com o agente para que ocorram eventos que podem resultar em danos à saúde.

Para melhor compreender a exposição é importante lembrar que existem *eventos-chave* (IPCS, 1993; IPCS, 2000), que devem ser considerados quanto aos agentes e seu contato com os indivíduos:

- a) Fonte: origem do agente para entrar no ambiente.
- b) Caminho: curso físico percorrido à medida que ele se move, da fonte até o contato com as pessoas.
- c) Concentração da exposição: quantidade do agente transportado até o ponto de contato com a superfície do corpo.
- d) Vias de exposição: maneira como os agentes penetram no organismo. As principais são: dérmica, inalatória e oral.
- e) Entrada (*intake*): está associada às vias de exposição oral e inalatória. O agente penetra no organismo, geralmente, pela boca ou narinas.
- f) Absorção (*uptake*): está associada à via dérmica de exposição. Pode ser, também a absorção que ocorre no trato gastrointestinal ou nas vias respiratórias, após a penetração do agente no organismo. O *uptake* supõe, também, a absorção pelos olhos.

g) Dose: é a quantidade que entrou no organismo. Pode ser classificada em:

g₁. Dose potencial: quantidade ingerida, inalada ou aplicada na pele;

g₂. Dose aplicada: quantidade que entra diretamente em contato com as barreiras de absorção do corpo: pele, trato respiratório ou trato gastrointestinal e que, portanto, está disponível para absorção;

g₃. Dose interna: quantidade absorvida, portanto, disponível para o metabolismo, o transporte, o armazenamento ou a eliminação pelo organismo;

g₄. Dose distribuída: porção da dose interna que atinge o tecido alvo;

g₅. Dose biologicamente efetiva: parte da dose distribuída que alcança o alvo causando ação tóxica.

A estrutura do modelo atual de avaliação da exposição pressupõe a existência de ajustamentos necessários para a proteção da saúde e poderá vir a ser redesenhada conforme as observações no *trabalho vivo em ato* (MEHRY, 2001), isto é, durante as atividades dos trabalhadores, procurando-se observar os pontos mais vulneráveis. Os procedimentos de rotina podem vir a ser corrigidos, para que sejam incrementadas as medidas que ofereçam maior proteção à saúde da população, com base nas constatações durante o trabalho.

A exposição somente poderá ocorrer se a substância química estiver disponível para o contato com as barreiras externas do organismo (CORRÊA e cols., 2003). A exposição ocorre principalmente pelas vias oral, dérmica e inalatória, resultando em uma dose interna que, ao atingir o órgão ou célula-alvo, produzirá efeitos adversos, que podem ser reversíveis ou irreversíveis (GIL, 1998).

A vinculação entre a dose biologicamente efetiva (alvo) e os efeitos subsequentes, dependem da relação dose-resposta. Nessa ligação, devem-se

considerar também os mecanismos farmacodinâmicos e os fatores de suscetibilidade (IPCS, 2000).

Dois conceitos importantes sobre os efeitos no organismo devem ser lembrados: o efeito biológico, que é a resposta mensurável da dose nas moléculas, células ou tecidos; e o efeito adverso, que é o efeito biológico que causa alteração morfológica, fisiológica, do crescimento, desenvolvimento ou tempo de vida, que resultam em danos à capacidade funcional (IPCS, 2000). Seguindo esta linha de raciocínio, MUTTI (2001) refere que não existirá risco, exceto se os níveis de exposição vierem a exceder o limiar de aparecimento de efeitos adversos.

A avaliação da exposição constitui passo indispensável para a avaliação do risco toxicológico. Ela permite determinar tanto a natureza como a extensão do contato, ocorrido ou previsto, das substâncias químicas com o organismo vivo em diferentes condições, mas também a sua magnitude e importância à saúde pública (IPCS, 1999). No processo de avaliação deve-se identificar e definir, também, as exposições que ocorrem ou cujas ocorrências podem ser previstas nas populações humanas (IPCS, 2000), além de medir a eficiência e eficácia das barreiras de proteção.

A avaliação da exposição envolve a descrição qualitativa e a estimativa quantitativa do contato do agente com o corpo (exposição) e sua penetração no organismo (dose) (IPCS, 2000). Ela pode ser abordada como a estimativa qualitativa e quantitativa do contato dos agentes com o organismo (USEPA, 1992, *apud* TREVISAN, 2002; CORRÊA e cols., 2003).

As quantificações da exposição dos indivíduos aos agentes considerados perigosos podem ser feitas pela sua mensuração ou por estimativa, com o uso de modelos (IPCS, 1993). Elas devem estar apoiadas na coleta dos dados disponíveis sobre: as vias de penetração no organismo; a duração, a magnitude e a frequência da exposição; a distribuição da exposição nos indivíduos e na população em geral (IPCS, 2002).

A quantificação da exposição poderá ser realizada, também pela pesquisa dos resíduos que entraram em contato com o indivíduo (dosimetria

passiva) ou dos resíduos, metabólitos ou efeitos no organismo (monitoramento biológico). A avaliação realizada desta maneira constitui processo custoso e por isso deve ter definido claramente o propósito de sua realização. Segundo o IPCS (2000), entre os propósitos definidos salientam-se: a epidemiologia ambiental, a avaliação do risco e o gerenciamento do risco.

A pesquisa relacionada à exposição implica na busca do conhecimento sobre diferentes tópicos, que devem ser considerados no planejamento do seu estudo: identificação da substância química, forma de apresentação (formulação), o modo de aplicação, as principais vias de penetração no organismo, a duração e a quantidade do contato com o indivíduo, a população alvo da exposição e, finalmente, o tipo de interação que pode ocorrer entre a substância e o organismo.

Nesta linha de abordagem constituem aspectos importantes o conhecimento e a escolha de eventos que permitam auxiliar na avaliação da exposição e na seleção do marcador biológico, tais como:

- o tipo de formulação e a toxicidade da substância química, em especial quanto ao metabolismo, aos órgãos mais vulneráveis e às vias de eliminação;
- a frequência, a intensidade e a duração da exposição;
- as vias mais prováveis de exposição (oral, dérmica ou inalatória) e os principais efeitos adversos agudos, em caso de intoxicação;
- a duração da exposição (jornada de trabalho), o modo de aplicação do produto, a dose e o número de aplicações, a utilização de equipamentos de proteção individual;
- o tamanho, a natureza e as características da população;
- os hábitos pessoais da população em estudo;
- outras condições que podem afetar a exposição, tais como os hábitos e as suscetibilidades individuais.

A exposição ocupacional aos agrotóxicos na lavoura pode ocorrer durante as atividades de mistura, carga, aplicação ou reentrada na cultura tratada. As diferentes etapas do trabalho agrícola podem representar riscos de exposição aos agrotóxicos concentrados ou diluídos (SPEAR, 1991, *apud* TREVISAN, 2002):

- a) Mistura, que é o ato de dissolver o agrotóxico com água: o contato pode ser com o produto concentrado ou já dissolvido;
- b) Carga, quando se leva o produto dissolvido e o coloca nos tanques dos equipamentos de aplicação: o contato será com o produto dissolvido;
- c) Aplicação, quando se realiza a atividade de aplicar o produto na lavoura, seja com equipamento individual de aplicação ou com tratores: o contato será com o produto dissolvido;
- d) Reentrada, quando o trabalhador retorna à lavoura tratada, para a atividade de colheita ou de inspeção: o contato que ocorre será com os resíduos do produto aplicado.

A exposição pode ser avaliada diretamente por meio de abordagens diferentes, tendo como referência o agente e o seu contato com o indivíduo (EPA, 1992; IPCS, 1999): no ponto de contato do agente com o organismo; pela estimativa no cenário em que ocorre a exposição; ou pela reconstrução dos fatos relacionados à exposição.

Segundo as abordagens acima referidas, a exposição será avaliada de três maneiras: no primeiro caso a avaliação será feita com o uso de instrumentos que coletam o agente à medida que ocorre seu contato com o indivíduo; no segundo, a medição será feita pela combinação de informações sobre a concentração do produto no ambiente e o tempo em que ocorre o contato com a pessoa; e, finalmente, a avaliação procurará reconstruir a magnitude da exposição ocorrida, a partir de indicadores internos (biomarcadores), que são as relações farmacocinéticas e farmacodinâmicas do xenobiótico com o organismo biológico.

Os métodos de monitoramento mais usados na avaliação da exposição podem ser categorizados em abordagens direta e indireta, considerando-se o indivíduo inserido no ambiente. Para o IPCS (2000), as abordagens quantitativas de exposição podem ser feitas de dois modos: direta ou indiretamente. O ideal seria utilizar sempre as medições diretas da exposição, pois elas representam a maneira de estabelecer, inequivocamente, que os indivíduos foram expostos aos agentes ambientais específicos e em que extensão isso ocorreu (IPCS, 2000).

A avaliação direta consiste no monitoramento individual efetuado nos pontos de contato, empregando-se monitores pessoais para detecção do contato dérmico ou inalatório, o cálculo do consumo de alimento e a mensuração dos indicadores biológicos de exposição. A avaliação indireta consiste no monitoramento ambiental, com o uso de modelagens ou de questionários para estimar a exposição.

De acordo com as diretrizes da OECD contidas no *Guidance document for the conduct of studies of occupational exposure to pesticides during agricultural application*, a exposição dos trabalhadores e as doses absorvidas

podem ser mensuradas, diretamente, por meio da dosimetria passiva e pelo monitoramento biológico (OECD, 1997).

Para o IPCS (1993), os métodos para avaliar a exposição com o uso de biomarcadores, mensurando os efeitos biológicos ou adversos resultantes da interação entre o agente químico e o organismo, podem ser enquadrados em duas categorias:

- Na primeira, medem-se os níveis dos xenobióticos, seus metabólitos ou os produtos derivados, que se encontram nas células, nos fluidos orgânicos ou nos excreta;
- A outra consiste na mensuração das respostas biológicas, tais como as alterações citogenéticas ou fisiológicas.

2.1- Dosimetria passiva

Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (EPA), a dosimetria passiva pode ser definida como a “estimativa da quantidade de substância química encontrada na superfície da pele ou disponível para ser inalada mensurada através de equipamentos de coleta adequados” (EPA, 1996).

2.1.1- Exposição dérmica

A exposição dérmica é o contato da substância química com a pele. Ela é quantificada pela dosimetria passiva, mensurando-se a quantidade de resíduos encontrados nas roupas protetoras que, nesse caso, serão denominadas de dosímetros. Ela pode, também, ser realizada pela observação da quantidade depositada diretamente na pele, através do uso de traçadores especiais.

A avaliação da exposição dérmica pela dosimetria passiva pode ser realizada, utilizando-se os seguintes métodos: uso de absorventes (*patch method*), o método do corpo total (*whole body method*) e o método com o uso de traçadores fluorescentes ou corantes.

a) Método do uso de absorventes (*patch method*)

A avaliação da exposição pelo método do uso de absorventes (*patch method*) é realizada com a colocação de absorventes, por fora e por dentro das roupas, em pontos previamente definidos (Figura 1). Os resultados obtidos são extrapolados para a parte do corpo correspondente. Ela parte do princípio de que os resíduos depositados no absorvente ocorreram de modo uniforme em todo o segmento correspondente do corpo (CHESTER, 1996).

Segundo CHESTER (1996), as principais desvantagens do método do uso de absorventes são: a necessidade de realizar extrapolações; os resultados se apresentarem além ou aquém da exposição real, tendo em vista que os absorventes podem não capturar a substância de modo uniforme; e o fato dos absorventes serem colocados, comumente, nos pontos mais passíveis de ocorrer o contato.

Tabela 1 – Localização dos absorventes para medir a exposição dérmica em áreas que representam as principais regiões do corpo, no método do uso de absorventes, segundo a EPA.

Área do corpo de interesse	Absorventes representativos da área do corpo
Cabeça totalmente desprotegida ¹	Ombros, tórax e costas ²
Face	Tórax
Pescoço	Tórax e costas
Membros superiores	Ombros e antebraço/ parte superior do braço
Antebraços	Antebraços
Mãos	Resíduos totais do enxágüe das mãos ou luvas de monitoramento usado com vistas à área das mãos
Tórax	Tórax
Costas	Costas
Coxas	Coxas
Pernas	Pernas
Pés	Se necessário, resíduos totais das meias podem ser usados sem a preocupação com a área correspondente a sua superfície.

Fonte: *Occupational and residential exposure test guidelines*, EPA, 1996.

¹ Inclui a face.

² A exposição da cabeça pode ser estimada usando a média dos ombros, costas e tórax ou usando absorvente na cabeça.

b) Método do corpo total (*whole body method*)

Este método procede à quantificação de resíduos de toda a roupa utilizada durante o trabalho de aplicação, manuseio ou carga da substância química. Ele mostra a ocorrência real dos resíduos nas diferentes partes do corpo, sem a suposição de que a deposição do agrotóxico será uniforme. Além disso, não haverá necessidade de efetuar extrapolações de áreas-alvo pequenas para partes maiores.

A principal vantagem deste método é a possibilidade de diferenciar a exposição ocorrida durante as atividades diárias e a relativa contribuição das vias de exposição dérmica ou inalatória (EPA, 1996). O uso deste método também evita a necessidade de extrapolação dos resultados de área restrita para o corpo todo e a suposição de que os resíduos se depositam de modo uniforme. Por isso, acredita-se que o método oferece medida mais acurada da exposição dérmica (OECD, 1997).

Para a avaliação da exposição pelo método do corpo total (*whole body method*) podem-se utilizar macacões leves ou roupas similares como dosímetros, segundo a OMS (1982) e ABBOTT et al. (1987), *apud* OECD (1997). As roupas protetoras e os equipamentos de proteção, recomendados para a substância química em estudo, são vestidos por cima da roupa da amostragem (OECD, 1997).

A avaliação da exposição da cabeça pode ser medida com o uso de gorro, touca ou chapéu como dosímetros. A exposição das mãos será avaliada pela dosagem de resíduos nas mãos ou nas luvas protetoras; para a face e o pescoço serão utilizados chumaços de algodão ou gaze embebidos em água ou solvente que são esfregados nessas regiões após o término da atividade.

A exposição dos pés é avaliada pela análise das meias e dos protetores de sapato, calçados em cima das botas. A quantificação deve abranger tanto as áreas do corpo cobertas como as expostas, considerando que as roupas normais de trabalho, tais como as calças e as camisetas de algodão, são absorventes, podendo permitir que os pesticidas penetrem no organismo (OECD, 1997).

Uma variação do método do corpo total envolve o uso de roupas externas e internas, que os trabalhadores utilizam normalmente (CHESTER, 1996; OECD, 1997). Essas roupas constituirão os dosímetros internos e externos, para a avaliação da exposição. Neste caso, também, as roupas protetoras ou equipamentos de proteção, recomendados para o produto, são vestidos sobre a roupa da amostragem (OECD, 1997). Este método pode ser aplicado em estudos de campo envolvendo a dosimetria e o monitoramento biológico.

A exposição da pele sob a roupa pode ser estimada pela relação entre a penetração ou a transferência de pesticida da roupa externa para a interna (CHESTER, 1996; OECD, 1997).

As roupas utilizadas, que servirão de dosímetros, devem ser confeccionadas com tecidos de algodão não-tratado, a fim de não interferir na análise dos resíduos. As roupas empregadas serão seccionadas, após o trabalho, obedecendo a esquema previamente definido (Figura 2), o que permite a determinação da distribuição da exposição.

c) Método com o uso de traçadores fluorescentes ou corantes

Um outro método para quantificar a exposição dérmica foi desenvolvido por FENSKE (FENSKE 1986; 1990, *apud* CHESTER, 1996; OECD, 1997). Este método consiste na utilização de traçadores fluorescentes ou corantes, que se depositam na pele ou nas roupas. Este mesmo pesquisador posteriormente desenvolveu sua técnica para que a imagem possa ser vista em uma câmara de vídeo (Figura 3).

A principal vantagem deste método é que a pele será, diretamente, o meio de coleta da substância a que o indivíduo foi exposto. Outra vantagem é a sua utilização em treinamentos de aplicadores, porque mostra aos trabalhadores o quanto eles podem se contaminar, sugerindo mudanças em suas práticas no trabalho (CHESTER, 1996; OECD, 1997).

Este método permite a visualização dos padrões não uniformes da exposição, o que pode escapar ao método do uso de absorventes. A substância fluorescente pode ser incorporada ao agrotóxico ou pode ser utilizada em seu lugar.

2.1.1.1- Exposição das mãos

A exposição das mãos constitui componente de grande importância no estudo da exposição dérmica, podendo ser considerada como a mais importante, segundo CHESTER (1996). Existem vários métodos que podem ser utilizados em

sua realização, apresentando vantagens e desvantagens (OECD, 1997), de modo que ainda é difícil selecionar um método e recomendá-lo como o mais adequado (CHESTER, 1996).

Os principais métodos para a avaliação da exposição das mãos são os seguintes:

a) Método de lavagem das mãos:

As mãos são lavadas com solvente colocado em saco de polietileno. O saco é preso nos pulsos e as mãos são agitadas vigorosamente (OECD, 1997). Lava-se uma mão de cada vez ou, se for possível, podem ser lavadas ambas as mãos ao mesmo tempo. Após, o enxágüe a mão é lavada novamente com novo solvente em outro saco limpo. O solvente é analisado quanto à presença de resíduos.

b) Método de lavagem das mãos com água e sabão:

Este método é recomendado quando a avaliação da exposição é feita concomitantemente com o monitoramento biológico (OECD, 1997). O sabão e o volume de água devem ser padronizados. As mãos devem ser lavadas em bacias de plástico ou aço inoxidável e a água utilizada será analisada para pesquisa de resíduos.

c) Método das luvas absorventes:

São utilizadas luvas de material absorvente leve, como o algodão.

As luvas devem ser pré-testadas, quanto a eventuais presenças de resíduos. Quando são usadas luvas protetoras, as luvas de amostragem devem ser usadas por baixo.

CHESTER (1996) refere que a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (US/EPA) considera que o uso de luvas absorventes

pode resultar em superestimativa da exposição por via dérmica, porque as luvas têm maior capacidade de reter os pesticidas do que a pele.

2.1.1.2- Exposição da face e pescoço

Para a exposição da face e pescoço são utilizados como dosímetros gases ou chumaços de algodão embebidos em água ou solventes especiais, de acordo com o produto. As gases ou algodões serão esfregados no rosto e pescoço, após o trabalho, e acondicionados para análise de resíduos.

2.1.1.3- Exposição dos pés

A exposição dos pés será quantificada pela dosagem de resíduos nas meias e nos protetores de sapato, que são calçados por cima das botas.

2.1.2- Exposição inalatória

A exposição inalatória, também, pode ser quantificada direta ou indiretamente. O órgão responsável por orientações quanto à segurança e saúde ocupacional dos trabalhadores, dos Estados Unidos da América, *National Institute of Occupational Safety and Health*, do *National Institute of Health (NIOSH/NIH)* apresenta três tipos básicos de amostragem (NIOSH, 1997):

- Pessoal – o equipamento de amostragem fica ligado diretamente ao trabalhador;
- Zona de respiração – o equipamento de amostragem é posicionado próximo à zona de respiração do indivíduo; e a
- Geral – o equipamento de amostragem é colocado no local de trabalho, coletando amostras do ambiente.

Existem várias técnicas para a avaliação da exposição inalatória, que foram desenvolvidas ao longo do tempo: uso de gases nos equipamentos de

respiração; uso de absorventes sólidos nas máscaras; *cassetes* de filtros ligados a bombas de amostragem.

O método para amostragem de ar realizado com equipamento de monitoramento pessoal pode ser considerado como o “método de escolha para a determinação das concentrações de praguicidas veiculados pelo ar, nas zonas de respiração dos trabalhadores” (OECD, 1997). Nesse tipo de amostragem do ar, as bombas individuais são munidas de filtros especiais, que serão os dosímetros a serem analisados. O método de avaliação utilizado deve refletir a situação mais próxima da realidade e a coleta de amostras deverá ser feita na região junto à área de respiração do trabalhador (LEIDEL et al., 1977).

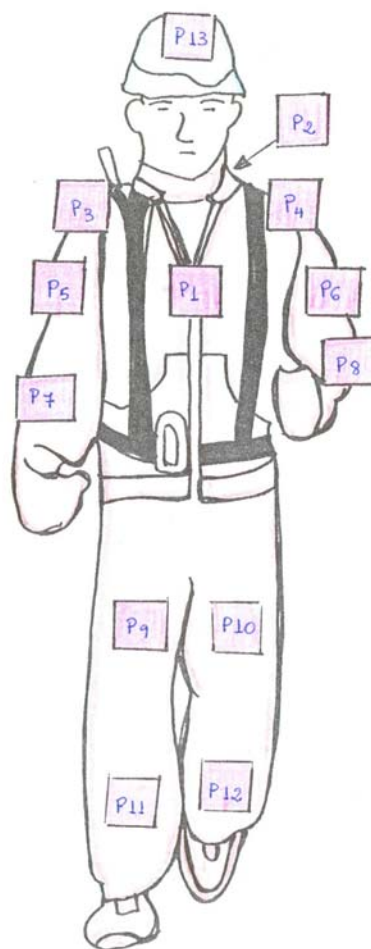
Verifica-se pela Tabela 2, que os diferentes métodos de dosimetria passiva, para exposição dérmica, apresentam vantagens e desvantagens. Isto pode ser visualizado de maneira detalhada nas Figuras 1, 2 e 3, que mostram de modo esquematizado os métodos do uso de absorventes, do corpo total e o do uso de traçadores fluorescentes.

Tabela 2 - Vantagens e limitações dos métodos para estimar a exposição dérmica, segundo a OECD, 1997.

Método de exposição dérmica	Principais vantagens	Principais limitações	Monitoramento biológico concomitante
Absorventes	Fácil de analisar	Pressupõe deposição uniforme	Sim
Corpo total	Não necessita correções, quanto a superfície ou tamanho da área Consome menos tempo no	Análise mais complicada Pode ser desconfortável para o trabalhador	Não

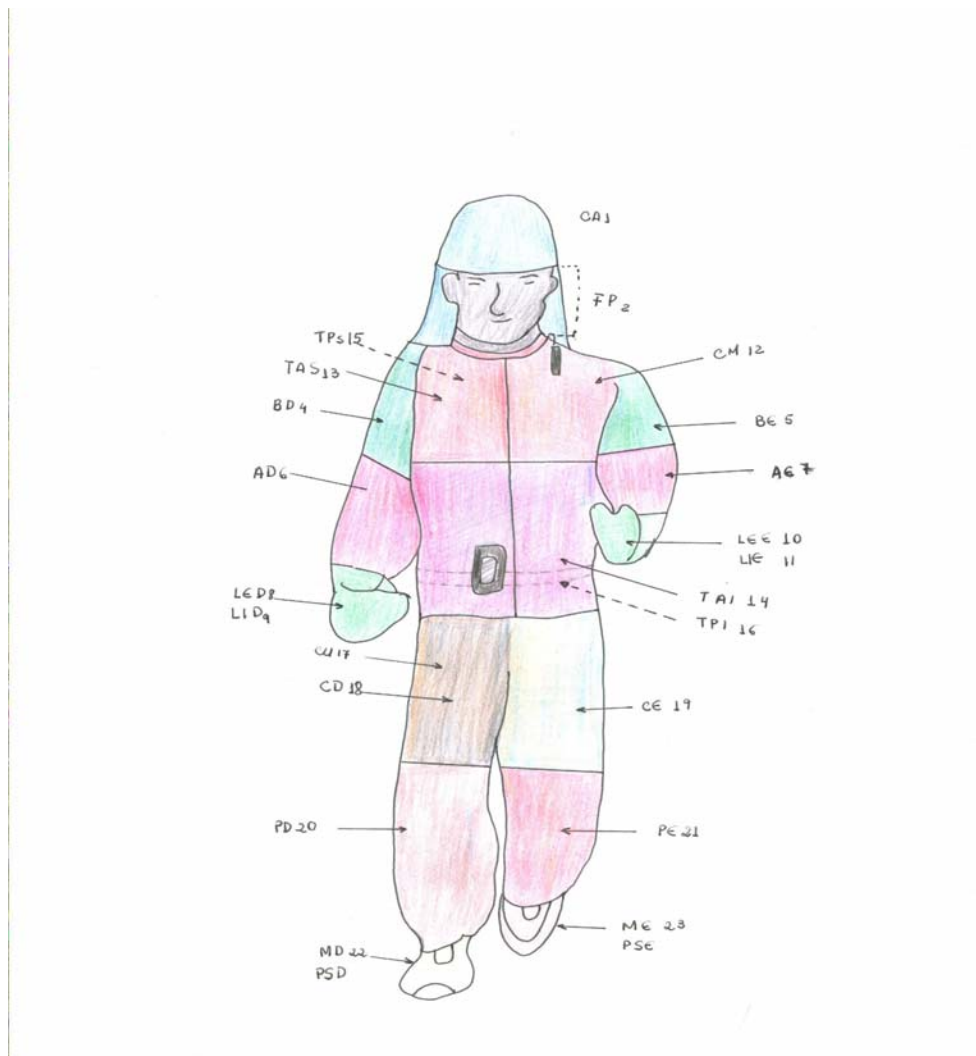
		campo		
Varição do corpo total		Coleta a maior parte do pesticida que alcança a pele	Análise mais complicada	Sim
		Não necessita de extrapolação para a superfície do corpo		
		Consome menos tempo no campo		
Imagem vídeo/corante		Análise visual e quantitativa (convencional ou imagem por vídeo)	Supõe permeação equivalente da roupa pelo corante e pesticida	Sim
		Mede a exposição direta da pele (imagem por vídeo)		
		Útil para o treinamento de aplicadores		

Fonte: *Guidance document for the conduct of studies of occupational exposure to pesticides during agricultural application*, OECD, 1997.



Legenda: P₁ = tórax, P₂ = costas, P₃ = ombro direito, P₄ = ombro esquerdo, P₅ = braço direito, P₆ = braço esquerdo, P₇ = antebraço direito, P₈ = antebraço esquerdo, P₉ = coxa direita, P₁₀ = coxa esquerda, P₁₁ = perna direita, P₁₂ = perna esquerda, P₁₃ = cabeça.

Figura 1 – Posição dos absorventes colocados na dosimetria passiva, pelo método do uso de absorventes.



Legenda: CA = cabeça; FP = face e pescoço; BD = braço direito; BE = braço esquerdo; AD = antebraço direito; AE = antebraço esquerdo LED = luva externa direita; LID = luva interna direita; LEE = luva externa esquerda; LIE = luva interna esquerda; CM = camiseta; TAS = tronco ântero-superior; TAI = tronco ântero-inferior; TPS = tronco pósterio-superior; TPI = tronco pósterio-inferior; CU = cueca; CD = coxa direita; CE = coxa esquerda; PD = perna direita; PE = perna esquerda; MD = meia direita; ME = meia esquerda; PSD = Protetor de sapato direito e PSE = protetor de sapato esquerdo.

Figura 2 – Códigos das regiões do corpo para identificação das amostras de roupa e do lavado de face e pescoço, utilizados no método do corpo total.

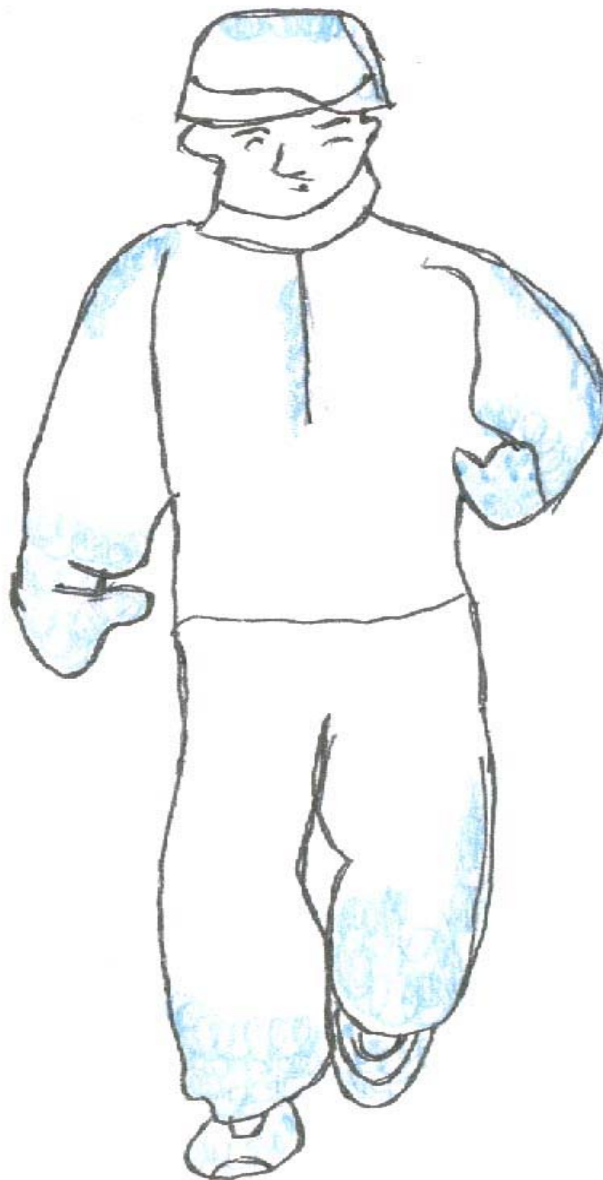


Figura 3 – Uso de traçadores fluorescentes ou corantes mostrando possíveis pontos de acúmulo de resíduos.

2.2- Monitoramento biológico

É o método que permite a medição dos resíduos das substâncias químicas ou seus metabólitos nos fluidos do corpo ou ar expirado, assim como os efeitos ou alterações ocorridas no organismo, por meio dos marcadores biológicos ou biomarcadores.

A OECD (1997) refere que o monitoramento biológico consiste na avaliação da absorção de substâncias químicas pelo organismo. A quantificação dessa absorção será efetuada pela medição do resíduo das substâncias ou de seus metabólitos ou, ainda, de alterações celulares e enzimáticas nos fluidos e compartimentos orgânicos. As amostras biológicas mais utilizadas são a urina, o sangue ou o ar expirado, mas podem ser constituídas por amostras de tecidos.

O objetivo do monitoramento biológico é a quantificação da dose interna, isto é, “a mensuração dos danos ao corpo em fluidos ou tecidos selecionados ou de amostras do agrotóxico ou seus metabólitos eliminados pelo organismo” (EPA, 1996).

As alterações ocorridas no organismo e os metabólitos encontrados em decorrência da absorção dessas substâncias químicas recebem a denominação de marcador biológico ou biomarcador. Essas alterações podem ser químicas, enzimáticas, celulares ou tissulares, refletindo a interação entre o agente químico e o sistema biológico. Isto permite identificar o perigo, avaliar a exposição ou avaliar a associação entre a resposta do organismo e a probabilidade da ocorrência de uma doença.

Os biomarcadores podem ser classificados nas seguintes categorias, segundo o IPCS (1993) e TIMBRELL (1998):

- a) Biomarcadores de exposição: são as substâncias exógenas ou os seus metabólitos ou, ainda, os produtos da interação entre o xenobiótico e a molécula ou célula alvo, mensurados num compartimento do organismo.

Os biomarcadores de exposição podem ser divididos, de acordo com TIMBRELL (1998), em:

- biomarcadores de dose interna – são as substâncias ou seus metabólitos que podem ser mensurados nos fluidos orgânicos indicando a ocorrência de exposição;
 - biomarcadores de dose efetiva – indicam que determinada substância ou seu metabólito chegaram ao alvo toxicologicamente significativo.
- b) Biomarcadores de efeito: são as alterações mensuráveis, que podem ser reconhecidas associadas a danos estabelecidos ou alterações no organismo, tais como alterações celulares ou enzimáticas.
- c) Biomarcadores de suscetibilidade: são os indicadores que mostram a capacidade do organismo em responder ao desafio representado pela exposição a uma substância xenobiótica específica.

Os biomarcadores podem ser utilizados na avaliação da exposição e suas conseqüências, não importando se a fonte se encontra nos alimentos, no meio ambiente ou se resultou de atividade ocupacional. Deste modo apresentam vantagens em relação ao monitoramento ambiental, uma vez que avaliam a absorção real e não a absorção potencial, integrando a exposição por todas as vias possíveis (OECD, 1997).

Para a seleção do biomarcador mais adequado faz-se necessária a compreensão da toxicocinética e a toxicodinâmica da substância química. A quantidade de um agente tóxico que atua sobre o organismo e a sua concentração plasmática, em decorrência do processo de absorção, distribuição, metabolismo e eliminação (ADME) é a toxicocinética. A toxicodinâmica é a ação tóxica da substância química ao sistema biológico (OGA, 2003).

O monitoramento dos efeitos biológicos com o uso de marcadores biológicos (biomarcadores), no caso dos agrotóxicos, tem sido utilizado com mais

freqüência “para avaliar a exposição aos compostos organofosforados, através da mensuração da colinesterase sangüínea” (OECD, 1997).

Os efeitos biológicos avaliados com o uso de biomarcadores têm sido monitorados na indústria química há algum tempo, com vistas à avaliação dos efeitos à saúde ou de eventuais modificações nos indicadores bioquímicos devido à exposição (CHESTER, 1996). Os biomarcadores resultantes de absorção medem a quantidade de substância química que, após penetrar no organismo, é metabolizada ou excretada, assim como as alterações nas células, nos tecidos ou nas enzimas no corpo do indivíduo.

O monitoramento biológico pode ser realizado em diferentes momentos, servindo não somente para fins de diagnóstico, mas também como eventos-sentinela, permitindo a detecção da ocorrência de exposição ao tóxico em sua fase inicial, antes do aparecimento de efeitos adversos graves à saúde (LEE et al., 1995).

O monitoramento biológico, conforme estabelece o IPCS (1999), pode ser usado para avaliar a quantidade de substância química no corpo pela medição da concentração de um ou mais dos seguintes itens: da substância química nos tecidos ou soro (exemplos: no sangue, na urina, no ar expirado, nos cabelos, no tecido adiposo); dos metabólitos da substância química; do efeito biológico que ocorre como resultado da exposição humana à substância (ex: alteração da atividade da colinesterase); da quantidade de substância química ou seus metabólitos ligados à molécula-alvo.

O IPCS (1993) enfatiza que a seleção do marcador biológico adequado é de importância crítica, por causa da oportunidade de maior precisão na avaliação do risco aos indivíduos e subgrupos da população, com as conseqüentes implicações para a adoção de medidas que permitam mitigar os efeitos adversos e proteger a saúde. Acrescenta, ainda, que essa seleção dependerá do estado científico do conhecimento, sendo influenciado por fatores econômicos, sociais e éticos. Isto deve ser considerado na prática, quanto à viabilidade da coleta de

amostras, seu transporte e análise, de modo que o resultado seja confiável e válido. Deve-se, também, adotar de preferência métodos que não invadem o organismo do indivíduo (métodos não-invasivos).

Para que a exposição possa ser relacionada a uma substância química e ao *end-point* selecionado, é preciso que o método seja validado. A validação é o processo que estabelece a relação qualitativa e quantitativa do biomarcador à exposição a uma substância química e ao *end-point* selecionado para ser pesquisado (IPCS, 1993). Para tanto, é importante que a substância a ser avaliada tenha definido claramente o *end-point* que será mensurado, por exemplo, a alteração enzimática ou lesão celular que pode ocorrer com a entrada da substância no organismo.

Os produtos que apresentam metabolismo intenso formando grande número de metabólitos, em pequena quantidade, podem não constituir bons candidatos para a indicação do monitoramento biológico. Isto porque, será difícil quantificar acuradamente os diferentes metabólitos e avaliar a magnitude da exposição. Mesmo assim, eles podem indicar a ocorrência da exposição.

No contexto ocupacional os marcadores biológicos proporcionam dados sobre os efeitos biológicos, bem como meios complementares para avaliar se as medidas protetoras estão sendo adequadas, inclusive quanto às práticas e às condições de trabalho.

Quando existe grande variação interindividual de um biomarcador, em comparação com a variação intraindividual, a análise de amostras pareadas (antes e após a exposição) poderá ser indicada. Deste modo a capacidade do biomarcador em detectar a exposição ou o efeito será evidenciada com mais clareza (IPCS, 1993).

Nesta pesquisa a substância química utilizada foi o Metamidofós, que apresenta as características descritas a seguir, o que permite a escolha do marcador biológico mais adequado:

O Metamidofós está incluído entre os agentes denominados como anti-colinesterásicos (*anti-ChE agents*) (TAYLOR, 2001), cuja ação primária é a inibição das enzimas colinesterases, em especial a acetilcolinesterase (AChE). Essa inibição provoca o acúmulo da acetilcolina (ACh) nas junções neuromusculares, resultando na potencialização e persistência dos estímulos nervosos (HOFFMAN et al., 1999).

A ACh, enzima que ocorre nas junções neuromusculares, é estocada em vesículas formadas por membranas e excretada por exocitose no líquido extracelular que separa o neurônio e o músculo (RANDALL et al., 2000). Após sua ação ela é hidrolizada pela AChE, transformando-se em colina e acetato. Isto permite que o nervo retorne ao estado de repouso. A colina que permanece na fenda sináptica é reabsorvida pela membrana pré-sináptica e reciclada para condensação com a acetil-coenzima A (acetil-coA) formando novas moléculas de ACh.

As colinesterases sangüíneas que são alteradas pelas substâncias organofosforadas são: a butirilcolinesterase (BuChE) e a acetilcolinesterase. “Quase todo efeito farmacológico dos agentes anti-colinesterásicos decorrem da inibição da AChE, com o conseqüente acúmulo da ACh endógena nas proximidades da terminação nervosa” (HOFFMAN e TAYLOR, 2001). A butirilcolinesterase (BuChE) é, também, conhecida como pseudocolinesterase. Ela está presente em baixa quantidade nas células gliais e satélites. A BuChe é sintetizada primariamente no fígado e é encontrada no fígado e plasma (HOFFMAN e TAYLOR, 2001).

A inibição da atividade da acetilcolinesterase com a conseqüente persistência do estímulo elétrico causa sintomas e sinais físicos específicos de intoxicação, quando essa inibição atinge determinado nível (valor umbral ou *threshold value*).

A inibição das colinesterases constitui biomarcador de efeito das substâncias organofosforadas, entre as quais está o Metamidofós, podendo ser detectada em amostras de sangue no plasma e nos eritrócitos.

Há considerável variação da atividade normal das enzimas colinesterases, de indivíduo para indivíduo. Conseqüentemente, para que a dosagem tenha validade, o trabalhador deve ser submetido à sua medição em amostras pareadas, uma antes e outra após a exposição ao produto em estudo. Deste modo será possível efetuar a sua comparação quanto a alterações ocorridas no biomarcador.

Outro aspecto a ser considerado na avaliação do Metamidofós é o seu metabolismo. As excreções pelo ar expirado e pela urina são mais importantes que a eliminação pelas fezes. O monitoramento da exposição aos organofosforados pode ser realizado, também, pela determinação de metabólitos derivados do radical alquilfosfatos em amostras de urina. Os alquilfosfatos, no entanto necessitam de métodos analíticos sofisticados para sua detecção (MARONI e FERIOLI, 2001).

3 - OBJETIVOS

3.1- Objetivo geral:

Realizar a análise crítica da dosimetria passiva pelo método do corpo total e o monitoramento biológico, para a avaliação da exposição de trabalhadores a agrotóxicos.

3.2- Objetivos específicos:

- 3.2.1- Acompanhar ensaios de campo com a aplicação do inseticida Metamidofós em culturas de tomate rasteiro, verificando a aplicação da dosimetria passiva e do monitoramento biológico.
- 3.2.2- Conhecer os alcances e as limitações dos procedimentos da dosimetria passiva e do monitoramento biológico, em ensaios de campo, com a aplicação do Metamidofós na cultura do tomate rasteiro.

***4- MATERIAL E
MÉTODOS***

A pesquisa foi realizada por meio do acompanhamento de ensaio em campo efetuado com a aplicação do Metamidofós, em cultura de tomate rasteiro, utilizando sistema mecanizado, com o uso de tratores (Figuras 3, 4 e 5).

Os dados quanto à substância química e o marcador biológico utilizados, por isso, são referidos como sendo o Metamidofós e as alterações das enzimas colinesterases. As fazendas em que foram feitos os ensaios cultivam tomate rasteiro.



Figura 4 – Cultura de tomate rasteiro.



Figura 5 – Aplicação de agrotóxico com sistema mecanizado.



Figura 6 – Aplicação de agrotóxico com sistema mecanizado.

A autorização do uso do Metamidofós na cultura do tomate rasteiro pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) ficou condicionada à realização da avaliação do risco toxicológico dos trabalhadores agrícolas, mediante ensaio em campo, verificando a exposição dos trabalhadores durante o seu manuseio e aplicação. Isto foi decorrência da reavaliação solicitada pela ANVISA, por meio da Resolução nº 6/2000.

O Metamidofós é uma substância do grupo químico organofosforado, autorizada no Brasil para uso na agricultura, pela primeira vez em 1972, pela então Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - CNNPA, da ex-Secretaria Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde, através da Resolução nº 5/72. O METAMIDOFÓS pode ocorrer, também, como subproduto do Acefato (IPCS, 1993), que está autorizado no Brasil, desde 1972, para uso na agricultura.

O produto foi reavaliado posteriormente em diversas ocasiões, através de resoluções e portarias. Em nível internacional, o Comitê Conjunto de Peritos FAO/OMS sobre Resíduos de Pesticidas (JMPR) avaliou o Metamidofós pela primeira vez em 1976 e procedeu a reavaliações nos anos de 1979, 1981, 1984, 1989, 1990, 1994, 1996 e 2002.

Na monografia em vigor, publicada pelo Ministério da Saúde – Resolução - RE nº 74, de 21/6/2002, o produto é apresentado do seguinte modo:

O Metamidofós, código M10, está registrado no Chemical Abstracts (CAS) sob nº 10265-92-6. Seu nome químico é: 0,S-dimethyl phosphoramidothioate; com a sinonímia: fósforo-amido-tioato-0,S-dimetílico. Sua fórmula molecular é: $C_2 H_8 NO_2 PS$ e o peso molecular: 141,1. É inseticida e acaricida sistêmico do grupo químico organofosforado; classificado, toxicologicamente, como classe I – extremamente tóxico. O uso agrícola está autorizado nas seguintes modalidades de emprego: aplicação nas partes aéreas das culturas de algodão, amendoim, batata, feijão, soja, tomate e trigo. A aplicação do produto, para todas as culturas, deverá ser feita, exclusivamente, com trator ou via pivô central.

Os limites máximos de resíduos autorizados são: 0,1 ppm para o algodão, o amendoim, a batata e o trigo; 0,01 ppm para o feijão e a soja; 0,3 ppm para o tomate. Exceto para a soja que tem o intervalo de segurança de 23 dias, todas as

culturas têm o intervalo de segurança estabelecido para 21 dias. A ingestão diária aceitável (IDA) foi estabelecida como 0,04 mg/kg p.c./dia. Para o tomate, a autorização de uso ficou restrito ao tomate rasteiro com fins industriais.

4.1- Protocolo de pesquisa

O protocolo foi elaborado com vistas à obtenção de dados sobre a exposição dos trabalhadores, durante a aplicação do produto em tomate rasteiro, com uso de sistema mecanizado, adotando-se como método a dosimetria passiva pelo método do corpo total e o monitoramento biológico.

A Resolução nº 196/96 inclui a pesquisa com agrotóxicos envolvendo seres humanos na área de conhecimento 2. Ciências Biológicas, item 2.14 Toxicologia e refere que o protocolo de pesquisa deve ser submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa – CEP para aprovação, antes do início da pesquisa.

4.2 -Localização das áreas da pesquisa

Foram escolhidas duas localidades, que apresentavam condições de solo e clima diversos, onde havia plantações de tomates rasteiros e que adotavam sistema mecanizado para a aplicação do agrotóxico.

As localidades escolhidas foram em dois estados importantes na cultura do tomate: a região Sudoeste do estado de São Paulo e a região Centro-Oeste de Minas Gerais.

Os municípios escolhidos no estado de São Paulo foram os de Guararapes, onde foram realizados três ensaios, e Rubiácea, onde foi feito um ensaio.

Em Minas Gerais foram selecionados os municípios de Patos de Minas, Presidente Olegário e Varjão de Minas. Nesse estado foram feitos quatro ensaios, sendo dois em Varjão de Minas, um ensaio em Patos de Minas e um em Presidente Olegário.

O contato com os plantadores de tomate foi efetuado com o apoio de fabricantes e vendedores de agrotóxicos, em ambos os estados: pessoal representante de empresas produtoras de agrotóxicos e técnicos das revendedoras.

4.3 -Seleção e exame dos trabalhadores (voluntários)

Os critérios de seleção dos trabalhadores para a sua inclusão nos ensaios foram os seguintes: ser do sexo masculino; ter idade acima de 18 anos; não apresentar problemas neurológicos, dermatológicos, hepáticos, respiratórios ou de alcoolismo; não estar utilizando medicamentos; ter experiência no manuseio e na aplicação de agrotóxicos; ausência de intoxicação anterior; concordar em participar da pesquisa como voluntário.

Os participantes receberam informações sobre a pesquisa e ouviram a leitura explicativa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A). Esse Termo expunha claramente o objetivo do estudo, qual seria a participação dos trabalhadores e os exames a que seriam submetidos. Somente com a assinatura desse Termo, concordando com o estipulado, eles foram incluídos como voluntários no ensaio.

Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, os participantes foram submetidos a entrevista sobre sua saúde, verificação da pressão arterial (P.A.) e frequência cardíaca (F.C.) e exame biométrico. Nesse mesmo dia foi feita a coleta da primeira amostra de sangue, para o monitoramento biológico.

A ficha médica (Anexo B) para cada trabalhador constou dos seguintes itens:

- Identificação: nome, idade, data de nascimento;
- Dados biométricos: peso e altura;

- Histórico pessoal: antecedentes quanto a doenças;
- Situação atual: frequência cardíaca, pressão arterial, questões sobre uso de medicamentos ou de alguma doença atualmente;
- Toxicologia: tempo de trabalho com agrotóxicos e história de intoxicação anterior.

4.4- Tamanho da amostra

O tamanho da amostra adotado foi de 16 (dezesesseis) trabalhadores, compreendendo 8 (oito) ensaios: cada ensaio consistia em um trator e dois trabalhadores. O tamanho da amostra seguiu orientação da OECD (1997), que, em suas diretrizes para a realização de estudos sobre a exposição ocupacional a pesticidas durante sua aplicação na agricultura (*Guidance document for the conduct of studies of occupational exposure to pesticides during agricultural application*), sugere o número mínimo de 10 (dez) pessoas para a realização de estudos sobre exposição em campo.

4.5- Equipe de pesquisadores

A equipe que participou da pesquisa foi constituída por um médico, um farmacêutico e um agrônomo. Um auxiliar de enfermagem integrou a equipe, quando houve necessidade de proceder à coleta de sangue fora do laboratório.

Cada profissional tinha um elenco de tarefas sob sua responsabilidade, que foram divididas entre os participantes. As principais tarefas consistiram em: calibração das bombas na véspera do ensaio; cuidados com as roupas de amostragem, identificação das embalagens em que as partes das roupas seriam acondicionadas; organização do material a ser levado a campo; exame médico e

biométrico, verificação das condições atmosféricas, calibração dos bicos e da preparação da calda.

4.6- Rotina

A equipe, ao chegar na localidade e uma vez instalada, procurou efetuar os contatos necessários para dispor de infra-estrutura adequada ao desenvolvimento dos trabalhos. As principais providências referiam-se aos contatos necessários para o desenvolvimento da pesquisa:

- a) identificação de laboratório onde poderia ser feita a coleta de sangue;
- b) locação de geladeira e congelador (*freezer*);
- c) empresas transportadoras que pudessem transportar as amostras de sangue em tempo hábil;
- d) empresas revendedoras: verificação da chegada do produto a ser aplicado e auxílio na identificação de plantadores de tomate;
- e) plantadores de tomate e solicitação para a realização da pesquisa.

A rotina de trabalho obedecida em ambos os estados foi idêntica, procurando-se evitar modificações que pudessem impedir a comparação entre os resultados.

Foi solicitado que, em todas as fazendas, os procedimentos de mistura, de carga e de aplicação fossem realizados de modo idêntico: o trabalhador que misturou e carregou o produto acompanhou o tratorista, durante a aplicação do produto.

Aplicação

Dias

1

2

3

Esclarecimentos, entrevista, **Aplicação do produto e coleta de amostras para** Coleta de sangue

exame biométrico e médico, **dosimetria** Coleta de sangue
coleta de sangue (1ª amostra) (2ª amostra)

Figura 7 – Cronograma de desenvolvimento dos ensaios, nos estados de São Paulo e Minas Gerais.

Conforme mostra a Figura 7, acima, foram alocados três dias para cada ensaio:

No primeiro dia os trabalhadores tomaram conhecimento sobre o objetivo da pesquisa e ouviram a leitura explicativa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os trabalhadores que concordaram com o Termo assinaram o mesmo, ficando com uma cópia.

Em seguida foram realizadas as entrevistas médicas; os exames biométricos; as verificações da pressão arterial e da frequência cardíaca; e a coleta da primeira amostra de sangue (pré-aplicação).

No segundo dia os trabalhadores receberam orientações e ajuda para vestir as roupas que seriam usadas durante o ensaio (Figura 8).



Figura 8 – Trabalhador auxiliado na colocação do filtro de ar.

As roupas utilizadas pelos trabalhadores, durante a realização do ensaio, foram confeccionadas com algodão sem tratamento e consistiram de: touca árabe; camisa de mangas compridas, tipo japona de decote arredondado e fecho de *velcro*; calças compridas; camiseta; cueca; meias e luvas internas. As luvas externas utilizadas eram de nitrila e os protetores de sapato de tecido tipo *tnt*. Foi utilizado, também, visor facial para proteção dos olhos e face (Figuras 9 e 10).

As bombas de amostragem de ar, carregadas e calibradas na véspera, foram afixadas na cintura acima da roupa e os filtros de ar colocados na lapela esquerda, próximo à área de respiração. Foram empregadas as bombas de amostragem *Escort Elf™* individuais, ajustadas na cintura de cada trabalhador. Os filtros de ar empregados foram do tipo *Sorbent tube 226-30-16*, recomendados pela NIOSH (2002) para amostragem do Metamidofós. Os filtros ficavam contidos dentro de estojo apropriado e foram presos na lapela esquerda do trabalhador, próximo à área de respiração.



Figura 9 – Trabalhador com a roupa protetora, visor facial e a bomba de amostragem de ar com filtro.



Figura 10 – Trabalhador com roupa protetora, visor facial e bomba de amostragem de ar.

Os trabalhadores receberam explicações sobre o ensaio e foram orientados para que adotassem os procedimentos normalmente adotados na aplicação de agrotóxicos.

As amostras testemunhas fortificadas foram expostas em local distante, que impedisse a contaminação, durante a aplicação do agrotóxico. As amostras testemunhas alvo (sem tratamento), igualmente foram expostas em local distante da aplicação, próximo às outras testemunhas (Figuras 11 e 12).



Figura 11 – Roupas testemunhas.



Figura 12 – Testemunhas: roupas e a bomba de amostragem acoplada ao filtro de ar.

Após a realização da mistura e durante a aplicação do agrotóxico, foram coletadas amostras da calda, para verificar se a concentração do produto estava dentro dos padrões desejados.

Após o término da aplicação, toda a roupa usada foi seccionada, obedecendo a esquema pré-estabelecido em código (Figura 2). Toda parte seccionada foi rotulada e acondicionada em separado, identificando as amostras coletadas de cada trabalhador.

As amostras de calda foram conservadas em geladeira. As partes das roupas, as gazes e os filtros de ar, coletados para análise de resíduos foram mantidas num congelador (*freezer*) até o término dos ensaios no local.

No terceiro dia foi feita a coleta da segunda amostra de sangue (amostra pós-aplicação).

4.7- Avaliação da exposição

Para a avaliação da exposição foram adotadas duas abordagens: a dosimetria passiva pelo método do corpo total e o monitoramento biológico, usando como marcador biológico a dosagem das colinesterases no sangue.

4.7.1- Dosimetria passiva

O monitoramento da exposição dérmica, neste estudo, adotou como abordagem direta a dosimetria passiva, pelo método do corpo total (*Whole Body Method*): toda a roupa usada durante o ensaio, exceto o visor facial, serviram como dosímetros para a quantificação dos resíduos dos agentes químicos.

A exposição inalatória foi avaliada com o uso de filtros de ar conectados a bombas de amostragem individuais.

A face e o pescoço, ao final da aplicação, foram submetidos à limpeza com gazes embebidas em água.

A exposição das mãos foi quantificada, pelo método do uso de luvas absorventes, confeccionadas com algodão e calçadas sob as luvas protetoras de nitrila.

A exposição dos pés foi avaliada pela dosagem de resíduos nas meias e nos protetores de sapato calçados por cima das botas.

Os dosímetros para a análise de resíduos foram constituídos, portanto, pelas roupas (touca árabe, camisa de mangas compridas, calças compridas, camiseta, cueca), as meias, os protetores de sapatos, as luvas externas e internas, os filtros de ar e as gazes utilizadas para lavagem da face e pescoço.

As amostras testemunhas consistiram em duas fortificações com concentrações diferentes e uma testemunha alvo, sem tratamento. Nas fortificações com as duas concentrações diferentes, o produto diluído foi aplicado nas roupas,

protetores de sapato e luvas que ficaram expostas, em local distante do local de aplicação, por período correspondente à duração do ensaio. As testemunhas alvo ficaram, também, expostas durante o mesmo período de tempo. Para os filtros de ar, a testemunha consistiu em uma amostra sem tratamento (Figura 12).

Após a realização de cada ensaio, foram adotados os seguintes procedimentos:

- toda a roupa usada, bem como as roupas testemunhas fortificadas e as sem tratamento, foram seccionadas de acordo com esquema pré-estabelecido na Figura 2;
- as toucas árabes, as camisetas, as luvas, as cuecas, os protetores de sapato e as meias foram acondicionadas inteiros;
- cada parte da roupa foi colocada em pacote de plástico, devidamente identificado por código pré-estabelecido para a área do corpo e acondicionada em um saco maior identificado com o código do trabalhador;
- os filtros de ar foram coletados, lacrados e embalados, individualmente, com identificação referente ao trabalhador;
- as gazes embebidas em água utilizadas na limpeza da face e pescoço foram acondicionadas, identificadas e colocadas no pacote do trabalhador.

Todo o material ficou guardado em congelador (*freezer*) até o cumprimento do cronograma estabelecido para o local e retorno a Campinas. Ao final desse período a equipe trouxe consigo o material, encaminhando-o ao laboratório para análise dos resíduos.

4.7.2- Monitoramento biológico

O monitoramento biológico, neste trabalho, adotou como biomarcador a dosagem da atividade das colinesterases sangüíneas. Para sua mensuração foram feitas coletas de amostras de sangue pareadas: a primeira um dia antes e a segunda um dia após a aplicação do Metamidofós.

Os tubos para a coleta das amostras de sangue eram a vácuo, contendo heparina em seu interior. A extração do sangue foi efetuada por punção venosa, utilizando-se agulhas especiais com canhões adaptados aos tubos. As amostras biológicas foram etiquetadas com o código de identificação do trabalhador e o registro da data da coleta. Para o acondicionamento e o transporte adequado foram empregadas estantes para manter os tubos em posição vertical em caixas de isopor com gelo.

As caixas de isopor contendo as amostras, mantidas refrigeradas, foram encaminhadas à empresa transportadora. Quando as coletas eram realizadas em data próxima a feriados ou fins de semana, as amostras foram transportadas por membros da equipe até o laboratório de análise.

4.8- Ensaio

A duração média dos ensaios foi de 4 horas, correspondendo à metade da jornada diária de 8 horas.

Foram feitas verificações das condições meteorológicas: altitude, temperatura, velocidade dos ventos, umidade do ar; a calibragem dos bicos para aplicação do produto; orientações quanto à dose a ser aplicada e coleta de amostras da calda.

Durante os ensaios foram coletadas amostras da calda dos tanques de pulverização, a fim de verificar a concentração das mesmas. Essas amostras foram conservadas em geladeira e encaminhadas posteriormente ao laboratório para análise.

Os trabalhos foram observados a certa distância, durante o procedimento de aplicação do agrotóxico, para detectar eventuais problemas que pudessem interferir na pesquisa.

4.9- Análise de resíduos e das amostras de sangue

As roupas externas e internas, as luvas, os protetores de sapato, as gases e os filtros de ar foram analisados quanto à presença de resíduos, utilizando-se o método de análise multi-resíduos.

A avaliação da atividade da colinesterase e a dosagem da colinesterase no sangue total foram efetuadas pelos métodos de Edison e Ellman.

5- RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados são apresentados de acordo com a etapa de desenvolvimento da pesquisa, desde seu planejamento até a realização dos ensaios.

A primeira etapa definida na avaliação da exposição de trabalhadores aos agrotóxicos foi o planejamento do estudo a ser realizado. A pesquisa foi realizada de acordo com o desenho inicial, com o estabelecimento do objetivo do estudo, do material a ser trabalhado, do método a ser utilizado, do tamanho da amostra e da abrangência da pesquisa.

Foi necessário conhecer o agente químico Metamidofós quanto aos principais aspectos físico-químicos e toxicológicos, assim como o tipo de formulação, o modo de aplicação, o equipamento a ser utilizado e a cultura em seria aplicado. Esse conhecimento permitiu melhor aproveitamento da pesquisa.

No caso, o conhecimento da toxicocinética e toxicodinâmica do produto no organismo permitiu a seleção do marcador biológico mais adequado ao propósito do estudo e o tipo de amostra a ser coletada. Nesta seleção foi considerada, também, a existência de metodologia validada para a realização da análise em laboratórios brasileiros.

Foi estabelecido calendário para a realização dos ensaios e efetuados os primeiros contatos com os agricultores. Os dados obtidos no planejamento forneceram subsídios para a elaboração do protocolo da pesquisa.

Paralelamente à elaboração do protocolo, procurou-se obter o material e os equipamentos necessários ao estudo, de acordo com as características e quantidades definidas, para que não ocorressem problemas durante a realização da pesquisa.

As principais dificuldades encontradas referiram-se a:

- A aquisição de material: as roupas protetoras de algodão sem tratamento, as luvas internas de algodão e os protetores de sapato necessitaram de encomenda especial.

- Os filtros de ar foram encomendados no exterior e atrasaram o início dos ensaios, por causa do tempo levado para serem entregues.

5.1- Protocolo de pesquisa

O protocolo da pesquisa incluiu a apresentação das etapas de desenvolvimento do estudo, os métodos e os procedimentos, compreendendo os seguintes aspectos:

- Desenho da pesquisa – título descritivo do experimento, com o estabelecimento de seu objetivo e a descrição do estudo.
- Identificação da substância-teste, referência pelo nome e número CAS.
- Dados toxicológicos do produto.
- Tipo e frequência dos testes, análises e medições.
- Local do estudo e tamanho da amostra.
- Critérios de seleção dos voluntários (trabalhadores).
- Termo de consentimento livre e esclarecido.
- Tipo de formulação empregada; modo de aplicação; procedimentos durante o preparo da calda (concentração); equipamento utilizado na aplicação.
- Material necessário para a realização da pesquisa: roupas protetoras, filtros e bombas de amostragem, frascos para coleta de material biológico, de acordo com o tipo de amostra coletada.
- Metodologia que a ser adotada: amostra a ser examinada, método para coleta da amostra e de análise mais adequada para a pesquisa.

- Procedimentos especiais usados para a identificação dos componentes amostrados.
- Cuidados para a remessa de material.
- Orçamento.
- Laboratórios que realizaram as análises: identificação, boas práticas de laboratório, procedimento operacional padrão (POP), unidade de garantia de qualidade (QUA/UGQ), os eventuais desvios e emendas.
- Registro e manutenção dos dados obtidos.
- Análises estatísticas que serão realizadas e relatório final do estudo.
- Aspectos éticos que a realização da pesquisa deve obedecer e a legislação brasileira em vigor.

Durante a elaboração do protocolo foi efetuado o contato com os laboratórios, para verificar se eles apresentavam condições de realizar as análises desejadas, dentro das boas práticas de laboratório (BPL/GLP). Os métodos de análise deveriam estar devidamente validados, apresentando sensibilidade e especificidade aceitáveis. Procurou-se, também verificar se os laboratórios dispunham de pessoal capacitado, equipamentos adequados, sistema de manutenção dos arquivos e controle de qualidade.

Foi discutida, com o pessoal de laboratório, a melhor maneira de proceder à conservação e remessa das amostras pelo pessoal de campo. Os laboratórios comprometeram-se à receber as amostras em datas e horários combinados com a equipe de pesquisa, assim como informaram o prazo que levariam para a realização das análises e a entrega dos resultados.

O protocolo foi apresentado à Comissão Especial, responsável pela reavaliação do Metamidofós, constituída por membros dos órgãos responsáveis pelo registro de agrotóxicos, que concordou com seus termos. Depois disso, o ele foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa, da Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, obtendo aprovação em “Parecer Consubstanciado”.

5.2- Seleção da localidade

Em consonância com o objetivo da pesquisa, foi feita a seleção das localidades, sobretudo quanto à existência de condições de clima e solo diferentes, nas quais se procedia a cultura de tomate rasteiro para fins industriais, utilizando o Metamidofós para o controle de insetos.

As opções quanto a localidades para essa seleção foram apresentadas por técnicos, que costumam acompanhar a cultura do tomate. Em especial os técnicos das revendedoras dos produtos agrícolas prestaram grande auxílio na identificação e apresentação dos produtores de tomate à equipe de pesquisadores.

Os agricultores foram contatados para identificação e seleção dos locais, conhecimento do período previsto para o plantio, da época e do número de aplicações do inseticida.

Durante o contato com os agricultores, foi explicado o objetivo da pesquisa, procedendo-se ao estabelecimento do cronograma de desenvolvimento da pesquisa. O calendário estabelecido inicialmente não pode ser cumprido, devido à demora na aquisição dos materiais e equipamentos necessários.

O conhecimento prévio do local foi de grande importância, principalmente considerando-se que existem diferentes cenários no país, que nem sempre oferecem os recursos e as instalações necessários ao desenvolvimento da pesquisa. Nesse contexto foram levantados os dados sobre recursos físicos disponíveis, tais como: eletricidade (voltagem), geladeiras, congeladores, venda de gelo, empresas transportadoras, locais para alojar a equipe, facilidades para coleta de amostras biológicas.

5.3- Seleção dos trabalhadores (voluntários)

A seleção dos voluntários para participarem da pesquisa foi feita por indicação dos agricultores e posterior entrevista com o trabalhador. O trabalhador, embora indicado pelo agricultor, teve liberdade de aceitar ou não participar como voluntário.

Em um caso, na Fazenda A do município de Guararapes foi solicitado para que um trabalhador fosse substituído, por causa da informação de ele tinha por hábito consumir muita bebida alcoólica.

Os trabalhadores receberam leitura explicativa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A), no qual estava descrita qual seria a sua participação. Somente, após concordar com os seus termos os trabalhadores foram incluídos na pesquisa como voluntário. O Termo foi assinado, em duas vias, e o participante-voluntário recebeu uma das vias contendo, também informações para procedimentos em caso de necessidade, caso se julgasse lesado quanto à sua saúde.

5.4- Tamanho da amostra

O tamanho da amostra adotado foi de 16 (dezesesseis) trabalhadores, compreendendo oito ensaios: quatro no estado de São Paulo e quatro no estado de Minas Gerais.

5.5- Equipe de pesquisadores

A equipe de pesquisadores foi constituída por um médico, um farmacêutico e um agrônomo. Em Minas Gerais, participaram como observadores dois agrônomos de empresa que formula e comercializa o Metamidofos.

A importância da diversidade de profissões ficou evidente nas diferentes tarefas necessárias durante o período de preparo e da realização dos ensaios, de acordo com as respectivas habilitações e responsabilidades técnicas.

5.6- Rotina

Uma vez providenciados os contatos para identificação dos serviços, tais como laboratórios de análises clínicas, locação de geladeiras e congeladores, empresas transportadoras, empresas revendedoras de agrotóxicos, procedeu-se ao contato com os agricultores para solicitar autorização para a pesquisa.

O cronograma estabelecido na Figura 6, abrangendo três dias para cada fazenda, foi obedecido.

Primeiro dia: os trabalhadores que concordaram em participar da pesquisa, foram submetidos aos exames biométricos, a entrevista médica e a coleta da primeira amostra de sangue. Não foi realizado exame físico ou laboratorial.

Segundo dia: aplicação do agrotóxico, com sistema mecanizado, com trator sem cabina protegida, na qual participavam dois trabalhadores – o tratorista e o manipulador/aplicador.

Terceiro dia: nova coleta de sangue.

5.7- Avaliação da exposição:

A avaliação da exposição foi realizada pela utilização da dosimetria passiva e do monitoramento biológico.

5.7.1- Dosimetria passiva

A dosimetria passiva adotada foi o método do corpo total (*whole body method*) para a avaliação da exposição dérmica. Ela apresenta vantagens em relação ao método com o uso de absorventes colocados em partes do corpo, porque evita os problemas decorrentes da premissa de que a deposição de resíduos é

uniforme e, além disso, não necessita da realização de extrapolações da área de um absorvente para todo o segmento do corpo.

Logo após a conclusão das aplicações, as bombas de amostragem de ar foram desligadas. Em seguida os trabalhadores foram solicitados a se despirem, um de cada vez, seguindo ordem pré-estabelecida: primeiro o visor facial, depois as luvas, os protetores de sapatos, a camisa, a camiseta, as calças, os sapatos, as meias e a cueca. À medida que eram despidas as roupas foram entregues à um membro da equipe para seção e acondicionamento, ainda no campo, em sacos plásticos, devidamente etiquetados, com código da região do corpo e do trabalhador, obedecendo ao estabelecido na Figura 2.

A exposição das mãos foi avaliada pelo uso de luvas internas de algodão sem tratamento e luvas externas de nitrila. Ambas as luvas foram enviadas para análise quanto a presença de resíduos do agrotóxico, separando-se para cada membro correspondente: luva interna esquerda e luva externa esquerda; luva interna direita e luva externa direita.

O trabalhador foi, então, submetido à limpeza da face e do pescoço com gazes embebidas em água que, também, foram acondicionadas em pacote codificado e incluído junto com as outras amostras do mesmo trabalhador.

As amostras testemunhas foram compostas por três coleções completas de roupas e uma bomba de ar acoplada ao filtro. Duas coleções de roupas foram fortificadas, com concentrações diferentes e uma ficou sem tratamento (testemunha alvo). O filtro de ar ficou sem tratamento. Todas ficaram expostas em local distante daquele da aplicação por período de tempo idêntico ao do ensaio (Figuras 11 e 12). Para a exposição da face e pescoço, foram incluídos pedaços de algodão fortificados com duas concentrações diferentes e, como testemunha alvo, foi coletada amostra obtida pela limpeza da face e pescoço de trabalhador da área administrativa, que não lidava com agrotóxico.

O total de amostras coletadas foi de 24 partes de roupas, para cada trabalhador e cada amostra testemunha, tanto as fortificadas como a testemunha alvo sem tratamento.

A avaliação da exposição inalatória foi realizada com o uso de filtros especiais ligados a bombas de amostragem de ar. As bombas e os filtros foram calibrados antes de sua utilização. As bombas foram afixadas na cintura, acima da roupa, e os filtros de ar, colocados na lapela esquerda, próximo à área de respiração.

Após o ensaio, os filtros foram lacrados, embalados e identificados pelo código correspondente a cada trabalhador. Os filtros de ar também foram enviados para análise quanto à presença de resíduos.

Foram coletados 17 filtros de ar para análise, um para cada trabalhador, um para a testemunha alvo. Além disso, foram colhidas as gazes utilizadas na limpeza da face e pescoço, uma para trabalhador, duas fortificações e uma testemunha alvo.

A seção, identificação e acondicionamento das roupas, ainda no campo evita a ocorrência de contaminações e de erros na codificação de cada amostra. Somente o visor facial e as botas não foram submetidos à análise de resíduos.

5.7.2- Monitoramento biológico

O substrato para análise do marcador biológico adotado neste estudo foi o sangue. A seleção do marcador biológico baseou-se na existência de método validado para a análise. A cinética e a dinâmica da substância química Metamidofós no organismo proporcionaram informações sobre os seus efeitos nas enzimas colinesterases, em especial a acetilcolinesterase.

Como tem sido registradas variações inter-individuais no nível das colinesterases, foram coletadas amostras pareadas para análise. As amostras foram coletadas, por isso, antes e depois da aplicação do produto.

A indicação dos laboratórios para realizar a coleta de sangue, no estado de São Paulo, foi feita por médico colega de um membro da equipe de pesquisadores e, posteriormente, por fazendeiros.

No estado de Minas Gerais, a indicação foi de funcionário do Posto de Saúde de Varjão de Minas. Por meio desse contato foi possível obter a colaboração da auxiliar de enfermagem que estava de férias.

O auxiliar de enfermagem que procedeu à coleta de sangue, em ambos os estados, era funcionário de laboratório de análises clínicas da localidade.

No estado de São Paulo as coletas de sangue foram realizadas no laboratório, exceto nos dias em que a data da coleta coincidiu com fins de semana ou feriados. Nessas ocasiões, o técnico do laboratório de Guararapes acompanhou a equipe às fazendas e procedeu à coleta. Foram coletadas 18 amostras de sangue, sendo dez antes da aplicação do produto e oito após a aplicação. As duas amostras adicionais, antes da aplicação do produto, foram devidas ao adiamento da aplicação por causa da ocorrência de chuva.

No estado de Minas Gerais, o trabalho de coleta de sangue contou com um técnico de laboratório, que ficou à disposição para ir até as fazendas proceder às coletas em todas as ocasiões. Foram coletadas 16 amostras de sangue, sendo oito antes e oito após a aplicação do produto.

A Figura 13 mostra as datas das coletas de sangue no estado de São Paulo.

Na Fazenda A foi feita a primeira coleta no dia 2 de julho e a segunda no dia 4 de julho.

Na Fazenda B₁, a coleta pré-aplicação foi no dia 7 de julho. No dia 9 de julho, foram realizadas duas coletas de sangue no mesmo dia: a coleta pós-aplicação onde o

ensaio já havia sido feito (Fazenda B₁) e a da amostra pré-aplicação onde o ensaio estava programado para o dia seguinte (Fazenda B₂). O mesmo procedimento ocorreu no dia 11 de julho, respectivamente para as Fazendas (Fazenda B₂), pós-aplicação e pré-aplicação para a Fazenda C.

Por causa da interrupção devido à ocorrência de chuvas, na Fazenda C houve necessidade de reiniciar os ensaios. Por isso a coleta de sangue pré-aplicação foi realizada em duas ocasiões, no dia 11 e, novamente, no dia 17 de julho.

As coletas de sangue, no estado de Minas Gerais, foram realizadas nos dias 7, 9, 11, 13 e 15 de agosto.

Somente no dia 13 de agosto foram realizadas duas coletas de sangue no mesmo dia: a coleta pós-aplicação na Fazenda E, onde o ensaio já havia sido feito, e a coleta pré-aplicação para a Fazenda F, onde o ensaio estava programado para o dia seguinte.

As amostras receberam as etiquetas de identificação, com as observações quanto ao trabalhador e a data da coleta.

Os tubos de vácuo, contendo as amostras de sangue, foram acondicionados, de modo que pudesse chegar ao laboratório para a análise em boas condições. Para tanto, foi feito contato com o laboratório e estabelecido que o material deveria ser colocado em estantes, dentro de uma caixa de isopor contendo gelo e que deveria chegar ao laboratório dentro de 48 horas.

O acondicionamento das amostras de sangue foi feito de modo cuidadoso, evitando-se que o contato com o gelo pudesse causar rachadura nos vidros.

5.8- Realização do ensaio de campo

Os ensaios no estado de São Paulo foram realizados no período de 2 a 18 de julho de 2003, compreendendo quatro ensaios (Figura 13). Três ensaios foram no município de Guararapes, respectivamente, um na Fazenda A e dois na Fazenda B (B₁, B₂). No município de Rubiácea foi realizado um ensaio na Fazenda C.

Entre os dias 11 e 18 de julho houve interrupção dos estudos devido à ocorrência de chuvas, que impediram a continuação dos trabalhos. Foi preciso realizar o último ensaio uma semana mais tarde. Por isso, as amostras testemunhas foram coletadas em duas ocasiões: nos dias 8 e 17 de julho.

No primeiro contato do médico com os trabalhadores, foi feita entrevista questionando-os sobre a situação atual e pregressa, quanto à sua saúde e verificação da pressão arterial e frequência cardíaca. Não foram realizados exames físico ou laboratorial para comprovação da ausência de problemas de saúde.

Domingo	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado
		1(*)	2	3	4	5
			Coleta de sangue pré-aplicação (A) (**)	Aplicação (A)	Coleta de sangue pós-aplicação (A)	
6	7	8	9	10	11	12
	Coleta de sangue pré-aplicação (B ₁)	Aplicação, fortificações e controle negativo (B ₁)	Coleta de sangue pós-aplicação (B ₁)	Aplicação (B ₂)	Coleta de sangue pós-aplicação (B ₂)	
			Coleta de sangue pré-aplicação (B ₂)		Coleta de sangue pré-aplicação (C)	
13	14	15	16	17	18	
				Coleta de sangue pré-aplicação (C)	Coleta de sangue pós-aplicação (C)	
				Aplicação, fortificação e controle negativo (C)		

(*) Os números referem-se aos dias do mês. (**) As letras maiúsculas, entre parênteses, referem-se às fazendas.

Figura 13 – Cronograma dos ensaios realizados nos municípios de Guararapes e Rubiácea, estado de São Paulo, em julho de 2003.

No estado de Minas Gerais (Figura 14) os ensaios foram realizados no período de 7 a 15 de agosto de 2003. Foram feitos dois ensaios no mesmo dia na Fazenda D, localizada no município de Varjão de Minas; um ensaio na Fazenda E, no município de Patos de Minas; e um ensaio na Fazenda F, no município de Presidente Olegário.

Nesse estado, as amostras testemunhas fortificadas e a sem tratamento foram coletadas em apenas uma ocasião, porque não houve necessidade de alterar o cronograma previsto.

Domingo	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado
					1(*)	2
	4	5	6	7	8	9
				Coleta de sangue pré-aplicação: (D) (**) (***)	Aplicação, fortificações e controle negativo (D)	Coleta de sangue pós-aplicação (D)
10	11	12	13	14	15	16
	Coleta de sangue pré-aplicação (E)	Aplicação (E)	Coleta de sangue pós-aplicação (E)	Aplicação (F)	Coleta de sangue pós-aplicação (F)	
			Coleta de sangue pré-aplicação (F)			

(*) Os números referem-se aos dias do mês. (**) As letras maiúsculas, entre parêntesis, referem-se às fazendas. (***) Na fazenda (E) foram realizados dois ensaios simultaneamente no dia 8.

Figura 14 – Cronograma dos ensaios realizados nos municípios de Patos de Minas, Presidente Olegário e Varjão de Minas, estado de Minas Gerais, em agosto de 2003.

Os trabalhadores referiram, em sua maioria, que usavam normalmente equipamentos de proteção individual (EPIs) para aplicação de agrotóxicos. No entanto, ao final do ensaio observamos que os trabalhadores na Fazenda C estavam limpando os bicos dos pulverizadores com as mãos desprotegidas.

As fazendas não dispunham de locais apropriados para troca de roupas no campo e o trabalhador costuma dirigir-se ao local da aplicação devidamente paramentado.

No dia do ensaio, os trabalhadores tiveram que trocar de roupa na lavoura. Por isso, houve necessidade de improvisar um lugar para que substituíssem toda a roupa, inclusive as roupas íntimas.

É importante, por isso, que entre os materiais e equipamentos levados ao campo constasse algum tipo de biombo ou barraca, para que os trabalhadores pudessem se vestir e despir sem constrangimentos.

O tempo de trabalho com agrotóxicos referido pelos trabalhadores no estado de São Paulo apresentou variação entre 4 meses e 23 anos, com a média de 10 anos e 6 meses. Cinco trabalhadores referiram tempo de trabalho com agrotóxicos superior a 10 anos. Em duas fazendas os proprietários pediram para participar dos ensaios, sendo eles os que apresentaram maior tempo de trabalho com agrotóxicos e maior peso corpóreo.

No estado de Minas Gerais o tempo de trabalho com agrotóxicos variava entre 1 mês a 7 anos, com a média de 3 anos e 3 meses.

As roupas compradas para serem usadas no ensaio foram em sua maioria de tamanho médio. Isto foi efetuado com base na suposição de que os trabalhadores rurais apresentavam estatura mediana. No, entanto, no campo verificou-se que seriam necessárias mais roupas de tamanho grande.

No estado de São Paulo, a aplicação de agrotóxicos é realizada, normalmente, por um tratorista e um acompanhante, que procede à mistura e carga do produto.

No estado de Minas Gerais, nas Fazendas D e F, que eram maiores, a aplicação é normalmente realizada apenas pelo tratorista. Um trabalhador procede à mistura e distribuição do produto diluído para diversos tratores. Esse trabalhador não acompanha o tratorista. Além disso, uma das fazendas já dispunha de trator com cabina protegida.

Para que não houvesse diferença nos procedimentos a aplicação foi realizada, em todas as fazendas, com o tratorista e o acompanhante que também fez a mistura e carga do agrotóxico, utilizando trator sem cabina protegida.

O tempo médio de trabalho, no estado de São Paulo, foi de três horas e 30 minutos, com a média de 13,5 hectares pulverizados. Não houve interrupção para refeições, durante o ensaio.

No estado de Minas Gerais, a duração média do ensaio foi de quatro horas e a área aplicada foi em média de 21,5 hectares. Apesar do tempo decorrido desde o início dos trabalhos, foi solicitado que não houvesse interrupção para refeições.

O tempo gasto na aplicação do Metamidofós, em torno de 4 horas, sem interrupção para refeições, pode ter sido cansativo para os trabalhadores, porém evitou a exposição por via oral com o produto, durante a refeição, e a necessidade de trocar as luvas internas e externas, assim como a coleta de mais uma amostra do lavado de face e pescoço.

A diferença na área trabalhada, em período de tempo aproximadamente idêntico, nos estados de São Paulo e Minas Gerais, pode ter sido devido à diferença na capacidade dos tanques, maiores em Minas Gerais, o que permitia a aplicação com menor necessidade de recarregá-los com o produto.

5.9- Armazenamento das amostras

O armazenamento das amostras constitui item de grande importância, no campo e no laboratório que procederá às análises.

As amostras de sangue ficaram guardadas em geladeira, quando houve necessidade de efetuar a coleta em fins de semana. Nos demais casos, ela era acondicionada e levada à empresa transportadora para remessa no mesmo dia.

O laboratório, ao receber as amostras de sangue, realizavam as leituras das colinesterases, pelos métodos de Ellman e Edison, no mesmo dia.

As amostras de roupa ficaram guardadas em congelador (*freezer*) até o final dos ensaios e, então, levado ao laboratório para pesquisa de resíduos. As amostras de calda foram mantidas em geladeira.

Os laboratórios, que procederam à análise de resíduos mantiveram as amostras em caixas de isopor com gelo até a realização das análises.

5.10 - Remessa do material coletado

Nos dias 4 e 18 de julho, as amostras de sangue foram trazidas pessoalmente por membro da equipe ao laboratório em Campinas, para que chegassem antes de 48 horas para as análises. Houve necessidade de comunicar ao técnico do laboratório para que aguardasse a chegada do material, após o horário de expediente externo.

As demais amostras de sangue foram encaminhadas à empresa transportadora para serem entregues no prazo de 48 horas. Em Campinas, uma pessoa ficou encarregada de apanhar as amostras na empresa e leva-las ao laboratório.

Em Minas Gerais, as amostras coletadas nos dias 7, 9, 11 e 13 de agosto foram encaminhadas por meio de empresa transportadora. Somente as amostras de sangue coletadas no último dia foram trazidas pela equipe ao laboratório de Campinas.

A recepção das amostras de sangue foi definida com antecedência, através da comunicação entre o pesquisador no campo e o pessoal do laboratório, com referência ao material encaminhado e o estado em que foi recebido, sobretudo quanto ao cumprimento do prazo previsto para entrega.

5.11- Consolidação e análise dos dados

Os resultados das análises de resíduos e das amostras biológicas foram consolidados e dispostos para apresentação, em tabelas, mostrando a situação encontrada para cada trabalhador.

No caso das amostras de sangue pareadas, os dois resultados da análise foram dispostos de modo que facilitassem a comparação. Os resultados das leituras pelo método de Edison (Lovibond) são expressas em percentuais, enquanto os do método de Ellman em U.I. (unidade internacional).

Nas análises de resíduos, os resultados são descritos em $\mu\text{g}/\text{peça}$ ou seja a quantidade encontrada em cada parte da roupa analisada.

Os resultados das análises deverão ser mantidos em arquivo pelo tempo estipulado na legislação em vigor.

O relatório final apresentou as análises estatísticas dos dados obtidos e as conclusões inferidas pela pesquisa.

6-
CONCLUSÕES

A utilização da dosimetria passiva pelo método do corpo total, juntamente com o monitoramento biológico, pode constituir mais um instrumento para a avaliação da exposição dos trabalhadores a ser adotada no Brasil.

As roupas, os filtros e os materiais específicos utilizados na pesquisa devem ter especificações detalhadas e encomendadas em tempo hábil, pois não são encontrados facilmente no comércio, sendo que alguns necessitam ser importados.

O cronograma deve ser detalhado, prevendo possibilidade de alternativas para compatibilizar o período de aplicação do agrotóxico a ser pesquisado com a idade da cultura e as condições climáticas.

A equipe de pesquisadores e os laboratórios que irão realizar as análises deverão estar coordenados, de forma a atender às necessidades de atuar no tempo exato e com a qualidade exigida pelas boas práticas de laboratório.

As observações efetuadas durante a pesquisa permitem sugerir a elaboração de diretrizes e orientações, para a utilização da dosimetria passiva pelo método do corpo total e o monitoramento biológico, para a avaliação da exposição dos trabalhadores aos agrotóxicos.

Os seguintes aspectos poderiam ser salientados na elaboração dessas diretrizes e orientações: introdução; planejamento da pesquisa; elaboração do protocolo; a seleção da localidade onde serão realizados os ensaios; definição do tamanho da amostra e a seleção dos trabalhadores; contato com os agricultores; estabelecimento de cronograma de trabalho; escolha da equipe multiprofissional; realização do ensaio; contrato com os laboratórios; coleta e remessa das amostras; análise e consolidação dos dados; elaboração do relatório final.

***7- REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Resolução nº 6, de 14 de outubro de 1999*. Brasília.

Disponível: em:
<<http://www.anvisa.gov.br/regs/resl/2002/54/02rdc.htm>>. Acesso em:
14/9/2004.

BRASIL. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Resolução-RE nº 74, de 21 de junho de 2002*. Brasília, D.O.U. 31/12/02. Disponível

em: <<http://www.anvisa.gov.br/regs/resl/2002/54/02rdc.htm>> . Acesso em:
14/9/2004.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. *Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996*. Brasília. Cad. de Ética em Pesquisa, Ano I, nº 1- julho/1998.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. *Resolução nº 240, de 5 de junho de 1997*. Disponível em <<http://www.hemominas.mg.gov.br/240.htm>>. Acesso em
6/5/2004.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. *Resolução nº 251, de 7 de agosto de 1997*. Disponível em <<http://www.hemominas.mg.gov.br/251.htm>>. Acesso em
6/5/2004.

BRASIL. Presidência da República. *Decreto no. 4.074, de 4 de janeiro de 2002*. Brasília, 2002. 54p. Acesso em: 1/9/2002. Disponível em:
http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/D4074.htm>.

CHESTER, G. Harmonized guidance for the conduct of operator exposition studies. In: Environmental and human health risk assessments for agrochemicals conference. Londres, 1996, 21p. [mimeo].

CORRÊA, C.L.; ALONZO, H.G.A.; TREVISAN, R.M.S. “Avaliação do risco”. IN: OGA, S. *Fundamentos de toxicologia*. 2ª ed. São Paulo, Atheneu Editora, 2003, pp: 69-76.

COVELLO, V.T.; MERKHOFFER, M.W. *Risk assessment methods : approaches for assessing health and environmental risks*. Nova Iorque, Plenum Press, 1993. 318 p.

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA. Environmental Protection Agency (US/EPA). *Guidelines for exposure assessment*. Washington, 1992. Federal Register 57(104): pp. 22888-22938.

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA. Environmental Protection Agency (US/EPA). *Occupational and residential exposure test guidelines: background for application exposure monitoring test guidelines*. OPPTS 875.1000. Washington, DC, 1996. 37p.

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). *Occupational exposure sampling strategy manual*. Jan. 1977. [Publication n° 77-173]. 132p. Disponível em : <<http://www.cdc.gov/niosh///1/5.htm>>. Acesso em: 10/10/2002.

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). *Guide to OSHA/NIOSH/ASTM air sampling methods*. Disponível em:<http://www.skinc.com/NIOSH/FILE_1380.htm>. Acesso em: 04/12/2002.

GIL, L. “Biomarkers as indicators of exposure and susceptibility”. In: The application of risk assessment and management in South America conferente. Rio de Janeiro, 1998. 15p. [Mimeo].

HOFFMAN, B.B. “Drogas e o sistema nervoso”. In: PAGE, C.P.; CURTIS, M.J.; SUTTER, M.C.; WALKER, M.J.A.; HOFFMAN, B.B. *Farmacologia integrada*. 1ª ed., São Paulo, Ed. Manole Ltda. 1999, pp: 93-150.

HOFFMAN, B.B; TAYLOR, P. “Neurotransmission: the autonomic and somatic motor nervous system”. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. (Eds.). *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*. 10ª ed. Nova Iorque, McGraw-Hill, Int. Edition, 2001. Cap. 6, pp: 115-153.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). *Principles for the assessment of food additives and contaminants in food*. Genebra, WHO, 1987. (Env.Health Crit. 70). 174 p.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). *Quality management for chemical safety testing*. Genebra, WHO, 1992. (Env. Health Crit. 141). 112 p.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). *Biomarker and risk assessment : concepts and principles*. Genebra, WHO, 1993. (Env.Health Crit. 155). 82 p.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). *Principles for the assessment to risks to human health from exposure to chemicals*. Genebra: IPCS, WHO. 1999. (Env. Health Crit.210). 86p. Disponível em: <inchem.org/documents/enc/enc/enc210.htm>. Acesso em: 3/9/2002.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). *Human exposure assessment*. Genebra: WHO, UNEP, ILO, 2000. (Env. Health Crit. 214). 269p. Disponível em: <...//A:\EHC214.htm>. Acesso em: 14/2/2002.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). “Meeting report of the IPCS and European Commission (EC)”. *International workshp on approaches to integrated risk assessment*. Ispra, 22-24 de abril de 2001. 13p.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). *Biomarkers in risk assessment : validity and validation*. Genebra: IPCS, WHO. 2001. (Env.Health Crit.222). 171p. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/enc/enc/enc222.htm>>. Acesso em: 7/8/2002.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). “Descriptions of selected key generic terms used in chemical hazard/risk assessment”. *IPCS Joint Project with OECD on the Harmonization of Hazard/Risk Assessment*. Disponível em:

http://www.who.int/ipcs/publications/methods/harmonization/em/terminol_partIII.pdf> Acesso em: 15/10/2004.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). “Harmonization of approaches to the assessment of risk from exposure to chemicals”. *IPCS Harmonization Joint Project_ Exposure Assessment Planning Workogroup_Terminology Subgroup*. Dezembro de 2002. Disponível em: <http://www.who.int/pcs/index.htm>> Acesso em: 15/10/2004.

LEE, L.W.; GRIFFITH, J.; ZENICK, H.; HULKA, B.S. “Human tissue monitoring and specimen banking: opportunities for exposure assessment, risk assessment, and epidemiologic research”, *Env Health Persp.* Vol.1, supp. 3, abril 1995. 11p. Disponível em: <<http://ehpnet1.nihs.nih.gov/docs/1995/suppl-3/intro-lee.html#3>> Acesso em 7/10/2003.

LEIDEL, N.A.; BUSCH, K.A.; LYNCH, J.R. *Occupational exposure strategy manual*. Washington, D.C.: DHHS (NIOSH). Publication no. 77-173, Jan. 1977. 150p. Disponível em:< <http://www.cdc.gov/niosh>>. Acesso em 10/10/2002.

LUNDEHN, J.R.; WESTPHAL, D. “Uniform principles for safeguarding the health of applicators of plant protection products (uniform principles for operator protection)”. Berlin: Heft 277, 1992, pp: 61-90.

MACHADO NETO, J.G. Estimativas do tempo de trabalho seguro e da necessidade de controle da exposição dos aplicadores de agrotóxicos. Jaboticabal, 1997 [Tese de Livre Docência]. 83p.

MEHRY, E.E. A reestruturação produtiva na saúde, a produção do cuidado e a cartografia do trabalho vivo em ato. Campinas, 2001. Recebido via e-mail, em 2001. 148p.

MARONI, M.; FERIOLI, A. “Pesticidas – biological monitoring”. In: III Encontro italo-brasileiro de toxicologia ocupacional – o desafio do século XXI para a toxicologia ocupacional e ambiental. [Temas de apoio para as palestras]. São Paulo, 10-12/9/2001. 9p.

MUTTI, A. “Biomarkers of exposure and effect for non-carcinogenic end-points”. In: *Biomarkers in risk assessment: validity and validation*. Appendix II Genebra, 2001. (Env.Health Criteria 222). pp: 71-105. Disponível em : <www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc222.htm>. Acesso em : 7/8/2002.

OGA, S. “Toxicocinética e toxicodinâmica”. In: *Fundamentos de toxicologia*. São Paulo, Atheneu Ed. 2003, pp.:8-35.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). *Guidance document for the conduct of studies of occupational exposure to pesticides during agricultural application*. Paris, 1997. (Series on Testing and Assessment n° 9). 57 p.

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. *Eckert – Fisiologia animal: mecanismos e adaptações*. 4ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2000. 729 p.

TAYLOR, P. “Anticholinesterase agents”. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. (Eds.). *Goodman & Gilman’s The pharmacological basis of therapeutics*. 10ª ed. Nova Iorque, McGraw-Hill, Int. Edition, 2001. Cap. 8, pp: 175-91.

TIMBRELL, J.A . “Biomarkers in toxicology”. Nova Iorque, Elsevier, *Toxicology* , vol. 129 (1): pp 1-12, 1998. (Special Issue).

TREVISAN, R.M.S. Regulamentação do registro de agrotóxicos: abordagem da avaliação da exposição e do risco toxicológico ocupacional. Campinas, 2002 [Tese de mestrado] 158p.

8 - ANEXOS

ANEXO A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto: Avaliação da exposição dos trabalhadores durante a aplicação do METAMIDOFOS

Responsável : Elia T. Kotaka – CRM/ PR 2320

Eu, _____, _____ anos de idade,
RG n° _____, residente à _____, n° _____

no município de _____, Estado de _____,
aceito participar como voluntário no trabalho de pesquisa denominado “Estudo da exposição dos trabalhadores durante a aplicação do inseticida e acaricida METAMIDOFOS formulado, em cultura do tomate rasteiro, industrial, no Brasil, através da dosimetria passiva e biomonitoramento”, cujo diretor da pesquisa é a Dra. Elia Tie Kotaka, telefone (019) 3294 7912.

Declaro, também, que tenho pleno conhecimento da seguintes informações:

1. Que o inseticida/ acaricida METAMIDOFOS é um agrotóxico registrado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, para ser comercializado no Brasil.
2. Que o inseticida/ acaricida METAMIDOFOS está autorizado para ser utilizado na cultura do tomate rasteiro, industrial.
3. Que o propósito da pesquisa é determinar a exposição cutânea e inalatória potencial de trabalhadores, durante a preparação da

calda/carga e pulverização do METAMIDOFOS, utilizando pulverizador tratorizado.

4. Que será colhido sangue da veia, um dia antes e um dia após o manuseio e aplicação do METAMIDOFOS.
5. Que a punção venosa poderá deixar a área da picada, levemente dolorida e com mancha arroxeadada (hematoma).
6. Que receberei resposta a qualquer pergunta e/ou esclarecimento sobre minhas dúvidas a respeito de assuntos relacionados com a pesquisa.
7. Que será assegurado o sigilo absoluto e o caráter confidencial das informações.
8. Que a minha identidade não será revelada nos relatórios e nem nas eventuais publicações científicas.
9. Que serei atualizado sobre qualquer nova informação ou alteração durante o estudo que não será devida pelos produtores do METAMIDOFOS, qualquer remuneração pela minha participação nesse estudo.
10. Que qualquer problema que tiver, relacionado com o uso do produto, poderei contatar a Diretoria da pesquisa a dra. Elia T. Kotaka, pelo telefone (019) 3294 7912.
11. Que qualquer problema que eu tenha, decorrente da realização do trabalho, serei acompanhado por equipe médica designada pelo projeto, e será garantido o atendimento médico e o fornecimento do tratamento e medicações adequados.
12. Que qualquer recurso ou reclamação poderei contatar o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, através do telefone (019) 3242 7022.

13. Que a pesquisa será realizada através da dosimetria passiva (medição dos resíduos do produto na roupa e ar) e monitoramento biológico (colinesterase no sangue).
14. Que a duração do estudo será de 3 dias.
15. Que durante o dia da aplicação do produto serão utilizadas roupas de proteção (EPI), segundo instruções do rótulo do produto e normas do Ministério do Trabalho. Além disso, serão efetuados procedimentos de higiene específicos e utilizados instrumentos de coleta de ar. Desse modo, será feita a quantificação de resíduos do produto nas roupas, pele e ar inalado.
16. estudo, podendo deixar de participar da pesquisa se assim quiser.

_____, _____ de _____ de 2003.

Assinatura do voluntário

Assinatura do responsável

ANEXO B

FICHA MÉDICA

1. Nome:
2. Idade: Data de nascimento:
3. Peso: kg Altura: F.C.: P. A.:
4. Endereço:
5. Telefone:
6. Tempo que trabalha com praguicidas:
7. Teve algum acidente, durante a aplicação de agrotóxicos?

Em caso positivo, descrever o tipo de acidente:
8. Histórico pessoal:
 - 8.1 Antecedentes quanto a doenças:
 - 8.2 Apresenta alguma doença atualmente?

Elia Tie Kotaka – CRM/PR 2320

9 - GLOSSÁRIO

Análise do risco – processo para controle de situações onde um organismo, um sistema ou uma (sub) população pode estar exposta a um perigo.

Avaliação do risco – processo que objetiva estimar ou calcular a probabilidade da ocorrência de um evento danoso ao organismo.

Biomarcador – alteração induzida por uma substância química estranha ao organismo e que pode ser detectada em uma amostra biológica.

Caracterização do risco – descrição dos diferentes potenciais de efeitos adversos à saúde e a quantificação das relações entre a dose e o efeito ou resposta. Constitui a terceira etapa da avaliação do risco toxicológico.

Dose-resposta - é a relação entre a magnitude da exposição e as alterações ocorridas no organismo. A avaliação da dose-resposta é a segunda etapa da avaliação do risco.

Dose sem efeito – é a quantidade de substância que não causa alteração no organismo.

Dosímetro - instrumento que permite medir a exposição.

End-point – efeito adverso que se deseja pesquisar. Constitui característica toxicológica mensurável como parâmetro do sistema de teste, que é escolhido como critério de avaliação mais importante.

Exposição – contato entre um agente e o alvo.

Margem de segurança – parâmetro calculado a partir da dose sem efeito adverso observado e o fator de segurança ou incerteza.

Perigo – termo qualitativo que expressa o potencial de um agente químico em causar dano à saúde. A identificação do perigo é a primeira etapa da avaliação do risco toxicológico.

Reentrada – termo empregado para referir à entrada do trabalhador em área tratada com agrotóxico, seja para realizar a inspeção da cultura ou para efetuar a colheita do produto cultivado.

Risco toxicológico – é a probabilidade da ocorrência de um efeito adverso em um organismo, sistema ou (sub) população causada em circunstâncias específicas sob a exposição a um agente.

Toxicocinética – caminho percorrido no organismo pela substância química, consistindo na absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME).

Toxicodinâmica – é o processo de interação das substâncias químicas com os locais alvo e as subsequentes reações, causando efeitos adversos.

Trabalho vivo em ato - trabalho de um indivíduo, observado durante sua realização.

Validação – processo pelo qual a confiabilidade e relevância de determinada abordagem, método, processo ou avaliação é estabelecido para um propósito específico.

Valor umbral (*threshold value*) – é a dose do agente abaixo da qual não ocorrem efeitos adversos.

Via de exposição – modo pelo qual um organismo entra em contato com o agente físico ou químico.