

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Avaliação ocupacional em indivíduos expostos a diferentes classes de agrotóxicos

LARISSA VIVAN CESTONARO

PORTO ALEGRE, 2018



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Avaliação ocupacional em indivíduos expostos a diferentes classes de agrotóxicos

Dissertação apresentada por **Larissa Vivan Cestonaro** para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Dutra Arbo

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Solange Cristina Garcia

Porto Alegre, 2018

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e aprovada em 28.03.2018 pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Diogo André Pilger

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Eliane Dallegrave

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Profa. Dra. Luciana Grazziotin Rossato Grandó

Universidade de Passo Fundo (UPF)

CIP - Catalogação na Publicação

VIVAN CESTONARO, LARISSA  
Avaliação ocupacional em indivíduos expostos a  
diferentes classes de agrotóxicos / LARISSA VIVAN  
CESTONARO. -- 2018.  
142 f.  
Orientador: MARCELO DUTRA ARBO.  
  
Coorientadora: SOLANGE CRISTINA GARCIA.  
  
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,  
BR-RS, 2018.  
  
1. TOXICOLOGIA. 2. AGROTÓXICOS. 3. EXPOSIÇÃO  
HUMANA. 4. METAIS. I. DUTRA ARBO, MARCELO, orient.  
II. GARCIA, SOLANGE CRISTINA, coorient. III. Título.

Este trabalho foi desenvolvido sob a orientação do Prof. Dr. Marcelo Dutra Arbo e co-orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Solange Cristina Garcia, no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia do Rio Grande do Sul. A pesquisa foi financiada pelo projeto CNPq/Universal (nº420379/2016-9). Larissa Vivan Cestonaro recebeu bolsa de mestrado CAPES.



*“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá”. (Ayrton Senna)*





## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a DEUS, por ter permitido que eu chegasse até aqui para a concretização desse sonho.

À professora Dra. Solange Cristina Garcia e ao professor Dr. Marcelo Dutra Arbo, pela paciência e compreensão durante todo este tempo, além da oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa e orientar este trabalho.

À minha família, por todos os momentos de apoio, amor, carinho e compreensão. Agradeço especialmente à minha mãe, Carmivera, por todo esforço e por sempre acreditar em mim. Um agradecimento especial também aos meus avós, Evôni e Clair, obrigada pelo amor incondicional. Foram dois anos muito turbulentos mas mostramos que somos mais fortes que nossas dificuldades. Amo vocês!

Aos meus tios, Dalberto e Maria Aparecida. Agradeço pelo apoio, cuidado e carinho. Obrigada por terem me recebido aqui em Porto Alegre para estudar e realizar mais um sonho em minha vida, serei eternamente grata a vocês!

Ao meu namorado, William. Obrigada pelos abraços, por me fazer sorrir nos momentos mais difíceis e pelas cervejas nos momentos de descontração. Enfim, pelo amor, amizade e companheirismo de sempre.

Aos meus amigos e amigas, os antigos e os que fiz nestes dois anos e meio de moradia em Porto Alegre. Obrigada por toda cumplicidade e pelos bons momentos compartilhados nessa jornada. Mesmo que em muitos estive distante fisicamente, em pensamento e por mensagens me fiz presente.

À todos os integrantes do LATOX. O meu muito obrigada pela amizade, pelas risadas, pelos ensinamentos e pelo árduo trabalho realizado durante as coletas. Agradeço pela ajuda de cada um de vocês na realização deste trabalho.

Às demais pessoas que não foram citados, mas que de alguma forma se preocuparam, rezaram e contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Às Escolas do município de Agudo-RS: E.M.E.F. Três de Maio, E.M.E.F. Sete de Setembro e ao Banco do Estado do Rio Grande do Sul S.A. de Porto Alegre-RS, por terem aceitado fazer parte desse trabalho.

À Pró-Reitoria de Extensão (PROEXT) e Programa de Iniciação Científica (BIC-UFRGS), por ter concedido bolsa de iniciação científica e extensão. Proporcionando a participação dos bolsistas LATOX no desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas por me proporcionar a oportunidade em realizar uma pós-graduação e pela estrutura oferecida para que isso fosse possível.

Ao CNPq, que através da aprovação do projeto Universal, ter financiado este projeto.

Por fim, agradeço à CAPES pelo fomento através da concessão da bolsa.

## RESUMO

O uso de produtos químicos nas práticas agrícolas modernas, ao longo das últimas décadas, apresentou uma considerável expansão. Entretanto, considerando o uso irracional dos agrotóxicos, os agricultores também estão expostos a uma mistura de xenobióticos. Neste trabalho, foram avaliados por meio de parâmetros hematológicos, bioquímicos e imunológicos, os efeitos relacionados à exposição à agrotóxicos e metais em agricultores ( $n = 62$ ) provenientes de uma área rural e de indivíduos de uma área urbana não expostos ( $n = 54$ ) a agrotóxicos do estado do Rio Grande do Sul. Os agricultores demonstraram ter uma inibição significativa na atividade da AChE nos eritrócitos ( $p < 0,01$ ), evidenciando à exposição destes indivíduos à agrotóxicos inibidores da ChE. Além disso, os agricultores também apresentaram níveis aumentados de glicose, ureia ( $p < 0,01$ ), LDH ( $p < 0,05$ ), proteínas totais, IgM, complemento C3 ( $p < 0,01$ ) quando comparado com os indivíduos não expostos, mas dentro dos valores de referência e na expressão de LFA-1 ( $p < 0,05$ ) e ICAM-1 ( $p < 0,01$ ) em linfócitos. Observou-se também uma diminuição significativa na expressão de LFA-1 e ICAM-1 ( $p < 0,01$ ) em monócitos em comparação com indivíduos não expostos. Adicionalmente, correlações de Spearman foram observadas entre: BuChE e IgG ( $p < 0,05$ ), indicando que a exposição à agrotóxicos e metais pode estar relacionada a um estado pró-inflamatório em indivíduos expostos; e entre a atividade da AChE e a expressão de LFA-1 ( $p < 0,05$ ) e ICAM-1 ( $p < 0,05$ ) em monócitos e L-selectina em linfócitos e monócitos ( $p < 0,05$ ), apontando alterações relacionadas a imunotoxicidade dos agrotóxicos e metais. Neste estudo foi possível observar alterações na saúde em uma população exposta a agrotóxicos e metais.

Palavras-chave: Agrotóxicos; metais; colinesterase; imunoglobulinas; moléculas de adesão.



## ABSTRACT

The use of chemicals in modern agricultural practices is expanding considerably. However, in addition to the irrational use of pesticides, farmers are also exposed to a mixture of xenobiotics. In this work, haematological, biochemical and immunological parameters related to exposure to pesticides were evaluated in farmers (n = 62) from rural area and non exposed individuals (n = 54) from an urban area in the state of Rio Grande do Sul. The farmers showed a significant inhibition of AChE activity in erythrocytes (p <0.01), evidencing the exposure of these individuals to pesticides inhibitors of ChE. In addition, farmers also had increased levels of glucose, urea (p <0.01), LDH (p <0.05), total protein, IgM, C3 complement (p <0.01) when compared with (p <0.05) and ICAM-1 (p <0.01) expression in lymphocytes. There was also a significant decrease in the expression of LFA-1 and ICAM-1 (p <0.01) in monocytes compared to non-exposed individuals. Additionally, Spearman correlations were observed between: BuChE and IgG (p <0.05), indicating that exposure to pesticides and metals may be related to a proinflammatory state in exposed individuals; and between AChE activity and expression of LFA-1 (p <0.05) and ICAM-1 (p <0.05) in monocytes and L-selectin in lymphocytes and monocytes (p <0.05), pointing changes related to the immunotoxicity of pesticides and metals. In this study it was possible to observe changes in health in a population exposed to pesticides and metals.

Keywords: Pesticides; metals; cholinesterase; immunoglobulins; adhesion molecules.



## **APRESENTAÇÃO**

Esta dissertação está estruturada na forma de encarte de publicação submetidas e dividida em seções da seguinte maneira: Introdução, Objetivos, Revisão da Literatura, Artigo científico submetido presente no Capítulo I, Discussão, Conclusão, Referências Bibliográficas e Anexos.

A Introdução apresenta o embasamento teórico que nos levou ao desenvolvimento desta proposta de trabalho. Os Materiais, Métodos, Resultados e as Referências específicas encontram-se no corpo do manuscrito, denominado Capítulo I.

A seção Discussão contém uma interpretação geral dos resultados obtidos. A seção Conclusões aborda as conclusões gerais dos principais resultados da dissertação.

A seção Referências Bibliográficas lista a bibliografia utilizada nas seções Introdução e Discussão da dissertação.

A seção “Anexos” contém o comprovante de submissão do artigo e o modelo do termo de consentimento livre esclarecido.





## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AChE</b>	Acetilcolinesterase
<b>As</b>	Arsênio
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>BH</b>	Biomonitoramento Humano
<b>BuChE</b>	Butirilcolinesterase
<b>CB</b>	Carbamatos
<b>Cd</b>	Cádmio
<b>ChE</b>	Colinesterase
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<b>Cr</b>	Cromo
<b>EPIs</b>	Equipamentos de Proteção Individual
<b>ESF</b>	Estratégia de Saúde da Família
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IFA</b>	<i>International Fertilizer Industry Association</i>
<b>Hg</b>	Mercúrio
<b>IN</b>	Instrução Normativa
<b>NR</b>	Norma Regulamentadora
<b>OPs</b>	Organofosforados
<b>Pb</b>	Chumbo
<b>PNAD</b>	Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i>



## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	21
<b>OBJETIVOS</b> .....	27
1. Objetivo geral.....	29
2. Objetivos Específicos .....	29
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	31
1.1 Agricultura e saúde do trabalhador rural.....	33
1.2 O trabalho das mulheres no ambiente rural.....	35
1.3 Atividades agrícolas e o uso de equipamentos de proteção individual.....	36
1.4 Exposição a agrotóxicos e efeitos sobre a saúde.....	38
1.5 Exposição a metais e efeitos sobre a saúde.....	41
1.6 Biomonitoramento de populações expostas .....	44
<b>CAPÍTULO I: ARTIGO</b> .....	48
Exposure to pesticides induce biochemical and immunological alterations in farmers	
<b>DISCUSSÃO</b> .....	85
<b>CONCLUSÃO</b> .....	96
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	100
<b>ANEXOS</b> .....	101
ANEXO I: Carta de Confirmação da Submissão do Artigo.....	102
ANEXO II: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS.....	103
ANEXO III: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Expostos.....	104
ANEXO III: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Controles.....	106
ANEXO IV: Questionário de Avaliação.....	108







O uso de produtos químicos nas práticas agrícolas modernas, ao longo das últimas décadas, apresentou uma considerável expansão, com a necessidade de se utilizar largas proporções de agrotóxicos, aumentando, desta forma, a preocupação com a saúde ambiental e humana (RAKSANAM, et al., 2012). A principal utilização dos agrotóxicos está na produção de culturas a fim de reduzir as infestações por pragas, diminuindo as possíveis perdas (DAMALAS, 2009). Entretanto, o uso irracional dos agrotóxicos pode levar a efeitos indesejados em indivíduos expostos ambiental e ocupacionalmente (MARTÍNEZ-VALENZUELA et al., 2009), uma vez que a sua toxicidade é inevitável e a exposição a estes compostos pode ocorrer através de diferentes vias (MOSTAFALOU e ABDOLLAHI, 2012).

Além dos agrotóxicos, indivíduos que moram nos países em desenvolvimento, estão expostos a níveis elevados de metais (DOMÍNGUEZ-CORTINAS et al., 2013). Embora os metais estejam naturalmente presentes no solo, a maior parte dos casos de exposição humana e contaminação ambiental resultam de atividades antropogênicas, como a prática agrícola. Em tal atividade, as concentrações desses elementos encontram-se aumentadas, sendo prejudiciais para plantas e animais, incluindo os seres humanos (BRADL, 2005).

Desta forma, os organismos vivos presentes na natureza, estão frequentemente expostos a uma mistura de xenobióticos, como metais, agrotóxicos, gases tóxicos, etc (OMIECINSKI et al., 2011; OESCH et al., 2014). As interações entre os agrotóxicos e metais podem afetar suas toxicidades, resultando em um aumento ou diminuição de seus efeitos tóxicos, através de efeitos adversos aditivos, sinérgicos ou antagônicos. Da mesma maneira, essa interação também pode ser responsável pelo efeito cumulativo de ambos no organismo humano (CHEN et al., 2013; HE et al., 2015).

Neste contexto, os trabalhadores rurais estão em risco, pois apresentam exposições cumulativas quando comparados com a população em geral (ALAVANJA et al., 2004; ALAVANJA e BONNER, 2012). Tais exposições ocorrem por contato dérmico, inalatório e por via oral, através do consumo de alimentos contaminados, podendo acarretar várias consequências para a saúde desta população (SHARMA et al., 2017).

Vários exemplos dos efeitos adversos associados a agrotóxicos e exposições ocupacionais já foram relatados na literatura pelos pesquisadores (VALENTINO et al., 2004; FENGA, 2016), resultando no desenvolvimento de doenças malignas, neurodegenerativas, reprodutivas, respiratórias, metabólicas e de desenvolvimento (MOSTAFALOU e ABDOLLAHI, 2017). Assim como a exposição a agrotóxicos, exposições crônicas a metais também estão relacionadas a um aumento na susceptibilidade a doenças, como diabetes, doenças cardiovasculares e neoplasias (KAKKAR e JAFFERY, 2005).

Torna-se evidente que os agrotóxicos e os metais coexistem no ambiente rural, sendo necessário investigar os efeitos sobre a saúde provocados pela exposição crônica a estes xenobióticos, mesmo em baixas doses. Além disso, é importante estudar a toxicidade de misturas químicas (e não apenas seus constituintes individuais), para que assim, possa ser possível esclarecer seu papel no desenvolvimento de doenças crônicas, uma vez que existem poucos estudos com este enfoque.

Desde 2008, o Brasil passou os Estados Unidos, tornando-se o maior consumidor de agrotóxicos da América (ANVISA, 2012; SANTANA et al., 2013). Anualmente, são consumidos no Brasil mais de 300 mil toneladas de agrotóxicos, dado que, mundialmente esse valor é de cerca de 2,5 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2018).

O Rio Grande do Sul é um dos estados brasileiros que mais se destaca na utilização destes produtos (EMBRAPA, 2018). A população que vive na área rural, com hábitos agrícolas, corresponde a cerca de 20% do total de habitantes da região central do estado do Rio Grande do Sul, e a agricultura é uma das principais atividades econômicas da região, sendo a mais rentável e a que mais gera emprego, segundo o Atlas Socioeconômico do Estado do Rio Grande do Sul publicado pela Secretaria de Planejamento, Governança e Gestão (SPGG/RS, 2016).

Os agrotóxicos podem ser classificados como: inseticidas, fungicidas, herbicidas, nematicidas, acaricidas, rodenticidas, moluscidas, formicidas, reguladores e inibidores de crescimento, baseando-se no poder de ação do ingrediente ativo sobre o organismo alvo e a finalidade de uso. Dentre todos os



grupos de agrotóxicos existentes no Brasil, as três principais classes, que representam aproximadamente 95% do consumo mundial de agrotóxicos, são: (a) os herbicidas (48%), dentre os quais, o glifosato é o mais comercializado; (b) os inseticidas (25%), representados pelos organofosforados (OPs) e carbamatos (CB), que são inibidores da colinesterase (ChE), piretróides; e (c) os fungicidas (22%), sendo os principais ativos deste grupo os ditiocarbamatos e os benzimidazóis (AGROW, 2007).

Deste modo, no presente trabalho foi realizado a quantificação de biomarcadores de exposição e efeito em trabalhadores rurais, de ambos os sexos, do Estado do Rio Grande do Sul, cujos resultados foram comparados a um grupo da área urbana, com as mesmas características, porém, composto por indivíduos não expostos ocupacionalmente a agrotóxicos e metais.







## **1. Objetivo geral**

Avaliar o efeito da exposição ocupacional crônica a xenobióticos, tais como agrotóxicos e metais, sobre a saúde de trabalhadores rurais, que residem em uma região agrícola no centro do Estado do Rio Grande do Sul.

## **2. Objetivos Específicos**

- Avaliar biomarcadores de exposição a agrotóxicos organofosforados e carbamatos;
- Avaliar as concentrações sanguíneas de elementos tóxicos (As, Cd, Cr, Mn, Ni e Pb);
- Avaliar o efeito da exposição aos agrotóxicos sobre a pressão arterial;
- Avaliar o efeito da exposição aos agrotóxicos sobre parâmetros hematológicos;
- Avaliar o efeito da exposição aos agrotóxicos sobre o perfil glicêmico;
- Avaliar o efeito da exposição aos agrotóxicos sobre a função hepática;
- Avaliar o efeito da exposição aos agrotóxicos sobre a função renal;
- Avaliar o efeito da exposição dos agrotóxicos sobre o sistema imunológico;









## 1.1 Agricultura e saúde do trabalhador rural

A prática agrícola é desempenhada pela humanidade há mais de dez mil anos, entretanto, o uso de agrotóxicos nas lavouras foi introduzido há pouco mais de meio século (LONDRES, 2011). Nas últimas três décadas, a agricultura brasileira alcançou um forte crescimento e o setor agrícola tem um papel importante no desempenho econômico. Quando comparada à produção registrada em 1990, a agricultura mais do que dobrou de volume e o setor de exportação agrícola e das indústrias agroalimentares passaram a desempenhar um papel fundamental nos mercados internacionais (IBAMA, 2010; SANTANA et al., 2013; FAO e OECD, 2015).

O Brasil, desta forma, é o segundo maior exportador agrícola mundial e o maior fornecedor de açúcar, suco de laranja e café (IBAMA, 2010; SANTANA et al., 2013; FAO e OECD, 2015). Do mesmo modo, é um grande produtor de milho, arroz e carne bovina – cuja maior parte é consumida pelo mercado interno. Em 2013, o Brasil ultrapassou os Estados Unidos como o maior fornecedor de soja e tornou-se um significativo exportador de fumo e aves (FAO e OECD, 2015). O Estado do Rio Grande do Sul adquiriu uma posição de destaque neste setor, sendo um dos principais produtores brasileiros de arroz, soja e tabaco (BENEDETTI et al., 2013; SINDITABACO, 2016).

O interesse em avaliar e quantificar as exposições a produtos químicos e suas misturas tem aumentado na comunidade científica, uma vez que estas exposições podem afetar a saúde humana e merecem atenção (TSATSAKIS et al., 2016, 2017). Em todo o mundo, este interesse é evidenciado e crescente, principalmente no que diz respeito a saúde de populações rurais (JAGA e DHARMANI, 2003). Estudos de biomonitorização humana mostram que populações de diversas áreas geográficas estão expostas, ao longo de suas vidas, a um grande número de produtos químicos. Conforme Nachman et al. (2011), essas exposições ocorrem em doses intermitentes e inconsistentes. Tais substâncias são nocivas ao homem, perduram no ambiente rural e podem ser absorvidas por inalação, contato dérmico e por via oral (BUDNIK e BAUER, 2009).

No Brasil, aproximadamente 30 milhões de trabalhadores estão submetidos aos riscos e agravos das condições do trabalho rural (IBGE, 2012). A identificação de morbidades que acometem a saúde destes indivíduos, assim como suas condições gerais de saúde, ajuda nos determinantes e condicionantes de saúde no ambiente rural (SEVERO et al., 2012). Além disso, tais características subsidiam o planejamento de 20% da população economicamente ativa do país (IBGE, 2012).

Destaca-se que os agricultores estão expostos não apenas a produtos químicos, uma vez que a ação conjunta de múltiplos estressores também pode atuar como determinantes de doenças (como o estilo de vida, perfil socioeconômico, agentes biológicos, etc). A compreensão das exposições a misturas químicas e seus efeitos associados à saúde exige que diferentes áreas da ciência, particularmente a toxicologia e a epidemiologia, contribuam de maneira integrada para a obtenção de dados (CARLIN et al., 2013).

Estudos realizados nos Estados Unidos, Austrália, Canadá e Escócia demonstram que populações rurais apresentam um estado de saúde inferior quando comparadas aos moradores da área urbana (TECKLE et al., 2012). Diferentemente do contexto urbano, populações rurais apresentam características distintas, como a baixa escolaridade e rendimento salarial, e o difícil acesso ao comércio, serviços de saúde especializados e sociais (ADAMI et al., 2011). No que se refere a saúde, os padrões destes indivíduos são condicionados por diversos fatores decorrentes das condições de vida a que estão submetidos (ADAMI et al., 2011). Por exemplo, o consumo de álcool, tabaco e a prática de atividade física podem influenciar no desenvolvimento ou não de doenças (FREEMAN, 2009).

Quando comparado com a população em geral, os agricultores apresentam menores índices de certos tipos de câncer (pulmão, bexiga e cólon). Entretanto, exibem excessos de outros, incluindo câncer de lábios, pele, cérebro, sistema linfático e hematopoiético (FREEMAN, 2009). Embora as exposições possam iniciar ou acelerar processos de doenças, a genética pode afetar na susceptibilidade a patologias e, na falta de fatores de riscos genéticos, a doença pode não se desenvolver. Tal fato pode ser justificado por uma provável interação gene-ambiente na maioria dos casos, já que, apesar de um grande número de indivíduos se exporem regularmente a estes produtos, nem todos desenvolvem a doença, apenas

aqueles que carregam uma vulnerabilidade genética (HERNÁNDEZ e TSATSAKIS, 2017).

Os metais são naturalmente encontrados no meio ambiente, estando presentes no ar, água e solo (KRISHNA e MOHAN, 2014). Entretanto, tais elementos também podem estar presentes na composição de produtos químicos como contaminantes ou resíduos de processos sintéticos onde são utilizados como catalisadores. Assim, em áreas rurais, uma das principais fontes de contaminação ambiental por metais pode estar relacionada ao uso de agrotóxicos (GORMANNING et al., 2011). Independente do caminho do agrotóxico no meio ambiente, ou do modo de aplicação, na maior parte das vezes, além de atingirem o ser humano, eles afetam os solos e as águas. Tal fato ocorre principalmente devido aos ventos e à água das chuvas, que promovem a deriva, a lavagem das folhas tratadas, lixiviação e a erosão (DA SILVA et al., 2013). Neste sentido, faz-se necessário estudar esta população quanto a avaliação da exposição a estes produtos químicos. No contexto tóxico-epidemiológico, isto é fundamental para se compreender os possíveis efeitos causados por estes agrotóxicos e melhorar a qualidade de vida.

## **1.2 O trabalho das mulheres no ambiente rural**

A agricultura brasileira se destaca entre as maiores do mundo e dentre os variados modos de se fazer agricultura, destaca-se a produção agrícola familiar. A agricultura familiar no Brasil é crescente e reconhecida pelos seus subsídios, tendo a participação de mulheres, crianças e idosos (DELGADO, 2017). A contribuição das mulheres é essencial para a economia agrícola e rural em países em desenvolvimento. O papel desempenhado pela mulher varia consideravelmente entre regiões, mudando e transformando o setor agrícola (FAO, 2011).

Mulheres dedicam-se a tarefas agrícolas semelhantes às dos homens (embora com intensidade diferente) (HOPPIN et al., 2008), compondo, cerca de 43% da força de trabalho agrícola global variando apenas entre idade, classe social, regiões e países (FAO, 2011). Em um estudo realizado nas Filipinas, o padrão de envolvimento das mulheres na agricultura é homólogo ao sexo masculino (LU, 2007). Nos países em desenvolvimento, a maioria das mulheres trabalham na agricultura ou vivem em ambientes expostos a agrotóxicos (ILO, 2009). A exposição

nas mulheres também se dá através da lavagem de trajes contaminados com agrotóxicos, implicando na saúde deste grupo de forma aguda e crônica (RAO et al., 2006).

Quando comparadas aos homens, as mulheres apresentam diferentes fatores físicos e bioquímicos e encontram-se mais predispostas a maiores riscos à saúde e segurança (MCCOY, et., 2002). Além disso, mulheres são mais propensas a acumular substâncias químicas e problemas de saúde decorrentes a estas exposições, afetando diversos mecanismos biológicos femininos (RIBASFITO, 2006) e predispondo as mulheres a certas doenças (MCCOY, et., 2002).

### **1.3 Atividades agrícolas e o uso de equipamentos de proteção individual**

No Brasil, a utilização de agrotóxicos em áreas rurais tem trazido uma série de consequências, tanto ambientais quanto para a saúde dos agricultores (PERES et al., 2005; MONQUERO et al., 2009). Por se tratar de um país em desenvolvimento, este cenário é agravado por uma série de determinantes de ordem cultural, social e econômica (PERES et al., 2005). Os problemas enfrentados por agricultores implicam desde a exposição aos agrotóxicos proibidos/restritos em outros países, como também a prática de técnicas de aplicação incorretas, má conservação ou inadequação nos equipamentos de pulverização, práticas de armazenamento inadequadas e até a reutilização de antigos recipientes de agrotóxicos (ECOBICHON, 2001; ASOGWA e DONGO, 2009). Aliado a isso, existe também a pressão exercida pela indústria e o comércio para a utilização de agrotóxicos, a ausência de informações adequadas e de fácil entendimento sobre saúde e segurança, bem como a precariedade nos sistemas de vigilância destas áreas (PERES et al., 2005).

Inúmeras intoxicações acidentais podem vir a acontecer em tal atividade devido ao uso rotineiro de agrotóxicos, representando um grande risco para a saúde dos agricultores tanto a curto como a longo prazo (ECOBICHON, 2001; ASOGWA e DONGO, 2009). No mundo, cerca de 2,3 milhões de trabalhadores morrem anualmente como resultado de acidentes de trabalho e doenças relacionadas ao trabalho (NIU, 2010). Esses dados corroboram com um estudo realizado no período de 2006 a 2010, o qual estimou que havia, em média, 20.116 casos de intoxicação

por agrotóxicos tratados anualmente em estabelecimentos de saúde (LANGLEY E MORT, 2012).

Acredita-se que, provavelmente, muitos agricultores são contaminados por apresentarem um baixo nível educacional e pela falta de conhecimento de como e quais as formas que os agrotóxicos podem afetar o ser humano (YASSIN et al., 2002; RECENA et al., 2006). Isso pode ser observado através de estudos realizados diante da percepção de risco aos efeitos adversos dos agrotóxicos na saúde, como demonstrado por Damalas e Hashemi (2010). Os autores observaram que jovens agricultores do norte da Grécia demonstraram uma percepção de risco aos efeitos adversos dos agrotóxicos na saúde mais elevados do que os agricultores mais velhos (DAMALAS e HASHEMI 2010). Semelhantemente, Hashemi et al. (2012), verificaram que, no sudoeste do Irã, a experiência com a agricultura e os efeitos adversos para a saúde relacionados com agrotóxicos no passado desempenharam um papel significativo, levando a níveis mais altos de percepção de risco do uso inapropriado destes produtos.

Uma forma popular para os agricultores reduzirem as exposições aos agrotóxicos é através do uso de vestimentas ou equipamentos especiais, conhecidos como Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) (KHAN et al., 2015). Apesar do fato de o uso de EPIs minimizar a exposição, vários estudos demonstram que os EPIs não são frequentemente utilizados (DAMALAS et al., 2006; MACFARLANE et al., 2008; DAMALAS e HASHEMI, 2010; FEOLA e BINDER, 2010; HASHEMI et al., 2012) ou são usados de maneira incorreta (SINGH e GUPTA, 2009; BLANCO-MUÑOZ e LACASAÑA, 2011; YUANTARI et al., 2015). Um estudo realizado no Paquistão demonstrou que a maioria dos agricultores não utilizam qualquer EPI durante o manuseio de agrotóxicos (KHAN et al., 2010). Em outro estudo, também abordando o uso de EPIs, identificou-se uma má aceitação destes por fumicultores do município de Pelotas, no Rio Grande do Sul. Este fato estava relacionado ao desconforto causado durante a realização das atividades, tais como sensação de sufocamento, calor e falta de ar, circunstâncias justificadas possivelmente devido à grande parte do trabalho ser realizado durante o verão (SILVA et al., 2013).

Ao manusear os agrotóxicos, a utilização de EPIs deve ser parte necessária no trabalho e seu uso é efetivo na redução da exposição (TSAKIRAKIS et al., 2010). A prática de não utilizar EPIs, ou utilizá-los parcialmente, sujeita o agricultor à absorção de agrotóxicos, podendo esta ocorrer por meio das vias respiratória, dérmica e digestiva (AGOSTINETTO et al., 2000). O emprego de EPIs é divergente e a decisão em fazer uso é influenciada pela conduta dos agricultores em relação a vários fatores, tais como a percepção de risco, consciência de pertencer a um grupo de risco, consciência da gravidade dos potenciais riscos e crença na efetividade da prevenção (DAMALAS et al., 2006; DAMALAS e HASHEMI, 2010).

O grau de proteção fornecido por luvas, botas, chapéus, camisas de manga longa e blusas, tipos mais comuns de EPIs, divergem em suas características de proteção, nível de adequação e manutenção dos agricultores (DAMALAS e KOUTROUBAS, 2016). Além disso, empresas produtoras destes equipamentos tendem a se preocupar somente em fornecer proteção, não levando em consideração a necessidade de equipar de forma confortável os trabalhadores a fim de efetivarem seu uso (SILVA et al., 2013). Similar ao exposto, Lima et al. (2015) afirmam que, além do desconforto causado pelos EPIs em condições de altas temperaturas, estes equipamentos são mais um custo para os agricultores. Desta forma, os níveis de proteção pretendidos raramente são alcançados e muitas vezes é difícil de avaliar a real proteção pessoal de cada indivíduo (ESPANHOL-SOARES et al., 2013; ABIRAMI e SELVAKUMAR, 2014).

Outra forma de reduzir os níveis de exposição é através de práticas de higiene ocupacional (SALVATORE et al., 2008), as quais são realizadas imediatamente após o uso de agrotóxicos. Pode-se citar como exemplo de tais práticas o ato de lavar as mãos (FENSKE e LU, 1994; FENSKE et al., 1998) e de mudar de roupa após a realização de misturas e aplicações (GRIESHOP et al., 1994; VAN BALEN et al., 2011).

#### **1.4 Exposição a agrotóxicos e efeitos sobre a saúde**

Visando controlar seres vivos considerados indesejáveis em função da conservação de outros seres vivos, produtos ou do meio ambiente, os agrotóxicos têm como função principal interferir na atividade biológica normal dos seres vivos

alvos de controle. Para tal, possuem em sua composição substâncias químicas tóxicas que conferem sua eficácia (BRASIL, 1989). No âmbito de desenvolvimento da agricultura brasileira, o uso dos agrotóxicos é a principal estratégia para combater e prevenir as pragas agrícolas, assim, garantindo maior produtividade e rendimento das culturas (KUNST et al., 2014; MAPA, 2018).

Ao serem lançados no ambiente, os agrotóxicos são capazes de interagir com os organismos vivos, causando inúmeras alterações que podem originar desequilíbrios ambientais significativos, dependendo do grau de contaminação e do tempo de exposição (YOUNES, 2000). Sabe-se que parte dos agrotóxicos utilizados nas lavouras possui efeitos deletérios à saúde e ao meio ambiente (IAASTD, 2009). Ainda, normalmente utiliza-se uma combinação de diferentes agrotóxicos, fato que pode alterar o comportamento tóxico, não se tendo conhecimento dos efeitos destas associações sobre os organismos (SPADOTTO, 2006), como é o caso de trabalhadores rurais que estão diariamente expostos à uma grande quantidade de produtos (ALMEIDA, 2005).

Além disso, no meio rural é comum que as residências dos agricultores se localizem no mesmo ambiente (ou muito próximas) aos seus locais de trabalho, impossibilitando a definição de limites de exposição ocupacional, sendo consideradas as fases de baixa exposição como valores de referência (SOARES et al., 2003). Também é difícil estabelecer a ligação causal entre a doença do trabalhador e sua ocupação no trabalho, visto que as manifestações clínicas das doenças ocupacionais, em geral, são indistinguíveis daquelas sem causa ocupacional. Aliado a isto, as doenças crônicas de origem ocupacional têm características multifatoriais e o longo tempo de exposição aos agentes químicos até a manifestação da doença contribui para a dificuldade de se estabelecer umnexo causal (KLAASSEN e WATKINS III, 2012).

Os danos causados à saúde das pessoas expostas diretamente, como as que trabalham nas lavouras e os moradores de regiões onde há o predomínio do agronegócio são maiores, em virtude da quantidade exacerbada de agrotóxicos utilizados (CHAIM, 2004). Esta questão se torna mais evidente no enorme e crescente número de evidências epidemiológicas e experimentais sobre a ligação

entre a exposição a agrotóxicos e a incidência de várias alterações de saúde em seres humanos (MOSTAFALOU e ABDOLLAHI, 2016).

A exposição à agrotóxicos pode ocorrer por diversas rotas, as principais ocorrem através da cadeia alimentar, ar, água, solo, flora e fauna (ANDERSON e MEADE, 2014). A distribuição destes compostos ocorre por todo o corpo humano através da corrente sanguínea, podendo ser excretados através da urina, pele e ar expirado (DAMALAS e ELEFTHEROHORINOS, 2011). Os agrotóxicos podem ser absorvidos pelo organismo através de quatro vias de exposição: dérmica, uma das rotas mais comuns e efetivas (ANDERSON E MEADE, 2014); oral, geralmente acidental em decorrência da negligência ou por motivos intencionais (DAMALAS e ELEFTHEROHORINOS, 2011); respiratória, ocorre devido a presença de componentes voláteis, de fácil inalação (AMARAL, 2014); e ocular, ocorre no ato da pulverização dos agrotóxicos e através da poeira (KIM et al., 2017). A toxicidade destes compostos também varia conforme o tipo de exposição (Fig. 1).

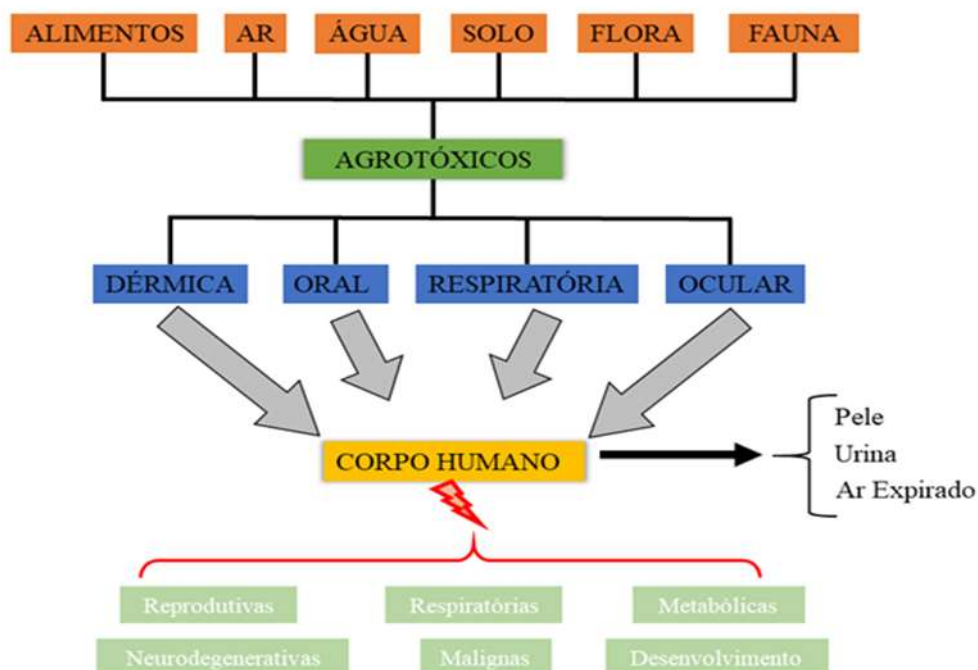


Figura 1 -Tipos de exposição à agrotóxicos e seus efeitos à saúde.

Os efeitos da exposição à agrotóxicos podem ser agudos, subcrônicos e crônicos (IBAMA, 2009). No entanto, a exposição de um indivíduo a agrotóxicos não pode ser estabelecida devido as suas características individuais, que podem, por



sua vez, determinar diferentes níveis de susceptibilidade (genética ou epigenética) a um composto químico entre diferentes indivíduos e mesmo no mesmo indivíduo (GANGEMI et al., 2016).

Estudos tem evidenciado o possível papel das exposições à agrotóxicos na alta incidência de doenças humanas, como malignidades, neurodegenerativas, respiratórias, reprodutivas, de desenvolvimento e metabólicas, em relação a diferentes rotas de exposição humana (GANGEMI et al., 2016; MOSTAFALOU, 2016; MOSTAFALOU e ABDOLLAHI, 2016; KIM et al., 2017).

O desenvolvimento destas doenças, muitas vezes pode estar ligado ao sistema imune, através da alteração de uma ou mais funções resultando em um efeito de reação adversa para o hospedeiro. Tal ação pode acontecer através de dois efeitos adversos: diminuição da imunocompetência (imunodepressão), resultando em infecções repetidas, podendo ser grave, se prolongar e desenvolver câncer; ou através da imunoestimulação inadequada. Este tem como efeito adverso acarretar em doenças imunomediadas, como reações de hipersensibilidade e doenças auto-imunes (ESSER e JUX, 2009).

Os mecanismos ligados à imunotoxicidade podem estar ligados à mielotoxicidade e imunossupressão, interferindo nas vias de sinalização específicas ou imunes, resultando em mudanças na produção de citocinas, expressão de marcadores de superfície, diferenciação celular e ativação; através da formação de adutos de proteínas, comportando-se como antígeno ou induzindo danos celulares ou alterando o processamento de proteínas. Ou ainda, por compostos imunossupressores, especialmente durante a exposição uterina ou início da vida através da degradação de células B ou T autorreativas (CORSINI et al., 2011; FUKUYAMA et al., 2011). Estes dados mostram a necessidade de estudar as diferentes classes de agrotóxicos, rotas de exposição e seus impactos na saúde e desenvolvimento de doenças.

## **1.5 Exposição a metais e efeitos sobre a saúde**

O Brasil é um país com uma ampla dimensão continental, contudo, conforme cada região, o solo apresenta algumas peculiaridades (tais como: pH, etc). Deste modo, possui características e limitações para realizar a agricultura (MANZATTO et

al., 2002). Buscando atingir níveis de produtividade mais elevados, agricultores fazem uso de novas tecnologias. Com o intuito de aumentar a eficiência nesta área e devido as exigências econômicas, o uso de novas formas de fertilizantes, aplicações de agrotóxicos, criação de culturas, equipamentos e técnicas de plantio e colheita vem sendo utilizadas (NAVA et al., 2011).

De acordo com a International Fertilizer Industry Association (IFA), o Brasil é um dos maiores consumidores e importadores mundiais de fertilizantes. Estes, quando utilizados de forma adequada, apresentam-se como um recurso para a agricultura, entretanto, seu uso inadequado pode causar sérios danos ao solo, plantas e seres humanos (GONÇALVES et al., 2011). Tais produtos são originários de matérias primas contendo metais tóxicos, tais como cádmio (Cd), chumbo (Pb) e cromo (Cr) (GONÇALVES et al., 2011). Além dos fertilizantes, os agrotóxicos também apresentam metais em suas composições (GORGMANN et al., 2011).

Os metais, por sua vez, são divididos de acordo com sua atividade biológica. Os metais essenciais, são aqueles importantes para processos vitais em organismos vivos, regulando muitas funções fisiológicas; e metais tóxicos, aqueles em que não apresentam atividades fisiológicas benéficas e podem apresentar toxicidade mesmo em baixas concentrações (BEVERIDGE et al., 1997; BRUINS et al., 2000; COHEN et al 2001). Destaca-se que, o termo em desuso “metais pesados”, muitas vezes é usado com o sentido de contaminação/poluição e toxicidade. Entretanto, essa nomenclatura é aplicada para elementos que contenham massa superior a  $5 \text{ g cm}^{-3}$  ou que possuam número atômico maior que 20 (GONÇALVES et al., 2000).

A legislação vigente no Brasil, que trata sobre a contaminação do solo é a Resolução nº. 420 de 2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que visa estabelecer critérios e valores a fim de orientar a qualidade do solo quanto a presença de substâncias químicas, dentre elas, os metais tóxicos. Além desta resolução, também existem legislações sobre fertilizantes, inoculantes e corretivos. A lei de fertilizantes brasileira é baseada na Instrução Normativa (IN) 27/06, alterada pela IN SDA nº 7, de 12/04/2016 e republicada em 02/05/2016. Tal IN aponta como metais tóxicos contaminantes, além dos elementos já citados anteriormente, o arsênio (As) e o mercúrio (Hg) e, estabelece os limites de concentrações máximas permitidas para estes elementos.

No Brasil, dois tipos de solos podem ser encontrados, arenosos e argilosos. Os solos arenosos têm como característica as baixas trocas iônicas, favorecendo o transporte natural dos metais no meio ambiente (por lixiviação ou escoamento superficial), atingindo facilmente os recursos hídricos (GONÇALVES et al., 2014). Deste modo, as características físico-químicas da água são alteradas, conseqüentemente diminuindo sua qualidade (MORILLO et al., 2002). Além disso, em áreas rurais, as reservas de água potável, são encontradas na superfície e em águas subterrâneas sendo, muitas vezes, as únicas fontes de consumo humano nessas regiões (TUTIC et al., 2015).

Por outro lado, os solos argilosos, apresentam uma maior capacidade de troca iônica, em que os metais tendem a se fixar nas partículas do solo, tornando-se disponíveis para as plantas e grãos em mais de uma estação de cultivo (GONÇALVES et al., 2014), levando a presença destes na cadeia alimentar (ASTDR, 2018). Os metais apresentam caráter cumulativo, ou seja, são acumulados nos tecidos, e uma vez no organismo humano, dificilmente são eliminados pelo organismo (GONÇALVES et al., 2014) (Fig. 2).



Figura 2- Diagrama das rotas de entrada dos metais no organismo (Adaptado de SHARMA et al., 2017).

A agricultura é uma das práticas antropogênicas que representa uma importante fonte de exposição ambiental aos metais (ANNANGI et al., 2015). Esta

exposição pode ocorrer através da inalação, contato dérmico ou oral, por meio da ingestão de águas e/ou alimentos contaminados (LOSKA et al., 2004). Deste modo, podendo resultar em alterações de funcionamento dos sistemas nervoso central, hematopoiético, reprodutivo e renal (AUSTIN et al., 2016; CAO et al., 2016). A longo prazo, essa exposição pode progredir para processos degenerativos físicos, musculares e neurológicos, podendo também causar câncer (PRÜSS-USTÜN et al. 2011).

Estudos toxicológicos têm demonstrado os efeitos das exposições a metais através de diversos mecanismos. A exposição ocupacional ao Hg e As em taxistas, por exemplo, pode ser considerado como contribuinte adicional para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares através de processos inflamatórios e estresse oxidativo (BRUCKER et al., 2015). Assim como a exposição ambiental infantil ao Mn tem sido associada com efeitos cognitivos, dano oxidativo e disfunção renal (NASCIMENTO et al., 2016).

## **1.6 Biomonitoramento de populações expostas**

A avaliação e interpretação de parâmetros biológicos é determinada através do monitoramento, realizado com a finalidade de detectar possíveis riscos à saúde (WHO 1996; DOUGHERTY 1998). Atualmente, define-se como biomonitoramento humano (BH) a mensuração de concentrações de compostos e elementos químicos ou de seus metabólitos em matrizes biológicas (PEREZ-GOMEZ et al., 2013). As amostras mais comuns utilizadas são sangue, urina, leite materno e ar exalado, sendo o sangue a amostra que está em maior contato com todos os órgãos e a urina, a mais acessível em maiores quantidades (ANGERER et al., 2007). No entanto, cabelos, unhas, gordura, ossos e outros tecidos também podem ser utilizados (SMOLDERS et al., 2008). Assim, amostras de sangue e urina possibilitam a determinação de concentrações muito baixas decorrentes da exposição ambiental a substâncias químicas, quando comparadas as outras matrizes que por diversas razões de obtenção e interpretação são menos utilizadas (ANGERER et al., 2007).

Com o avanço das tecnologias, técnicas analíticas mais robustas foram sendo empregadas, nesse contexto, tornou-se possível determinar um grande número de substâncias químicas ou seus metabólitos em concentrações muito baixas,

presentes nos fluídos biológicos (ANGERER et al., 2007; PANTOROTO, 2007; CAÑAS et al., 2014). Essas análises podem ser utilizadas em diferentes áreas da saúde (ambiental e ocupacional), auxiliando a toxicologia e a epidemiologia (BEVAN et al., 2012). Entretanto, para tal, critérios devem ser considerados para sua aplicação, como protocolo de coleta e análise das amostras, vias de exposição, informações toxicológicas da substância de interesse e os dados epidemiológicos (ALBERTINI et al., 2006).

Estes critérios auxiliam a aplicação do BH em medidas preventivas e na avaliação, ou identificação de vias de contaminação. Tais informações possibilitam definir medidas de prevenção, gerenciamento e atenuação de danos, além disso, acompanhar a eficácia de medidas preventivas (ANGERER et al., 2006). Um exemplo para isso é o biomonitoramento de elementos traço frequentemente usados em amostras de sangue, o qual se tornou uma ferramenta importante para a saúde ocupacional e ambiental (PERHARIC e VRACKO, 2012).

A determinação qualitativa ou quantitativa de uma substância exógena no organismo humano é feita através de biomarcadores. Segundo Strimbu e Tavel (2010), biomarcadores são substâncias, estrutura ou processos observados de fora do paciente, que podem ser mensurados e reproduzidos com precisão. Os biomarcadores tem como objetivo avaliar os riscos à saúde ocasionados pela exposição a um agente tóxico, quando comparada a uma referência apropriada (SAKAI, 2000). Além disso, são classificados em três categorias: biomarcadores de exposição, biomarcadores de efeito e biomarcadores de susceptibilidade (PEREZ-GOMEZ et al., 2013).

Compreende-se como biomarcador de exposição, a mensurações da distribuição de dada substância química, seu metabólito ou produto deste após interação no organismo. Permitindo assim, estimar o nível das substâncias químicas a que um indivíduo está exposto (AMORIN, 2003). Na legislação brasileira NR-7 (BRASIL, 1978), apenas os metais, tais como As, Cd, Cr, Pb, Hg apresentam biomarcadores de exposição, sendo a exposição aos agrotóxicos avaliada através de biomarcadores de efeito.

Os biomarcadores de efeito, por sua vez, refletem as alterações qualitativas ou quantitativas das funções bioquímicas, fisiológicas ou outras alterações orgânicas mensuráveis reconhecidamente associadas com um risco à saúde. No caso dos agrotóxicos, a avaliação da exposição é restrita duas classes, OPs e CBs, sendo realizada através da mensuração da atividade da acetilcolinesterase eritrocitária (AChE) e/ou butirilcolinesterase plasmática (BuChE) (KAPKA-SKRZYPCZAK et al., 2011), comparando os valores de exposição pré e pós-ocupacional. Outros exemplos desta categoria são a determinação de marcadores hematológicos, bioquímicos, adutos de DNA ou de proteínas, biomarcadores citogenéticos (aberrações cromossômicas, micronúcleos e quebras de DNA) entre outros (SAKAI, 2000).

Salines (2012) classifica os marcadores de suscetibilidade como fatores capazes de modificarem a ação de agentes tóxicos sobre os organismos tornando-os mais susceptíveis a sua toxicidade. Tais alterações ocorrem em genes que codificam enzimas metabolizadoras, as quais são alteradas em diversas pessoas, como por exemplo, o polimorfismo genético que permite aumentar ou diminuir a atividade destas enzimas (BUDNIK e BAUER, 2009; GOMÉZ-MARTÍN et al., 2015).

Os biomarcadores de suscetibilidade representam assim, o modo como o organismo reage ao agente tóxico e a habilidade inerente ou adquirida de um organismo responder a exposição de uma substância específica (SMOLDERS et al., 2008). Encontram-se disponíveis vários marcadores para avaliar um agente tóxico e sua escolha depende de fatores que compreendem sua toxicocinética, o conhecimento do mecanismo de toxicidade e de seus efeitos adversos (MANINI et al., 2007).

**CAPÍTULO I (ARTIGO):**

---

**Exposure to pesticides induce biochemical and immunological alterations in farmers**

Submetido para publicação na revista *International Archives of Occupational and Environmental Health (IAOE)*





## **Exposure to pesticides induce biochemical and immunological alterations in farmers**

Larissa V. Cestonaro <sup>a,b</sup>, Solange Cristina Garcia <sup>a\*</sup>, Bruna Gauer <sup>a,b</sup>, Elisa Sauer <sup>a,b</sup>, Gabriela Göethel <sup>a,b</sup>, Sabrina N. do Nascimento <sup>a,b</sup>, Caroline P. Peruzzi <sup>a,b</sup>, Jessica Nardi <sup>a,b</sup>, Nuryan S. Fão <sup>a,b</sup>, Wesley V. Braga <sup>a</sup>, Yasmin V. Piton <sup>a</sup>, Rafael C. Rocha <sup>c</sup>, Tatiana Saint'Pierre <sup>c</sup>, Adriana Gioda <sup>c</sup>, Marcelo Dutra Arbo <sup>a\*</sup>.

<sup>a</sup> Laboratório de Toxicologia (LATOX), Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>b</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>c</sup> Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

\*Corresponding author at: Avenida Ipiranga 2752, Santa Cecília, Porto Alegre, RS, CEP: 90610-000, Brazil. Tel.: +55 3308 5297; fax: +55 51 3308 5437.

E-mail address: marcelo.arbo@gmail.com (M.D. Arbo); solange.garcia@ufrgs.br (S.C. Garcia)



## **Abstract**

In developing countries, farmers are exposed to a complex mixture of pesticides and toxic elements resulting of the application of pesticides and fertilizers in the soil. In the present study, the effects of the exposure to pesticides was evaluated through haematological, biochemical, and immunological parameters, which were related to pesticides and toxic elements exposure. A total of 116 individuals, 62 farmers from Agudo (RS, Brazil) and 54 non-exposed subjects from Porto Alegre (RS, Brazil) were evaluated. Our findings indicated that farmers present a significant inhibition of erythrocytes AChE activity compared to the non-exposed group. Additionally, farmers also presented significantly increased levels of glucose, urea, LDH, total proteins, IgM, complement C3, and expression of LFA1 and ICAM-1 in lymphocytes and monocytes compared to non-exposed individuals. A negative partial correlation was observed between BuChE activity and IgG, while positive partial correlation was observed between AChE activity and expression of LFA-1 and ICAM-1 in monocytes and L-selectin in lymphocytes and monocytes. Therefore, health alterations were observed in exposed farmers, among them, it was evident that pesticides interact with the immune system, which might lead to chronic disorders such as asthma.

**Keywords:** Pesticides; cholinesterase activity; immunoglobulins; toxic elements; adhesion molecules.



## 1. Introduction

In developing countries, pesticides are extensively used in agriculture to kill pests that harm crops, as well as in public health to kill vectors of diseases. Pesticides are considered as potentially toxic to some organisms, including humans, and need to be safely used and properly disposed (WHO, 2016). Brazil has been the major consumer of pesticides in the world since 2008 (CARNEIRO et al., 2015). Among pesticides, the organophosphates (OPs) and carbamates (CBs) insecticides have a low persistence and high effectiveness and they are widely employed in agriculture, although, exhibit high acute toxicity in humans. They represent the main classes involved in cases from mild to severe intoxications, acting as acetylcholinesterase (AChE) activity inhibitors. AChE is essential for the functioning of the central nervous system (CNS) of humans and causes the accumulation of the acetylcholine (ACh) neurotransmitter, which interferes with muscular responses and causes respiratory and myocardial malfunctions and even death (LIONETTO et al., 2013). Therefore, the understanding of pesticides as a relevant environmental and public health problem has been growing in parallel to the increase in their use and the evidence of the impacts they may cause in health and environment (ERVILHA, 2014).

Agriculture is one of the main activities that deserve special attention in relation to workers health, since most farmers manipulate pesticides with highly dangerous compounds (ADAD et al., 2015). They are exposed to a complex mixture of these xenobiotics, including herbicides, fungicides, and insecticides (BENEDETTI et al., 2013; DA SILVA et al., 2016). In humans, exposure to pesticides can occur through different routes, which can impair health and disrupt various functions of the body, depending on the degree of poisoning, absorption route, specific characteristics of pesticides or cultivation practices, and individual factors, such as age, gender, nutritional status, and general health (HODGSON, 1999; ANGERER et al., 2007; DA SILVA et al., 2008).

In addition, metals represent another type of xenobiotics that might be present as environmental contaminants in agricultural communities. This occur due to the application of pesticides, that may contain toxic elements in their composition, irrigation waters and fertilizers on the soil, which may threaten the quality of agricultural

land (NICOLA, 1997). Therefore, metals are dispersed in the environment and they can be very toxic to humans at excessive levels (JARUP, 2003). The main sources of exposure to toxic elements released to the environment by human activities are the air, soil, water and food (MEMOM et al., 2001). The main elements present in the pesticides formulations include arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr), lead (Pb), manganese (Mn), and nickel (Ni) (GORMAN et al., 2011; JIAO et al., 2012).

According to the Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), human exposure to elements such as As, Pb and, Cd has serious health implications (ATSDR, 2007; CSAVINA et al., 2012; SHARMA et al., 2014; GUPTA et al., 2015). They act similarly to endogen biochemical electrolytes and produce toxicity by forming complexes with cellular compounds, inactivating or modulate the enzymes or protein structures leading to cellular dysfunction and necrosis (AGUILERA et al., 2017; KUMAR et al., 2017; TROST and TRACY, 2017; SHARMA et al., 2014).

Due to such complex mixtures of products, acute and chronic exposure at low concentrations of pesticides and toxic elements may lead to irreversible damage to farmers health (HERNÁNDEZ et al., 2005; MARTÍNEZ-VALENZUELA et al., 2009; BENEDETTI et al., 2013). Exposure to pesticides are associated with several human diseases, such as cancer, neurodegenerative and reproductive disorders, lung alterations (MOSTAFALOU and ABDOLLAHI, 2017), endocrine disruption (MAQBOOL et al., 2016), inflammatory responses, immune dysregulation, among others (ABDOLLAHI et al., 2004, KARAMI-MOHAJERI and ABDOLLAHI, 2013; MOKARIZADEH et al., 2015). Human exposure to metals may cause many types of cancers (skin, liver, kidney, lung, and bladder), cardiovascular disease, diabetes, anemia as well as dermatological, reproductive, developmental, neurological and immunological diseases (ZODAPE and TAYADE, 2016).

Biomonitoring is the preferred approach to assess human exposure to chemicals through several biological media, such as blood and urine (NASCIMENTO et al., 2017). The most widely used biomarkers include determination of the presence of xenobiotic metabolites, measurements of the activity of specific enzymes, and damage to macromolecules (KAPKA-SKRZYPCZAK et al. 2015). In this context, human biomonitoring studies are needed to evaluate the exposure to multiple

chemicals in people living in many regions located near to urban industrial zones, mining, and agricultural areas (OCHOA-MARTINEZ et al., 2016). Therefore, the aim of this study was to assess the effects of simultaneous occupational exposure to pesticides and toxic elements in haematological, biochemical, and immunological parameters in rural workers from the Southern Brazil.

## **2. Material and Methods**

### **2.1. Subjects**

Prior to the study, individuals were invited to participate in a face-to-face interview, a written informed consent was obtained and each individual completed a detailed questionnaire (Portuguese version of International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens) (CARRANO and NATARAJAN, 1988), covering standard demographic data (age, gender, etc.), lifestyle (consumption of tobacco, coffee and alcohol, diet, etc.), as well as occupational (number of hours of work per day, personal protective equipment (PPE) usage, duration of application of the pesticides, and kind of pesticides), medical problems (exposure to x-rays, vaccines, medication, etc.), and family history.

Took part of the research 67 farmers from both gender, aged 18-70 years and living in the rural area of Agudo (city located in the central region of the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil). The most predominant economic activity in the studied area is agriculture, with intense use of several types of pesticides. A non-exposed group, comprising 54 healthy individuals from both gender working in administrative offices from Porto Alegre (capital of Rio Grande do Sul, Southern Brazil) was also included in the study. This group had no history of exposure to pesticides as well as no previous occupational exposure to pesticides. All individuals with chronic diseases (diabetes, hepatitis, tuberculosis and previous cancer history) were excluded of the study.

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CAAE 59461816.2.0000.5347). All participants were informed about the study and signed an informed consent.

### **2.2. Blood and urine collection**

An EDTA tube (4 mL) was collected for blood and aliquots of 250  $\mu$ L were separated to determine concentrations of red blood cells AChE. A blood vacuum tube with trace element heparin (6 mL) was collected and aliquots of 500  $\mu$ L were separated to determine concentrations of toxic elements. Aliquots of sodium-EDTA vacuum tubes (4 mL) were immediately used for hemograms and L-selectin, LFA-1 and ICAM-1 surface protein expressions. A tube without anticoagulant (4 mL) was collected and immediately centrifuged at 1500xg for 10 min at room temperature to obtain the serum, which was used for biochemical and immunological analysis. Blood samples were transported to the laboratory below 8 °C and processed within 20 h of collection.

Approximately 10 mL of urine samples were collected in polyethylene bottles. Urinary creatinine levels were determined immediately after collection by spectrophotometry according to Jaffé (1886), with commercial kits (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brazil). The samples were then stored at -80 °C for further determination of kidney dysfunction biomarker (microalbuminuria (mALB) levels).

### **2.3. Blood pressure measurements and body mass index**

A single person performed all height, weight and blood pressure measurements. For weight, in both groups, measurements were taken without shoes but with body clothing. These measurements were carried out using an upright scale (Plenna Sport® MEA07420, Plenna digital and analog scales, São Paulo, SP, Brazil), with a capacity to weigh 150 kg in 100 g increments. Height was measured using a measuring board. Body mass index (BMI) was calculated by dividing the weight, in kilograms, by the square of the height, in meters. Blood pressure was measured using an automatic digital blood pressure monitor (Geratherm®, Wristwatch 993, São Paulo, SP, Brazil).

### **2.4. Biomarkers of exposure**

#### **2.4.1. Cholinesterases activities**

Red blood cells AChE activity was determined following the visible spectrophotometry methodology. The method used was proposed by Ellmann and modified by Harlin and Ross (1990), based on the colorimetric measurement of the rate of hydrolysis of acetylcholine by erythrocyte AChE. Released thiocholine react



with 5,5'-dithio-2-nitrobenzoic acid (DTNB) to liberate a yellow compound which is quantified spectrophotometrically at 412 nm. The variation of absorbance per minute during 4 minutes is directly proportional to the enzymatic activity (SILVA, 2008). The enzyme activity was determined by the following equation: AChE activity (kU/L) =  $\Delta A \times 132.35$ , where  $\Delta A$  is the mean absorbance. Considering that 1 kU L<sup>-1</sup>=1000 U L<sup>-1</sup>. AChE activity was expressed as U L<sup>-1</sup>.

Serum BuChE was determined by spectrophotometry, using commercial laboratory kits (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brazil). The reaction is based in the hydrolysis of butyrylthiocholine by plasmatic cholinesterase (BuChE) with the release of thiocholine and butyrate levels. Thiocholine reduces the yellow hexacianoferrate (III) pigment to colorless hexacianoferrate (II). The decrease in absorbance is measured at 405 nm. BuChE activity was expressed as UI L<sup>-1</sup>.

#### **2.4.2. Blood toxic elements measurement**

For the measurement of toxic elements (As, Cd, Cr, Mn, Ni, and Pb) in blood samples, 1 mL of 65% ultrapure nitric acid was added to 500  $\mu$ L of whole blood in a polypropylene digestion tube. Afterwards, the mixture was processed by heating at 95 °C for 4 h. Extracts were cooled at room temperature and the volume was made up to 10 mL with ultrapure water. Toxic element concentrations were determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) using a Nexlon 300X spectrometer (PerkinElmer-Sciex, USA) (MATEUS et al., 2013). A Rh (400  $\mu$ g L<sup>-1</sup>) acidified aqueous solution (1% HNO<sub>3</sub>) was added in line as internal standard and the calibration curve ranged from 5 to 80  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. Calibration solutions were prepared using a 10 mg L<sup>-1</sup> stock solution (PerkinElmer 29).

The LOD and LOQ were calculated based on the standard deviation of the calibration blanks (n = 10): three times the standard deviation for the LOD (or ten times for the LOQ) divided by the slope of the calibration curve. Precision and accuracy of the analytical method were monitored with reference standards that were analyzed in intervals of 15 samples. For differences greater than 10%, a new calibration was applied. The average measured, in triplicate, and certified concentrations (in parenthesis) were, in  $\mu$ g L<sup>-1</sup>, as follows: As: 0.023 (0.024); Cd:

0.008 (0.009); Cr: 0.011 (0.013); Mn: 0.019 (0.025); Ni: 0.019 (0.025); Pb: 0.330 (0.357).

## **2.5. Haematological parameters**

Analyses were carried out using an ABX Pentra XL 80 Hematology analyzer (ABX Horiba®, Montpellier, France) was performed in whole blood collected with EDTA. Red blood parameters (number of red blood cells (RBC), hemoglobin (Hb), and hematocrit (Ht)), white blood parameters (total number of leukocytes, total number and percentage of neutrophils, lymphocytes, eosinophils, monocytes, and basophils) and platelet counts were determined.

## **2.6. Biochemical parameters**

Biochemical parameters were measured on fresh fasting serum samples and carried out on automated equipment Mindray® BS-120 Chemistry Analyzer (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co Ltd, Shenzhen, China), following standard procedures for clinical biochemistry, using commercial kits (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brazil). The measured parameters included glucose, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST),  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT), total (BT) and direct (BD) bilirubins, alkaline phosphatase (ALP), urea, creatinine, lactate dehydrogenase (LDH) and C-reactive protein (PCR).

## **2.7. Immunological parameters**

### **2.7.1. Immunoglobulins and complement**

Immunological parameters were measured on fresh fasting serum samples and carried out on automated equipment BS-120 Mindray® BS-120 Chemistry Analyzer (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co Ltd, Shenzhen, China), by immunoturbidimetric method with commercial kits (BioClin®, Belo Horizonte, MG, Brazil). The measured parameters included complement C3, complement C4, and total immunoglobulins IgA, IgM, IgG.

### **2.7.2. Adhesion molecules**

EDTA-blood was used to determination of LFA-1, ICAM-1 and L-selectin surface protein expression (%) in lymphocytes and monocytes, through flow

cytometry. L-selectin surface expression was performed incubating samples, blood with FITC-conjugated anti-L-selectin (BD Biosciences™, San Jose, CA, EUA). To analyze LFA-1 and ICAM-1 surface protein expression, samples were incubated simultaneously, with FITC-conjugated LFA-1 antibody and phycoerythrin (PE)-conjugated ICAM-1 antibody (BD Biosciences™, San Jose, CA, USA).

The BD® FACS Lysing solution was used following the manufacturer's instructions. The cells were immediately analyzed at Attune® Acoustic Focusing Cytometer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) using the Attune® Cytometric Software (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Lymphocytes and monocytes were identified according to manual gating, considering the parameters of side scatter and size. Results are expressed as the percentage of L-selectin surface, LFA-1 or ICAM-1 protein expression in lymphocytes or monocytes.

## **2.8. Early kidney dysfunction biomarker: microalbuminuria (mALB)**

The determination of mALB levels was performed by the immunoturbidimetric method using the Mindray® BS-120 Chemistry Analyzer (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co Ltd, Shenzhen, China), automated analyzer, through commercial kit (Bioclin®, Belo Horizonte, MG, Brazil). Results were expressed as mg g<sup>-1</sup> creatinine.

## **2.9. Statistical analysis**

Data were analyzed using the IBM SPSS Statistics software (version 22). A normality test was used to verify the distribution of data and each variable was assessed using the Shapiro-Wilk test. Comparisons between the groups were carried out using the Student t-test and Mann–Whitney U-test and the results are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). Covariance analyzes (ANCOVA) were used to evaluate differences between groups and to examine the influence of confounding factors (sex, body mass index, smoking habits and alcohol consumption), followed by the Bonferroni's post hoc test. Partial correlation was performed to evaluate the associations between pairs of variables with control by confounding factors, such as sex, body mass index, smoking habits and alcohol consumption. Values of  $p \leq 0.05$  were considered significant.

### 3. Results

#### 3.1. Characteristics of the studied groups

Personal characteristics of the study population are shown in Table 1. The samples were collected between winter and spring in the south hemisphere in the same year (2017), when farmers are at a high pesticide exposure. The study population consisted of a non-exposed group of 54 individuals, 53.7% (29) males and 46.3% (25) females. The group of farmers included 62 individuals, 35.5% (22) males and 64.5% (40) females, directly involved in the preparation and application of pesticides and exposed simultaneously to a complex mixture of pesticides and toxic elements since childhood. No significant differences were observed between the groups regarding age, working time and blood pressure measurements (one-way ANCOVA). According to the International Classification of obesity based on BMI, divided by adiposity degrees or classes (slim or light weight, less than 18.5 kg m<sup>-2</sup>; normal between 18.5 – 24.9 kg m<sup>-2</sup>; overweight or pre-obese between 25 – 29.9 kg m<sup>-2</sup>; obesity I between 30 - 34.9 kg m<sup>-2</sup>; obesity II between 30 – 39.9 kg m<sup>-2</sup> and severe obesity above 40 kg m<sup>-2</sup>), and disease risk (World Health Organization), women from both groups presented overweight. Differently, men farmers presented normal BMI, while non-exposed men presented a significant overweight (one-way ANCOVA).

Analysis of questionnaires revealed that the farmers had a lower educational level compared to the non-exposed group ( $p < 0.001$ ; one-way ANCOVA). The smoking habit was higher among farmers than non-exposed individuals, however non-exposed group reported a higher alcohol consumption (beer, wine and others) than farmers. Additionally, farmers reported alterations in health conditions, as well as the desire to stop working in agriculture and a lower income (minimum wage) by month. Comparing workload (8 hours/day) during the week, non-exposed group works more than farmers, but when compared workload (8 hours/day) every day, farmers work more. The non-exposed group and farmers were similar regarding contribution of work income to family support (one-way ANCOVA).

The farmers habits are depicted in Table 2. The cultivation of tobacco, corn, beans, rice, manioc, milk and potatoes were reported among the rural activities. The

main tasks carried out by the farmers in relation to pesticides involved preparation of the crop and beware of seedlings, planting, harvest and preparation of the tobacco leaves and pesticides. The prevalence of use of household pesticides was 17.7% (11) and the storage of pesticides was mainly in cupboard 98.3% (58). Additionally, 87.1% (54) farmers use personal protective equipment (PPE), being the gloves the most used 79% (49). The contaminated work clothes were washed by machine as well as by hand, separately.

The most common pesticides used in the crops of the region are shown in Table 3. The farmers included in this study were exposed to a complex mixtures of pesticides, including three products containing active ingredients classified as extremely toxic, one as highly toxic, seven as moderately toxic, and two as slightly toxic according to the Brazilian Health Regulatory Agency (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA) (ANVISA 2016), being two of them cholinesterase (ChE) inhibitors.

### **3.2. Biomarkers of exposure**

#### **3.2.1. Cholinesterase activities**

The results of AChE activities in farmers and non-exposed group are depicted in figure 1. It was observed a significant 22% inhibition in farmers AChE activity compared to non-exposed group ( $p < 0.01$ ; one-way ANCOVA). For BuChE, no significant differences were found neither between the groups nor between the sexes.

#### **3.2.2. Blood toxic elements measurement**

Concentrations of blood elements are present in Table 4. Farmers presented a significant increase in blood levels of Cd ( $p < 0.01$ ; one-way ANCOVA) and Pb ( $p < 0.05$ ; one-way ANCOVA) compared to the non-exposed group. Interestingly, the levels of Ni and Cr were significantly increased ( $p < 0.01$ ; one-way ANCOVA) in the non-exposed group. No significant differences were found in As and Mn. Moreover, Cr and Ni levels in non-exposed group and As levels in both groups, were above the recommended limits by ATSDR ToxGuides™ (2015) and WHO (1996).

### **3.3. Biomarkers of effect**

### **3.3.1. Haematological parameters**

Haematological parameters are described in Table 5. Farmers presented a significant decrease ( $p < 0.05$ ; one-way ANCOVA) in MCHC, platelets, lymphocytes, monocytes, and basophils, however all within the reference values. In male farmers, a significant decrease ( $p < 0.01$ ; one-way ANCOVA) in haemoglobin was observed compared to non-exposed males, which was also within the reference value. Besides, farmers presented a significant increase ( $p < 0.01$ ; one-way ANCOVA) in the percentage of neutrophils in relation to non-exposed group.

### **3.3.2. Biochemical parameters**

Results for biochemical parameters are demonstrated in Table 6. The farmers had significantly higher levels of glucose, urea, LDH and total proteins compared to the non-exposed group, however all parameters were within the reference values ( $p < 0.05$ ; one-way ANCOVA). Furthermore, farmers showed a significant decrease in ALT ( $p < 0.05$ ; one-way ANCOVA) and serum creatinine ( $p < 0.01$ ; one-way ANCOVA) levels when compared to non-exposed group, also within the reference values.

## **3.4. Immunological parameters**

### **3.4.1. Immunoglobulins and complement**

Immunoglobulins and complement parameters are demonstrated in Table 7. The farmers had significantly higher IgM levels compared to the non-exposed group, however all within the reference values ( $p < 0.05$ ; one-way ANCOVA). Additionally, farmers presented a significant increase in complement C3 compared to the non-exposed group ( $p < 0.01$ ; one-way ANCOVA), which was slightly above the reference value.

### **3.4.2. Adhesion molecules**

The results obtained in the expression of LFA-1, ICAM-1 and L-selectin in monocytes and lymphocytes are presented in Figure 2. In monocytes it was observed a significant decrease in LFA-1 and ICAM-1 in farmers compared to non-exposed group ( $p < 0.01$ ; one-way ANCOVA). Interestingly, a significant increase in expression of LFA-1 ( $p < 0.05$ ; one-way ANCOVA) and ICAM-1 ( $p < 0.01$ ; one-way ANCOVA) was observed in lymphocytes of farmers when compared to non-exposed

group. No alterations were observed in the expression of L-selectin in both monocytes and lymphocytes.

### **3.5. Early kidney dysfunction biomarker: microalbuminuria (mALB)**

No significant differences were observed for mALB levels.

### **3.6. Correlations among biomarkers of exposure and biochemical, immunological and haematological parameters**

Partial correlations among biomarkers of exposure and effect are showed in Table 8. Serum BuChE activity was negatively correlated with immunoglobulin IgG ( $r = -0.197$ ;  $p < 0.05$ ). Additionally, AChE activity in red blood cells was negatively correlated with blood levels of Cd ( $r = -0.198$ ;  $p < 0.05$ ) and Mn ( $r = -0.199$ ;  $p < 0.05$ ), as well as positively correlated with L-selectin expression in lymphocytes ( $r = 0.218$ ;  $p < 0.05$ ). Interestingly, AChE activity was positively correlated with LFA-1 ( $r = 0.223$ ;  $p < 0.05$ ), ICAM-1 ( $r = 0.222$ ;  $p < 0.05$ ) and L-selectin ( $r = 0.218$ ;  $p < 0.05$ ) expression in monocytes.

Moreover, Cr was positively correlated with total bilirubin ( $r = 0.257$ ;  $p < 0.01$ ) and urea ( $r = 0.192$ ;  $p < 0.05$ ). Pb was positively correlated with neutrophils ( $r = 0.214$ ;  $p < 0.05$ ). Cd was positively correlated with RBC ( $r = 0.238$ ;  $p < 0.05$ ). Ni presented a positive correlation with lymphocytes ( $r = 0.256$ ;  $p < 0.05$ ) and Mn blood levels ( $r = 0.352$ ;  $p < 0.01$ ). As was positively correlated with Cd ( $r = 0.312$ ;  $p < 0.01$ ), Ni ( $r = 0.445$ ;  $p < 0.01$ ), RBC ( $r = 0.330$ ;  $p < 0.01$ ), Hb ( $r = 0.341$ ;  $p < 0.01$ ), and Hct ( $r = 0.333$ ;  $p < 0.01$ ).

## **4. Discussion**

Workers are exposed to various types of occupational hazards, in agriculture, farmers are also environmentally exposed to a combination of chemicals. In the present study, the toxic elements were included in the biomarkers of exposure because they may potentiate the effects of pesticides and their presence in the environment is inevitable. In this context, many farmers are vulnerable to the toxic effects of pesticides and metals and the exposure in adulthood is still a worrisome threat. The effects resulting from long-term exposure to low doses are difficult to assess and the clinical and epidemiological studies are of crucial importance to

understand the changes related to clinical outcomes. Therefore, the aim of our study was to perform a health assessment in farmers from Southern Brazil, more specifically in the rural area of Agudo, a city located in the central region of the state of Rio Grande do Sul. This city was selected because most of farmers houses are located near to the field, which increases the exposure of these individuals.

Moreover, according to the answers obtained in the questionnaire and observed in Table 3, farmers are in contact with many pesticides. In our study, we were unable to precise when the exposure began and for how many years they are exposed to these compounds. For this reason, we were not able to associate the changes with a specific product or chemical class, as well as a toxic element. Considering the presence of metals in pesticide formulations, it was observed that farmers presented significantly increased levels of Cd and Pb in relation to non-exposed group. The presence of toxic elements, such as As, Cr, Co, Pb and Ni, has been reported in technical products (DEFARGE et al., 2017). Additionally, the fungicide mancozeb is highly used by farmers in the area of study, and it contains approximately 20% Mn by weight (MORA et al., 2014), suggesting a co-exposure of pesticides and toxic elements in rural workers.

During the sampling, the farmers were at the beginning of the period of pesticide application. Our study demonstrated that long-term occupational exposure to pesticides OPs and CBs resulted in a greater inhibition in AChE activity. AChE inhibition is more sensitive and preferred than BuChE, since it reflects the biological effects on the nervous system and shows a lower recovery rate, providing a better representation of the inhibition of the neural AChE (KAMEL and HOPPIN, 2004; LIONETTO et al., 2013). In the present study, AChE activity was correlated with blood Cd levels, indicating that OPs and CBs could be a source of both elements. Furthermore, this correlation indicates the potential of Cd to induce neurotoxicity, which was previously studied by Gupta et al. (2015). The exact mechanism of Cd neurotoxicity is not well known, but low Cd levels were found to inhibit AChE activity in the rat brain, indicating thereby its strong neurotoxic potential to the mammals (GRUPTA et al., 2015). The element Cd, was also correlated to RBC levels, which could be related to the accumulation of Cd in erythrocytes and the presence of severe anemia in exposed populations (HORIGUCHI et al., 2010; GLUHCHEVA et



al., 2011). Chronic exposures to Cd besides being neurotoxic, are also highly nephrotoxic (PROZIALECK et al., 2012). The mechanism of toxicity is due to the tendency of Cd to accumulate in tissues such as liver and kidney. The epithelial cells of the proximal tubule accumulate Cd and may involve relatively specific changes in cell adhesion and cascades of cell signaling, resulting in a generalized dysfunction of reabsorption characterized by polyuria and low molecular weight proteinuria, causing functional impairment (PROZIALECK et al., 2012). In this way, exposure to cholinesterase-inhibiting pesticides containing the toxic element Cd may cause possible neurotoxic effects and exposure to this element may also cause possible nephrotoxic effects in these individuals.

Regarding to haematological parameters, our study demonstrated that long-term occupational exposure to pesticides resulted in a decrease of haemoglobin in farmers. Similar results, which were also within the reference values realized in farmers exposed to pesticides were reported by Mourad (2005) and Wafa et al. (2013). Haemoglobin has a vital role in the transportation of oxygen and carbon dioxide and it is the main component of red blood cells. Moreover, it was possible to observe an increase in the levels of Pb in farmers, which could be related to its presence as contaminant in technical products. After absorption, Pb is carried through the circulatory system by erythrocytes, leading to an inhibition of hemoglobin synthesis (ASTDR, 2007; YARTIREH and HASHEMIAN, 2013). In the present study, the number of lymphocytes, monocytes, basophiles, platelet and the mean volume of platelet (MPV) were significantly lower in farmers than those of non-exposed group. It is believed that a cytotoxic effect at cellular levels might occur in chronic low dose exposure before evident clinical signs and symptoms (VAROL et al., 2014). Contrary to our findings, García-García et al. (2016) observed higher values of neutrophils and lymphocytes in greenhouse workers than in the control group. According to the authors, these haematological findings indicate potential haematotoxic effects of pesticides. The findings observed herein might be due to the disorderly action of the pesticides on the erythropoietic tissue or, also, an adaptive reaction of bone marrow to a reduced viability of circulating cells because of oxidative damage, however these effects are related to the type of pesticide used.

In our study, a positive correlation was observed between AChE and mean platelet volume. The platelets exhibit a time-dependent swelling when blood samples are anticoagulated with ethylenediaminetetracetic acid (EDTA) and for reliable MPV measurement, the influence of anticoagulant on the MPV must be carefully controlled, either using an alternative anticoagulant (such as citrate) or standardizing the time delay between sampling and analysis (less than 2 h) (DASTJERDI et al., 2006). Additionally, there are reports of a significant association of MPV and age, obesity, smoking, chronic diseases and use of some drugs (VIZIOLI et al., 2009). Herein, no difference between the two groups with respect to age, BMI index, and smoking were observed, individuals with chronic diseases were excluded from this study. Moreover, Varol et al. (2014) reported that platelet number, MPV and platelet distribution width (PDW) were significantly decreased in blood samples of farm workers compared to controls. Similarly, Nassar et al. (2016) reported a significant decrease in platelet number as well as monocytes and basophils levels in spray workers from Egypt compared to the control group. Similarly, our study demonstrated that exposure to pesticides (inhibitors of AChE) might impair platelet indexes.

In this study, there was a significant correlation between Pb and neutrophils. The adverse effects of Pb on the immune system are already well explained (VALENTINO et al. 1991; SINGH et al. 2003; DI LORENZO et al. 2006), and the increase of circulating neutrophils has been well reported as an acute response to various stress situations such as acute infections (KAMINSKY et al., 2002) and occupational exposure as demonstrated here. In the current study, blood concentrations of As were significantly correlated with red blood cells, haemoglobin, and haematocrit. Chronic exposure to low doses of As seems to cause a decrease in red blood cells, haematocrit and haemoglobin, altering the haematopoietic system (KEIL et al., 2015). Following absorption by red blood cells, As can lead to haematological changes such as macrocytic anemia. However, this response is dependent on the amount of absorbed dose (LEE et al., 2004). As is naturally present at low concentrations in the environment and it is an important carcinogen. Continuous application of contaminated fertilizers may contribute to increase of As in the soil and groundwater (JAYASUMANA et al., 2015). As observed by Caciari et al. (2012), chronic exposure to low doses of As in workers exposed seems to cause a decrease in red blood cells, haematocrit and haemoglobin. Also, a positive

correlation was observed for blood Ni and lymphocytes. Indeed, a relationship between human lymphocyte antigens and Ni sensitivity exists (MOZZANICA et al., 1990), concentration of Ni can cause cell death in human lymphocytes, suppressing the immune system (ZAREI et al., 2017).

A significant increase in the serum levels of LDH, total protein, glucose and urea was observed in farmers compared to the non-exposed group, however, the means for all groups lay within the reference range. Another study also observed significant LDH and total protein levels slightly higher in farmers than in the non-exposed group (DEMOS et al. 2013). Impairment of liver function has been previously reported in those occupationally involved with farming (PATIL et al., 2003; PATIL et al., 2009; KHAN et al., 2010; DEMOS et al., 2013), either by simultaneous alterations of all biomarkers (HERNÁNDEZ et al., 2006) or slight increases of certain biomarkers (AL-SARAR et al., 2009).

In addition, the partial correlation analysis demonstrated that Cr levels were positively correlated with total bilirubin. This is the first time that the association between chromium and total bilirubin is described. Herein, the metals speciation was not performed, but it is widely recognized that environmental and occupational exposure to chromium compounds, especially hexavalent chromium (Cr (VI)), is widely recognized as potentially hepatotoxic in humans and animals (SOUDANI et al., 2011; BEN HAMIDA et al., 2016; ZHONG et al., 2017). More studies and research are needed to confirm the effects of chromium on total bilirubin and to what extent they provide a toxic effect.

Farmers from the current study presented glycemic levels higher than the non-exposed group, in spite of being within the reference values. Our results were similar to Sungur and Güven (2001), who reported that 15 patients exposed to OPs had mild hyperglycemia. The OPs may affect glucose homeostasis, impairing the hormonal control and causing hyperglycemia in exposed individuals (RAHIMI and ABDOLLAHI, 2007). Previous experimental studies revealed that exposure to OPs can induce insulin resistance in animal models (POURNOURMOHAMMADI et al., 2005; PANAHI et al., 2006; RAHIMI and ABDOLLAHI, 2007; MOSTAFALOU et al., 2012). The progressive installation of insulin resistance occurs through the dysfunction of pancreatic cells, or the decrease of insulin action in target tissues (DUTTAROY et al.,

2004). Therefore, the slight increase in glucose levels of farmers could point to a trend in the pesticide exposure to induce hyperglycemia, as previously reported.

The significant increase in urea levels in farmers observed in our study is similar to a previous study by Hassanin et al. (2017). Furthermore, Cr levels were positively correlated with urea levels. Parveen et al. (2009) reported that Cr-treated rats showed significant increases in markers of renal injury in serum, including blood urea nitrogen. Similarly, Balakrishnan et al. (2013) evaluating the protective action of  $\alpha$ -tocopherol in Cr-induced oxidative stress in female reproductive system of rats, also observed significant increases in blood urea nitrogen levels compared to those of the control group, pointing to a relationship between exposure to Cr and renal injury.

Additionally, our study also evaluated the Igs A, G and M levels. The concentration of the levels of Igs were within the reference range and, the levels of IgA and IgG were not significantly different from those of the non-exposed group. However, there was a significant increase in IgM of farmers when compared to the non-exposed group, while Undeger and Basaran (2001) and Aroonvilairat et al. (2015), detected no changes in serum IgG, IgA, IgM different from those of the non-exposed group. The serum Ig levels provide key information on the humoral immune status. When Ig levels are low, they define some humoral immunodeficiencies (BUCKLEY, 1987). However, elevated levels of Igs are observed in liver and haematological diseases, chronic inflammations, infections and malignancies (DISPENZIERI et al., 2001).

Interestingly, a significant negative correlation between BuChE activity and IgG levels was found, suggesting a direct effect of pesticide exposure in the immune system. IgM and subsequently IgG are produced predominantly in the first exposure to an allergen. Most people habitually have an immunoglobulin reaction to allergenic substances, mainly in the form of IgG antibodies, and only a few undergo a process of B cell differentiation (SCOTT-TAYLOR et al., 2017). IgGs are induced as part of the natural exposure to allergens every day, and its antibodies play a role in the induction of allergic symptoms, pathology of allergy and other autoimmune diseases (SCOTT-TAYLOR et al., 2017).

The components of the complement system C3 and C4 were evaluated in serum and a significant increase in C3 levels was observed in farmers compared to the non-exposed group. This was similar to the study of Wysocki et al. (1985), who observed an increase in C3 levels of men occupationally exposed to chlorinated pesticides. It is known that the complement system is composed of plasma proteins produced mainly by the liver or membrane proteins expressed on the cell surface (KOLEV et al. 2014). Complement proteins help the activation cascade of the complement system to opsonize pathogens and induce a series of inflammatory responses, helping immune cells to fight infection and maintain homeostasis (MERLE et al., 2015). On the other hand, the components and their cleavage products may act as mediators in certain inflammatory diseases as asthma (HÄFNER et al., 1981; THOMAS L, 1998; NAJAM et al., 2005; SJÖHOLM et al., 2006; MARKIEWSKI and LAMBRIS, 2007). Najam and collaborates (2005) analyzed 64 children, ranging in age from 1 to 12 years, with moderate to severe asthma and verified a higher serum C3 values, which was related to the action of cytokines involved in the pathogenesis of asthma. The overproduction of C3 in the present study seems to be indicative of the contribution of immunological complexes to the pathogenesis of asthma. Associations between pesticide exposure and asthma in occupational groups have been reported (HERNÁNDEZ et al., 2011), however these facts remain unclear due to the association with other mechanisms or a combination of these, such as irritation (BENNER et al., 1999), inflammation (MICHELSON et al., 2002), immunosuppression (REPETTO and BALIGA, 1997), and endocrine disruption (KJELDSEN et al., 2013).

In the adhesion molecules, farmers showed a significant decrease in monocytes and an increase in lymphocytes expression for both LFA-1 and ICAM-1. A positive correlation was observed between the AChE activity and the expression of LFA-1 and ICAM-1 in monocytes, as well as a positive correlation between AChE activity and L-selectin expression in lymphocytes and monocytes. Few data are yet available concerning the importance of LFA-1–ICAM-1 interaction, as well as involving pesticides and farmers exposure and as far as we know, this is the first study evaluating this adhesion molecules in farmers exposed to pesticides. Moreover, many studies have already reported damaging effects on the immune system after exposure to pesticides (COSTA et al., 2013; MOKARIZADEH et al.,

2015), especially in patients with impaired immune function which makes them more likely to develop allergies and asthma, as well as contribute to the induction of cancer (SKOLARCZYK et al., 2017). HOFFMAN et al. (2006) studied in vitro exposure of human T cell lines (Jurkat and H9) to bifenthrin demonstrating an increase in cell aggregation due to upregulation of ICAM and LFA-1 expression. Considering that bifenthrin is a pyrethroid used by farmers of this study, this suggests its immunotoxicity potential (HADNAGY et al., 2003; EMARA et al., 2007; SKOLARCZYK et al., 2017).

The immune system has close and mutual interaction with the various body organs and any perturbation of the immune system consequently leads to changes in the function of other systems (MOKARIZADEH et al., 2015). Evidences from experimental and epidemiological studies indicate that pesticide exposure may affect the immune system itself (MORETTO and COLOSIO, 2013) or disrupt the cytokine balance and cause other chronic diseases (WEICHENTHAL et al., 2014; DHOUIB et al., 2016; RATHISH et al., 2016), including Parkinson and Alzheimer's disease (CAMPDELACREU, 2014) and neurodevelopmental and reproductive system disorders (DEN HOND et al., 2015).

In our study, the results are insufficient to draw conclusions about the effect that pesticide exposure has on health of farmers. Moreover, the study participants have been exposed to a complex mixture of pesticides, making difficult to point out a specific pesticide or active ingredient, their concentrations, and the time of exposure responsible for this effect. Our study has certain limitations, the most relevant was the small number of men farmers participating in the biological sample collection, which could be due to the extensive work in the fields. Besides, the measurement of biomarkers for other pesticides used in the rural area than cholinesterase inhibitors, inflammatory mediators, and evaluation of lung function and bronchial responsiveness could be of great value in these population. Nevertheless, all these limitations will be considered for future research.

## **5. Conclusions**

In summary, our study showed that farmers were exposed to both pesticides and toxic metals. Farmers presented significant alterations in health, such as slight

biochemical and hematological changes, which were within the reference values, and immunological changes, possibly associated with the co-exposure to these compounds. This study evaluated, for the first time, adhesion molecules and farmers, and as can be seen, many are the changes involving the pesticide exposure and their effects on health. Therefore, only these results are insufficient to draw conclusions. Our data revealed the importance to perform a biomonitoring in farmers. To understand the mechanisms related to the interaction of pesticides and toxic elements to the immune system will help to prevent farmers health and improve the life quality in rural workers.

### **Acknowledgments**

The authors would like to thank the volunteers from Agudo and Porto Alegre, RS, Brazil. Especially to the Banrisul and Mr. Sérgio Arantes who were essential for the development of this study. The authors wish to thank all the people who volunteered to participate in this study. The authors are also grateful to Fernando Freitas and Otávio Lovison for their help during sample collection.

### **Funding**

This work was supported by PROEXT/UFRGS and Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq)/Universal (n°420379/2016-9). L. V. Cestonaro had a CAPES MSc. research fellowship.

### **Conflict of interest**

Declarations of interest: none.

## References

- [1] The WHO Website. <http://www.who.int/topics/pesticides/>, 2016. (accessed in 15 January 2018).
- [2] F. F. Carneiro. Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. **EPSJV/Expressão Popular**, 2015.
- [3] Lionetto, M. G., Caricato, R., Calisi, A., Giordano, M. E., Schettino, T. Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new insights and future perspectives. **BioMed research international** 2013.
- [4] I. C. Ervilha. Relatório: Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos no Estado de Rondônia. **Secretaria de Vigilância em saúde, Ministério da Saúde** (2012).
- [5] L. M. D. M. Adad, H. H. R. D. Andrade, K. Kvitko, M. Lehmann, A. A. D. C. M. Cavalcante, R.R. Dihl. Occupational exposure of workers to pesticides: Toxicogenetics and susceptibility gene polymorphisms." **Genetics and molecular biology** 38.3 (2015) 308-315.
- [6] D. Benedetti, E. Nunes, M. Sarmiento, C. Porto, C. E. I. dos Santos, J. F. Dias, J. da Silva. Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis** 752.1 (2013) 28-33.
- [7] V. D. S. P. da Silva, M. S. C. de Mello, U. B. Otero. Exposure to pesticides and mental disorders in a rural population of Southern Brazil. **Neurotoxicology** 56 (2016) 7-16.
- [8] E. Hodgson. Induction and inhibition of pesticide-metabolizing enzymes: roles in synergism of pesticides and pesticide action. **Toxicology and industrial health** 15.1-2 (1999) 6-11.
- [9] J. Angerer, U. Ewers, M. Wilhelm. Human biomonitoring: state of the art. **International journal of hygiene and environmental health** 210.3-4 (2007) 201-228.
- [10] J. da Silva, C. R. Moraes, V. D. Heuser, V. M. Andrade, F. R. Silva, K. Kvitko, V. Emmel, P. Rohr, D. Lilian Bordin, A. C. Andreazza, M. Salvador, J. A. P. Henriques, B. Erdtmann. Evaluation of genetic damage in a Brazilian population occupationally exposed to pesticides and its correlation with polymorphisms in metabolizing genes. **Mutagenesis** 23.5 (2008) 415-422.
- [11] C. Nicola. Bioavailability of Trace Metals in Urban Contaminated Soils. Diss. PhD Thesis Submitted to the Faculty of Graduate Studies and Research of McGill University, **McGill University**, Nicola Cook: Montreal, Canada, 1997.
- [12] L. Järup. Hazards of heavy metal contamination. **British medical bulletin** 68.1 (2003) 167-182



- [13] A. R. Memon, P. Schröder. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. **Environmental Science and Pollution Research** 16.2 (2009): 162-175.
- [14] Ng. M. Gorman, E. Stjernberg, M. Koehoorn, P. A. Demers, H. W. Davies. Exposure to pesticides and metal contaminants of fertilizer among tree planters. **Annals of occupational hygiene** 55.7 (2011) 752-763
- [15] W. Jiao, W. Chen, W., A. C. Chang, A. L. Page. Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: a review. **Environmental Pollution** 168 (2012) 44-53.
- [16] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Draft toxicological profile for cadmium. **Atlanta, GA: ATSDR**, 2007.
- [17] J. Csavina, J. Field, M. P. Taylor, S. Gao, A. Landázuri, E. A. Betterton, A. E. Sáez. A review on the importance of metals and metalloids in atmospheric dust and aerosol from mining operations. **Science of the Total Environment** 433 (2012) 58-73.
- [18] B. Sharma, S. Singh, N. J. Siddiqi. Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. **BioMed research international** 2014 (2014).
- [19] V. K. Gupta, S. Singh, A. Agrawal, N. J. Siddiqi, B. Sharma. Phytochemicals mediated remediation of neurotoxicity induced by heavy metals. **Biochemistry research international** 2015 (2015).
- [20] G. Aguilera, A. L. Colín-González, E. Rangel-López, A. Chavarría, A. Santamaría. Redox signaling, neuroinflammation, and neurodegeneration. **Antioxidants & redox signaling** 28.18 (2018) 1626-1651.
- [21] A. Kumar, B. Yegla, T. C. Foster. Redox signaling in neurotransmission and cognition during aging. **Antioxidants & redox signaling** 28.18 (2018) 1724-1745.
- [22] B. M. Trost, J. S. Tracy. Carbon–Nitrogen Bond Formation via the Vanadium Oxo Catalyzed Sigmatropic Functionalization of Allenols. **Organic letters** 19.10 (2017) 2630-2633.
- [23] B. Sharma, S. Singh, N. J. Siddiqi. Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. **BioMed research international** 2014 (2014)
- [24] A. F. Hernández, O. López, L. Rodrigo, F. Gil, G. Pena, J. L. Serrano, T. Parrón, J. C. Alvarez, J. A. Lorent, A. Pla. Changes in erythrocyte enzymes in humans long-term exposed to pesticides: influence of several markers of individual susceptibility. **Toxicology letters** 159.1 (2005) 13-21.
- [25] Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. **Environment International** 35.8 (2009) 1155-1159.
- [26] D. Benedetti, E. Nunes, M. Sarmiento, C. Porto, C. E. I. dos Santos, J. F. Dias, J. da Silva. Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis** 752.1 (2013) 28-33.

- [27] S. Mostafalou, M. Abdollahi. Pesticides: an update of human exposure and toxicity. **Archives of toxicology** 91.2 (2017) 549-599.
- [28] F. Maqbool, S. Mostafalou, H. Bahadar, M. Abdollahi. Review of endocrine disorders associated with environmental toxicants and possible involved mechanisms. **Life sciences** 145 (2016) 265-273.
- [29] M. Abdollahi, A. Ranjbar, S. Shadnia, S. Nikfar, A. Rezaiee. Pesticides and oxidative stress: a review. **Medical Science Monitor** 10.6 (2004) RA141-RA147.
- [30] S. Karami-Mohajeri, M. Abdollahi, M. Mitochondrial dysfunction and organophosphorus compounds. **Toxicology and applied pharmacology** 270.1 (2013) 39-44.
- [31] A. Mokarizadeh, M. R. Faryabi, M. A. Rezvanfar, M. Abdollahi. A comprehensive review of pesticides and the immune dysregulation: mechanisms, evidence and consequences. **Toxicology mechanisms and methods** 25.4 (2015) 258-278.
- [32] G. Zodape, M. Tayade. Presence of Cd, Co, Mg, Ni and Hg in commercially important shrimp and water sediments collected from Gorai creek of Mumbai suburb of (West Coast) India. **Journal of Environmental Science and Pollution Research**. 2.1 (2016) 60–63.
- [33] S. N. Nascimento, G. Göethel, M. Baierle, A. Barth, N. Brucker, M. F. Charão, A. M. Moro, B. Gauer, E. Sauer, J. Durgante, M. D. Arbo, F. V. Thiesen, T. D. Saint' Pierre, A. Gioda, R. Moresco, S. C. Garcia. Environmental exposure and effects on health of children from a tobacco-producing region. **Environmental Science and Pollution Research** 24.3 (2017) 2851-2865.
- [34] L. Kapka-Skrzypczak, K. Sawicki, M. Czajka, W. A. Turski. Cholinesterase activity in blood and pesticide presence in sweat as biomarkers of children's environmental exposure to crop protection chemicals. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine** 22.3 (2015).
- [35] A. C. Ochoa-Martinez, S. T. Orta-Garcia, E. M. Rico-Escobar, L. Carrizales-Yañez, J. D. M. Del Campo, L. G. Pruneda-Alvarez, T. Ruiz-Vera, A. K. Gonzalez-Palomo, I. G. Piña-Lopez, A. Torres-Dosal, I. N. Pérez-Maldonado. Exposure assessment to environmental chemicals in children from Ciudad Juarez, Chihuahua, Mexico. **Archives of environmental contamination and toxicology** 70.4 (2016) 657-670.
- [36] A. V. Carrano, A. T. Natarajan. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. **Mutation Research/Genetic Toxicology** 204.3 (1988) 379-406.
- [37] M. Jaffé. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue **Reaction des Kreatinins**. **Zeitschrift für physiologische Chemie** 10.5 (1886) 391-400.
- [38] K. S. Harlin, P. F. Ross. Enzymatic-spectrophotometric method for determination of cholinesterase activity in whole blood: collaborative study. **Journal-Association of Official Analytical Chemists** 73.4 (1990) 616-619.

- [39] V. L. Mateus, I. L. G. Monteiro, R. C. C. Rocha, T. D. Saint'Pierre, A. Gioda. Study of the chemical composition of particulate matter from the Rio de Janeiro metropolitan region, Brazil, by inductively coupled plasma-mass spectrometry and optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy** 86 (2013) 131-136.
- [40] The ANVISA Website (2016) <http://portal.anvisa.gov.br/>. Accessed 12 January 2018
- [41] The ATSDR ToxGuide (2015) <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/index.asp>. Accessed 12 January 2018
- [42] Organization, W. H. (1996). Trace elements in human nutrition and health, **World Health Organization**.
- [43] N. Defarge, J. S. de Vendômois, G. E. Séralini. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. **Toxicology reports** 5 (2018) 156-163.
- [44] A. M. Mora, B. van Wendel de Joode, D. Mergler, L. C., C. Cano, R. Quesada, D. R. Smith, J. A. Menezes-Filho, T. Lundh, C. H. Lindh, A. Bradman, B. Eskenazi. Blood and hair Manganese concentrations in pregnant women from the infants' environmental health study (ISA) in Costa Rica. **Environmental science & technology** 48.6 (2014) 3467-3476.
- [45] F. Kamel and J. A. Hoppin. Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. **Environmental health perspectives** 112.9 (2004) 950.
- [46] M. G. Lionetto, R. Caricato, A. Calisi, M. E. Giordano, T. Schettino. Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new insights and future perspectives. **BioMed research international** 2013 (2013).
- [47] V. K. Gupta, S. Singh, A. Agrawal, N. J. Siddiqi, B. Sharma. (2015). Phytochemicals mediated remediation of neurotoxicity induced by heavy metals. **Biochemistry research international**, 2015.
- [48] H. Horiguchi, K. Aoshima, E. Oguma, S. Sasaki, K. Miyamoto, Y. Hosoi, T. Katoh, F. Kayama. Latest status of cadmium accumulation and its effects on kidneys, bone, and erythropoiesis in inhabitants of the formerly cadmium-polluted Jinzu River Basin in Toyama, Japan, after restoration of rice paddies. **International archives of occupational and environmental health** 83.8 (2010) 953-970.
- [49] Y. Gluhcheva, I. Ivanov, V. Atanasov, N. Antonova, J. Ivanova, M. Mitewa. Hematological changes in case of chronic cadmium intoxication and monensin detoxication. Relationship with rheological variables. **Clinical hemorheology and microcirculation** 49.1-4 (2011) 417-422.
- [50] W. C. Prozialeck, P. C. Lamar, J. R. Edwards. Effects of sub-chronic Cd exposure on levels of copper, selenium, zinc, iron and other essential metals in rat renal cortex. **Toxicology reports** 3 (2016) 740-746.

- [51] T. Mourad Abu. Adverse impact of insecticides on the health of Palestinian farm workers in the Gaza Strip: a hematologic biomarker study. **International journal of occupational and environmental health** 11.2 (2005) 144-149.
- [52] T. Wafa, K. Nadia, N. Amel, C. Ikbal, T. Insaf, K. Asma, M. A. Hedi, H. Mohamed. Oxidative stress, hematological and biochemical alterations in farmers exposed to pesticides. **Journal of Environmental Science and Health, Part B** 48.12 (2013) 1058-1069.
- [53] Disease Registry. Toxicological Profile for Lead. **US Department of Health and Human Services**, 2007.
- [54] H. A. YARTIREH, A. H. HASHEMIAN. The effect of occupational exposure to lead on blood hemoglobin concentration in workers of kermanshah oil refinery. (2013) 766-770.
- [55] E. Varol, S. Ogut, F. Gultekin. Effect of pesticide exposure on platelet indices in farm workers. **Toxicology and industrial health** 30.7 (2014) 630-634.
- [56] C. R. García-García, T. Parrón, M. Requena, R. Alarcón, A. M. Tsatsakis, A. F. Hernández. Occupational pesticide exposure and adverse health effects at the clinical, hematological and biochemical level. **Life sciences** 145 (2016) 274-283.
- [57] M. S. Dastjerdi, T. Emami, A. Najafian, M. Amini. Mean platelet volume measurement, EDTA or citrate?. **Hematology** 11.5-6 (2006) 317-319.
- [58] L. Vizioli, S. Muscari, A. Muscari. The relationship of mean platelet volume with the risk and prognosis of cardiovascular diseases. **International journal of clinical practice** 63.10 (2009) 1509-1515.
- [59] A. M. Nassar, Y. M. Salim, F. M. Malhat. Assessment of pesticide residues in human blood and effects of occupational exposure on hematological and hormonal qualities. **Pakistan journal of biological sciences: PJBS** 19.3 (2016) 95-105.
- [60] M. Valentino, M. Governa, I. Marchiseppe, I. Visona. Effects of lead on polymorphonuclear leukocyte (PMN) functions in occupationally exposed workers. **Archives of toxicology** 65.8 (1991) 685-688.
- [61] V. K. Singh, K. P. Mishra, R. Rani, V. S. Yadav, S. K. Awasthi, S. K. Garg. Immunomodulation by lead. **Immunologic Research** 28.2 (2003) 151-165.
- [62] L. Di Lorenzo, A. Silvestroni, M. G. Martino, T. Gagliardi, M. Corfiati, L. Soleo. Evaluation of peripheral blood neutrophil leucocytes in lead-exposed workers. **International archives of occupational and environmental health** 79.6 (2006) 491-498.
- [63] P. Kaminsky, J. Deibener, J. F. Lesesve, J. C. Humbert. Changes in hemogram parameters in infections. **La Revue de medecine interne** 23.2 (2002) 132-136.
- [64] D. E. Keil, J. Berger-Ritchie, G. A. McMillin. Testing for toxic elements: a focus on arsenic, cadmium, lead, and mercury. **Laboratory Medicine** 42.12 (2011) 735-742.

- [65] J. J. Lee, Y. K. Kim, S. H. Cho, K. S. Park, I. J. Chung, D. Cho, D. W. Ryang, H. J. Kim. Hemolytic anemia as a sequela of arsenic intoxication following long-term ingestion of traditional Chinese medicine. **Journal of Korean medical science** 19.1 (2004) 127-129.
- [66] C. Jayasumana, S. Fonseka, A. Fernando, K. Jayalath, M. Amarasinghe, S. Siribaddana, S. Gunatilake, P. Paranagama. Phosphate fertilizer is a main source of arsenic in areas affected with chronic kidney disease of unknown etiology in Sri Lanka. **Springer Plus** 4.1 (2015) 90.
- [67] T. Caciari, A. Capozzella, F. Tomei, H. A. Nieto, S. De Sio, L. Montuori, M. P. Schifano, G. Andreozzi, M. Fiaschetti, G. Tomei, M. Ciarrocca. Arsenic and peripheral blood count in workers exposed to urban stressors. **La clinica terapeutica** 163.5 (2012) e293-302.
- [68] N. Mozzanica, L. Rizzolo, G. Veneroni, R. Diotti, S. Hepeisen, A. F. Finzi. HLA-A, B, C and DR antigens in nickel contact sensitivity. **British Journal of Dermatology** 122.3 (1990) 309-313.
- [69] M. H. Zarei, S. F. Hosseini Shirazi, M. Aghvami, A. Salimi, J. Pourahmad. Analysis of cytotoxic effects of nickel on human blood lymphocytes. **Toxicology mechanisms and methods** 28.2 (2018) 79-86.
- [70] K. Demos, E. Sazakli, E. Jelastopulu, N. Charokopos, J. Ellul, M. Leotsinidis. Does farming have an effect on health status? A comparison study in West Greece. **International journal of environmental research and public health** 10.3 (2013) 776-792.
- [71] J. A. Patil, A. J. Patil, S. P. Govindwar. Biochemical effects of various pesticides on sprayers of grape gardens. **Indian journal of clinical biochemistry** 18.2 (2003) 16-22.
- [72] J. A. Patil, A. J. Patil, S. P. Govindwar. Occupational pesticides exposure of sprayers of grape gardens in western Maharashtra (India): effects on liver and kidney function. **Journal of basic and clinical physiology and pharmacology** 20.4 (2009) 335-356.
- [73] D. A. Khan, S. Shabbir, M. Majid, T. A. Naqvi, F. A. Khan. Risk assessment of pesticide exposure on health of Pakistani tobacco farmers. **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology** 20.2 (2010) 196.
- [74] A. F. Hernández, O. López, L. Rodrigo, F. Gil, G. Pena, J. L. Serrano, T. Parrón, J. C. Alvarez, J. A. Lorent, A. Pla, A. Changes in erythrocyte enzymes in humans long-term exposed to pesticides: influence of several markers of individual susceptibility. **Toxicology letters** 159.1 (2005) 13-21.
- [75] A. S. Al-Sarar, Y. Abo Bakr, G. S. Al-Erimah, H. I. Hussein, A. E. Bayoumi. Hematological and biochemical alterations in occupationally pesticides-exposed workers of Riyadh municipality, Kingdom of Saudi Arabia. **Res J Environ Toxicol** 3.4 (2009) 179-185.

- [76] N. Soudani, I. B. Amara, M. Sefi, T. Boudawara, N. Zeghal, N. Effects of selenium on chromium (VI)-induced hepatotoxicity in adult rats. **Experimental and toxicologic pathology** 63.6 (2011) 541-548.
- [77] F. Ben Hamida, A. Troudi, M. Sefi, T. Boudawara, N. Zeghal. The protective effect of propylthiouracil against hepatotoxicity induced by chromium in adult mice. **Toxicology and industrial health** 32.2 (2016) 235-245.
- [78] X. Zhong, M. Zeng, H. Bian, C. Zhong, F. Xiao. An evaluation of the protective role of vitamin C in reactive oxygen species-induced hepatotoxicity due to hexavalent chromium in vitro and in vivo. **Journal of Occupational Medicine and Toxicology** 12.1 (2017) 15.
- [79] M. Sungur, M. Guven. Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. **Critical care** 5.4 (2001) 211.
- [80] R. Rahimi, M. Abdollahi. A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. **Pesticide biochemistry and physiology** 88.2 (2007) 115-121.
- [81] S. Pournourmohammadi, B. Farzami, S. N. Ostad, E. Azizi, M. Abdollahi. Effects of malathion subchronic exposure on rat skeletal muscle glucose metabolism. **Environmental toxicology and Pharmacology** 19.1 (2005) 191-196.
- [82] P. Panahi, S. Vosough-Ghanbari, S. Pournourmohammadi, S. N. Ostad, S. Nikfar, B. Minaie, M. Abdollahi. Stimulatory effects of malathion on the key enzymes activities of insulin secretion in langerhans islets, glutamate dehydrogenase and glucokinase. **Toxicology mechanisms and methods** 16.4 (2006) 161-167.
- [83] S. Mostafalou, M. A. Eghbal, A. Nili-Ahmadabadi, M. Baeri, M. Abdollahi. Biochemical evidence on the potential role of organophosphates in hepatic glucose metabolism toward insulin resistance through inflammatory signaling and free radical pathways. **Toxicology and industrial health** 28.9 (2012) 840-851.
- [84] A. Duttaroy, C. L. Zimlik, D. Gautam, Y. Cui, D. Mears, J. Wess. Muscarinic stimulation of pancreatic insulin and glucagon release is abolished in m3 muscarinic acetylcholine receptor-deficient mice. **Diabetes** 53.7 (2004) 1714-1720.
- [85] N. M. Hassanin, O. M., Awad, S. El-Fiki, R. A. Abou-Shanab, A. R. Abou-Shanab, R. A. Amer. Association between exposure to pesticides and disorder on hematological parameters and kidney function in male agricultural workers. **Environmental Science and Pollution Research** (2017) 1-6.
- [86] K. Parveen, M. R. Khan, W. A. Siddiqui. Pycnogenol® prevents potassium dichromate (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)-induced oxidative damage and nephrotoxicity in rats. **Chemico-biological interactions** 181.3 (2009) 343-350.
- [87] R. Balakrishnan, C. S. Kumar, M. U. Rani, K. Kavita, G. Boobalan, A. G. Reddy. Evaluation of protective action of α-tocopherol in chromium-induced oxidative stress in female reproductive system of rats. **Journal of natural science, biology, and medicine** 4.1 (2013) 87.

- [88] U. Undeger, N. Basaran. Effects of pesticide exposure on serum immunoglobulin and complement levels. **Immunopharmacology and immunotoxicology** 23.3 (2001) 437-443.
- [89] S. Aroonvilairat, W. Kespichayawattana, T. Sornprachum, P. Chaisuriya, T. Siwadune, K. Ratanabanangkoon. Effect of pesticide exposure on immunological, hematological and biochemical parameters in Thai orchid farmers—a cross-sectional study. **International journal of environmental research and public health** 12.6 (2015) 5846-5861.
- [90] R. H. Buckley. Immunodeficiency diseases. *JAMA* 258.20 (1987) 2841-2850.
- [91] A. Dispenzieri M. A. Gertz T. M. Therneau R. A. Kyle. Retrospective cohort study of 148 patients with polyclonal gammopathy. **Mayo Clinic Proceedings**. Vol. 76. No. 5. Elsevier, 2001.
- [92] T. H. Scott-Taylor, S. C. Axinia, S. Amin, R. Pettengell. Immunoglobulin G; structure and functional implications of different subclass modifications in initiation and resolution of allergy. **Immunity, inflammation and disease** 6.1 (2018) 13-33.
- [93] J. Wysocki, Z. Kalina, I. Owezarzy. Serum levels of immunoglobulins and C 3 component of complement in persons occupationally exposed to chlorinated pesticides. **Medycyna pracy** 36.2 (1985) 111-117.
- [94] M. Kolev, G. Le Friec, C. Kemper. Complement—tapping into new sites and effector systems. **Nature Reviews Immunology** 14.12 (2014) 811.
- [95] N. S. Merle, R. Noe, L. Halbwachs-Mecarelli, V. Fremeaux-Bacchi, L. T. Roumenina. Complement system part II: role in immunity. **Frontiers in immunology** 6 (2015) 257.
- [96] G. E. Häfner, B. Wüthrich, P. J. Grob, S. Arrenbrecht. Circulating immune complex, complement factors C3, C4, C1-inhibitor, alpha-1-antitrypsin and immunoglobulins in asthmatic patients. **Respiration**. 1981; 41:248-57.
- [97] L. Thomas. (Ed.). Clinical laboratory diagnostics: use and assessment of clinical laboratory results. **TH-books Verlagsgesellschaft**, 1998
- [98] F. E. Najam, A. H. Shembesh, A. S. M. Giasuddin. Complement components (C3, C4) in childhood asthma. **The Indian Journal of Pediatrics** 72.9 (2005) 745-749.
- [99] A. G. Sjöholm, G. Jönsson, J. H. Braconier, G. Sturfelt, L. Truedsson. Complement deficiency and disease: an update. **Molecular immunology** 43.1-2 (2006) 78-85.
- [100] M. M. Markiewski, J. D. Lambris. The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight. **The American journal of pathology** 171.3 (2007) 715-727.
- [101] A. F. HERNÁNDEZ, T. PARRÓN, R. ALARCÓN. Pesticides and asthma. **Current opinion in allergy and clinical immunology** 11.2 (2011) 90-96.

- [102] A. Bener, G. G. Lestringant, M. M. Beshwari M. A. Pasha. Respiratory symptoms, skin disorders and serum IgE levels in farm workers. **Allergie et immunologie** 31.2 (1999) 52-56.
- [103] C. Michielsen, S. Zeamari, A. Leusink-Muis, J.Vos, N. Bloksma. The environmental pollutant hexachlorobenzene causes eosinophilic and granulomatous inflammation and in vitro airways hyperreactivity in the Brown Norway rat. **Archives of toxicology** 76.4 (2002) 236-247.
- [104] R. Repetto, S. S. Baliga. Pesticides and immunosuppression: the risks to public health. **Health policy and planning** 12.2 (1997) 97-106.
- [105] L. S. Kjeldsen, M. Ghisari, E. C. Bonefeld-Jørgensen. Currently used pesticides and their mixtures affect the function of sex hormone receptors and aromatase enzyme activity. **Toxicology and applied pharmacology** 272.2 (2013) 453-464.
- [106] C. Costa, V. Rapisarda, S. Catania, C. Di Nola, C. Ledda, C. Fenga. Cytokine patterns in greenhouse workers occupationally exposed to  $\alpha$ -cypermethrin: An observational study." **Environmental toxicology and pharmacology** 36.3 (2013): 796-800.
- [107] A. Mokarizadeh, M. R. Faryabi, M. A. Rezvanfar, M. Abdollahi. A comprehensive review of pesticides and the immune dysregulation: mechanisms, evidence and consequences. **Toxicology mechanisms and methods** 25.4 (2015) 258-278.
- [108] J. SKOLARCZYK, J. PEKAR, B. NIERADKO-IWANICKA. Immune disorders induced by exposure to pyrethroid insecticides. **Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej** (Online) 71 (2017) 446-453.
- [109] N. Hoffman, V. Tran, A. Daniyan, O. Ojugbele, S. Pryor, J. Bonventre, K. Flynn, B. Weeks. Bifenthrin activates homotypic aggregation in human T-cell lines. **Medical science monitor** 12.3 (2005) BR87-BR94.
- [110] W. Hadnagy, G. Leng, D. Sugiri, U. Ranft, H. Idel. Pyrethroids used indoors–immune status of humans exposed to pyrethroids following a pest control operation–a one-year follow-up study. **International journal of hygiene and environmental health** 206.2 (2003) 93-102.
- [111] A. M. Emara, E. I. Draz. Immunotoxicological study of one of the most common over-the-counter pyrethroid insecticide products in Egypt. **Inhalation toxicology** 19.12 (2007) 997-1009.
- [112] J. SKOLARCZYK, J. PEKAR, B. NIERADKO-IWANICKA. Immune disorders induced by exposure to pyrethroid insecticides. **Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej** (Online) 71 (2017) 446-453.
- [113] A. Moretto, C. Colosio. The role of pesticide exposure in the genesis of Parkinson's disease: epidemiological studies and experimental data. **Toxicology** 307 (2013) 24-34.
- [114] S. Weichenthal, P. J. Villeneuve, R. T. Burnett, A. van Donkelaar, R. V. Martin, R. R. Jones, C. T. DellaValle, D. P. Sandler, M. H. Ward, J. A. Hoppin. Long-term



exposure to fine particulate matter: association with nonaccidental and cardiovascular mortality in the agricultural health study cohort. **Environmental health perspectives** 122.6 (2014) 609.

[115] I. Dhouib, M. Jallouli, A. Annabi, S. Marzouki, N. Gharbi, S. Elfazaa, M. M. Lasram. From immunotoxicity to carcinogenicity: the effects of carbamate pesticides on the immune system. **Environmental Science and Pollution Research** 23.10 (2016) 9448-9458.

[116] D. Rathish, S. B. Agampodi, M. A. C. S. Jayasumana, S. H. Siribaddana. From organophosphate poisoning to diabetes mellitus: The incretin effect. **Medical hypotheses** 91 (2016) 53-55.

[117] J. Campdelacreu. Parkinson's disease and Alzheimer disease: environmental risk factors. **Neurología** (English Edition) 29.9 (2014) 541-549.

[118] E. Den Hond, H. Tournaye, P. De Sutter, W. Ombelet, W. Baeyens, A. Covaci, B. Cox, T. S. Nawrot, N. Van Larebeke, T. D'Hooghe. Human exposure to endocrine disrupting chemicals and fertility: a case–control study in male subfertility patients. **Environment international** 84 (2015) 154-160.

## TABLES

**Table 1.** Characteristics of the study population.

		Non-exposure (n=54)		Farmers (n=62)	
		N (%)	Mean±SEM (Min:Max)	N (%)	Mean±SEM (Min:Max)
Gender	Male	29 (53.7%)		22 (35.5 %)	
	Female	25 (46.3%)		40 (64.5 %)	
Age (years)			43.02±1.57 (26:62)		39.96±1.27 (23:71)
Working time (years)			14.79±1.65 (1:39)		18.47±1.15 (3.4:40)
Study (years)			18.88±0.41 (11:30)		5.71±0.31 (1:15)
Body mass index (kg m <sup>-2</sup> )	Male		27.45±0.76		24.67±0.71
	Female		25.37±0.81		27.04±0.85
Blood pressure measurements (mmHg)	Systolic		112.62±2.06 (84:147)		115.16±2.08 (80:164)
	Diastolic		70.33±1.28 (53:92)		70.46±1.13 (51:93)
Smoking habits	Smoker	12 (22.2%)		20 (32.3%)	
	Non-smoking	42 (77.8%)		42 (67.7%)	
Alcohol consumption	Yes	47 (87.0%)*		37 (59.7%)	
	No	7 (13.0%)*		25 (40.3%)	
Health condition	Very good	25 (46.3%)*		2 (3.4%)	
	Good	24 (44.4%)		31 (53.4%)	
	Reasonable	5 (9.3%)*		25 (43.1%)	
Desire to stop		9 (17.0%)		19 (33.3%)	
Job satisfaction	Satisfied	43 (81.1%)		46 (80.7%)	
	Not very satisfied	10 (18.9%)		11 (19.3%)	
Workload	During the week	8 hours/day	46 (88.5%)*	20 (35.7%)	
		6 hours/day	6 (11.5%)*	1 (1.8%)	
		4 hours/day		1 (1.8%)	
	Every day	8 hours/day		29 (51.8%)*	
		6 hours/day		2 (3.6%)	
		4 hours/day		3 (5.4%)	
Income (minimum wage)	One to two	1(1.9%)		36 (62.1%)*	
	Two to three	1 (1.9%)		11 (19.0%)*	
	Three to four	3 (5.6%)		6 (10.3%)	
	More than four	49 (90.7%)		5 (8.6%)*	
Contribution of income to family support	25%	5 (9.4%)		7 (12.3%)	
	50%	13 (24.5%)		8 (14.0%)	
	75%	9 (17.0%)		6 (10.5%)	
	100%	26 (49.1%)		36 (58.1%)	

\* Significant different from non-exposed group  $p < 0.05$  by ANCOVA one-way.

**Table 2.** Farmer habits in the region of Agudo, Rio Grande do Sul, Brazil.

Farmers (n=62) N (%)						
Rural activity						
Tobacco	Corn	Bean	Rice	Manioc	Milk	Potatoes
57 (48.1%)	8 (6.9%)	3 (2.6%)	3 (2.6%)	2 (1.7%)	2 (1.7%)	1 (0.9%)
Attribution						
Prepare of the crop	Beware of seedlings	Planting	Harvest	Preparation of tobacco leaves	Preparation of pesticides	Household pesticides
44 (37.9%)	48 (41.4%)	54 (46.6%)	52 (44.8%)	46 (39.7%)	22 (19.0%)	11 (17.7%)
Storage						
Cupboard	Home					
58 (98.3%)	1 (1.7%)					
PPE use						
Yes	No					
54 (87.1%)	8 (12.9%)					
Type of PPE						
Mask	Gloves	Glasses	Apron	Shoes		
33 (53.2%)	49 (79%)	33 (53.2%)	44 (71.0%)	45 (72.6%)		
Washing work clothes						
Machine separately	Hand separately					
25 (45.5%)	30 (54.5%)					

**Table 3.** Pesticides used by farmers in the region of Agudo, Rio Grande do Sul, Brazil.

Pesticides	Commercial name	Active ingredient	Chemical class	Hazard classification <sup>a</sup>
Herbicides	Boral® 500SC	Sulfentrazone	Triazolone	Class I
	Gramoxone® 200	Paraquat	Bipyridylum	Class I
	Roundup®	Glyphosate	Glycine replaced	Class IV
	Gamit® 360CS	Clomazone	Isoxazolidinone	Class III
Inseticides	Confidor® S	Imidacloprid	Neonicotinoid	Class III
	Decis® 25EC	Deltamethrin	Pyrethroid	Class III
	Evidence® 700WG	Imidacloprid	Neonicotinoid	Class III
	Orthene® 750BR	Acephato *	Organophosphate	Class III
	Talstar® 100EC	Bifenthrin	Pyrethroid	Class II
Fungicides	Dithane® NT	Mancozeb	Dithiocarbamate	Class I
	Rovral®	Iprodione	Dicarboximide	Class IV
	Infinito®	Propamocarb/ fluopicolide *	Cabarmate/benza mide pyridine	Class III
Growth regulator	Primeplus® BR	Flumetralin	Dinitroaniline	Class I

\* ChE inhibition

<sup>a</sup> According to Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA): extremely toxic (Class 1), highly toxic (Class II), moderately toxic (Class III), and slightly toxic (Class IV) (ANVISA 2016).

**Table 4.** Concentrations of toxic elements in blood.

	Non-exposed (n=54)		Farmers (n=62)		Recommended limits
	Male (n=29)	Female (n=25)	Male (n=22)	Female (n=40)	
As ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	34.07±0.91		32.30±0.72		≤ 1
Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	0.14±0.12		0.91±0.09**		≤ 0.315
Cr ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) <sup>b</sup>	10.61±0.49		0.84±0.38**		< 5
Ni ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) <sup>b</sup>	5.34±0.20		4.58±0.16**		1 - 5
Pb ( $\mu\text{g dL}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	0.71±0.07		0.91±0.05*		≤ 1.5
Mn ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) <sup>b</sup>	6.73±1.11		6.48±0.87		4 - 15

Results are expressed as mean ± SEM.

<sup>a</sup> According to ATSDR ToxGuides™ (2015).

<sup>b</sup> According to WHO (1996).

\* Significant different from non-exposed group  $p < 0.05$  by ANCOVA one-way.

\*\*Significant different from non-exposed group  $p < 0.01$  by ANCOVA one-way.

**Table 5. Biochemical parameters.**

		Non-exposed (n=54)		Farmers (n=62)		Reference Value
		Male (n=29)	Female (n=25)	Male (n=22)	Female (n=40)	
RBC (million mm <sup>-3</sup> )		4.86±0.06		4.81±0.05		4.5 – 6.1
Hb (g dL <sup>-1</sup> )	Male	15.79±0.27		14.74±0.27**		12.8 – 17.8
	Female	13.69±0.23		13.91±0.18		11.6 – 15.6
Hct (%)	Male	46.86±0.80		45.19±0.79		39.0 – 53.0
	Female	41.41±0.66		42.45±0.53		36.0 – 48.0
MCV (µm <sup>3</sup> )		90.91±0.74		90.89±0.68		80 – 100
MCH (pg)		30.33±0.23		30.03±0.21		26 – 32
MCHC (g/dL)		33.31±0.08		32.84±0.07**		31 – 37
Platelets (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )		256.81±10.22		190.19±9.58**		140.0 – 400.0
VPM (µm <sup>3</sup> )		8.99±0.59		6.87±0.48**		9.0 – 12.7
Leukocytes (x10 <sup>3</sup> mm <sup>-3</sup> )		7111.23±298.27		7168.43±274.22		3600 – 11000
Neutrophils (x10 <sup>3</sup> mm <sup>-3</sup> )		3917.15±235.04		4366.65±216.09		1500 – 7000
Neutrophils (%)		54.00±1.51		60.50±1.39**		
Lymphocytes (x10 <sup>3</sup> mm <sup>-3</sup> )		2387.91±99.19		2054.40±91.19**		1000 – 4500
Lymphocytes (%)		34.55±1.28		29.21±1.18**		
Monocytes (x10 <sup>3</sup> mm <sup>-3</sup> )		539.64±24.31		468.78±22.35*		100 – 1000
Monocytes (%)		7.71±0.27		6.63±0.25**		
Eosinophils (x10 <sup>3</sup> mm <sup>-3</sup> )		212.69±39.28		259.87±40.99		100 – 1000
Eosinophils (%)		3.62±0.55		3.58±0.50		
Basophils (x10 <sup>3</sup> mm <sup>-3</sup> )		6.81±0.61		4.76±0.57**		0 – 200
Basophils (%)		0.09±0.00		0.05±0.00**		

*Hb* hemoglobin, *Hct* hematocrit, *RBC* red blood cell count, *MCV* mean corpuscular volume, *MHC* mean corpuscular hemoglobin

<sup>a</sup> According Failace R, et al., 2009.

\* Significant different from non-exposed group  $p < 0.05$  by ANCOVA one-way.

\*\*Significant different from non-exposed group  $p < 0.01$  by ANCOVA one-way.

**Table 6. Haematological parameters.**

		Non-exposed (n=54)		Farmers (n=62)		Reference Value <sup>a</sup>
		Male (n=29)	Female (n=25)	Male (n=22)	Female (n=40)	
Glucose (mg dL <sup>-1</sup> )		84.66±1.32		90.70±1.07**		65 – 99
AST (UL <sup>-1</sup> )	Male	30.04±1.44		28.13±1.26		11 – 39
	Female	29.36±1.21		28.12±0.87		10 – 37
ALT (UL <sup>-1</sup> )		26.59±1.41		22.60±1.15*		05 – 38
GGT (UL <sup>-1</sup> )	Male	37.13±4.13		28.72±53.64		≤ 55
	Female	37.18±7.58		43.21±5.49		≤ 38
Total bilirubin (mg dL <sup>-1</sup> )		0.68±0.04		0.66±0.03		0.1 – 1.2
Direct bilirubin (mg dL <sup>-1</sup> )		0.21±0.01		0.22±0.01		≤ 0.4
Urea (mg dL <sup>-1</sup> )		21.87±1.05		26.78±0.85**		15 – 40
Serum creatinine (mg dL <sup>-1</sup> )		0.93±0.01		0.84±0.01**		0.4 – 1.4
Alkaline phosphate (UL <sup>-1</sup> )		73.24±3.79		71.23±3.08		12 – 43
LDH (UL <sup>-1</sup> )		286.56±8.07		291.55±6.56*		200 – 480
C-reactive protein (mg L <sup>-1</sup> )		3.42±0.66		2.90±0.60		≤ 8
Total protein (g dL <sup>-1</sup> )		6.80±0.07		7.12±0.05**		6.0 – 8.0

Results are expressed as mean ± SEM.

<sup>a</sup> According to the manufactor Bioclin.

\* Significant different from non-exposed group  $p < 0.05$  by ANCOVA one-way.

\*\*Significant different from non-exposed group  $p < 0.01$  by ANCOVA one-way.

**Table 7.** Immunoglobulins and complement parameters.

	Non-exposed (n=54)		Farmers (n=62)		Reference Value <sup>a</sup>
	Male (n=29)	Female (n=25)	Male (n=22)	Female (n=40)	
IgA (mg dL <sup>-1</sup> )	215.63±11.38		226.34±9.22		70 – 380
IgG (mg dL <sup>-1</sup> )	1179.07±38.25		1235.36±31.09		650 – 1.500
IgM (mg dL <sup>-1</sup> )	105.43±8.29		135.84±6.74**		38 – 280
C3 (mg dL <sup>-1</sup> )	137.48±3.85		155.82±3.13**		75 – 135
C4 (mg dL <sup>-1</sup> )	32.79±1.63		31.95±1.33		9 – 36

Results are expressed as mean ± SEM

<sup>a</sup> According to the manufacturer Bioclin

\* Significant different from non-exposed group  $p < 0.05$  by ANCOVA one-way.

\*\* Significant different from non-exposed group  $p < 0.01$  by ANCOVA one-way.

**Table 8.** Partial correlations among biomarkers of exposure and biochemical, immunological, and haematological parameters.

		R	P
BuChE	Immunoglobulin IgG	-0.197	0.038
	VPM	0.243	0.010
	Cd	-0.198	0.042
	Mn	-0.199	0.042
AChE	% lymphocytes expressin L-selectin	0.218	0.029
	% monocytes expressin L-selectin	0.218	0.028
	% monocytes expressin LFA-1	0.223	0.023
	% monocytes expressin ICAM-1	0.222	0.024
Cr	Total bilirubin	0.257	0.008
	Urea	0.192	0.048
Pb	Neutrophilis	0.214	0.044
Cd	RBC	0.238	0.025
Ni	Lymohocytes	0.256	0.015
	Mn	0.352	0.000
As	Cd	0.312	0.001
	Ni	0.445	0.000
	RBC	0.330	0.002
	Hb	0.341	0.001
	Hct	0.333	0.001

Abbreviations: *Hb* hemoglobin, *Hct* hematocrit, *RBC* red blood cell count.

Partial correlations adjusted by sex, body mass index, smoking habits and alcohol consumption.

## FIGURE LEGENDS

**Fig. 1.** AChE (U L<sup>-1</sup>) and BuChE (U L<sup>-1</sup>) activity in non-exposed and farmers group. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM. \*\*  $p < 0.01$  (ANCOVA one-way).

**Fig. 2.** Expression of LFA-1, ICAM-1 and L-selectin on monocytes and lymphocytes in the non-exposed group. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM. \* $p < 0.05$  \*\* $p < 0.01$  (ANCOVA one-way).

Figure 1.

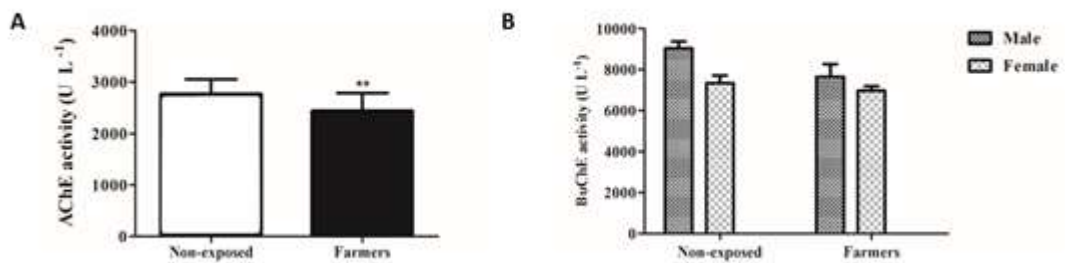
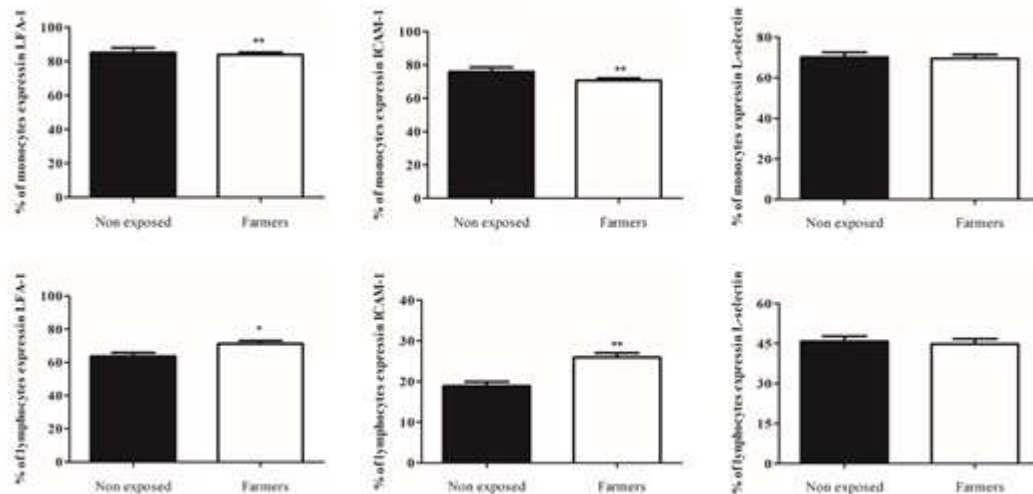


Figure 2.







**DISCUSSÃO**

---

---



A seguinte dissertação avaliou um grupo de agricultores do município de Agudo (RS), segundo dados disponibilizados pelo IBGE (2010), Agudo apresenta uma população residente de 16.722 habitantes, destes, 9.833 pessoas constituem uma situação domiciliar rural e, 6.889 urbana. Destes habitantes, 50,1% corresponde a população do sexo feminino e 49,1% do sexo masculino. Este dado corrobora como que foi observado no presente estudo, uma maior proporção do sexo feminino no grupo exposto, entretanto, estatisticamente não significativa. Entre as razões para isto estão a própria composição da população brasileira, onde os dados apresentados pela PNAD (Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios, 2015) mostram que no Brasil o número de mulheres (51,48%) é superior ao de homens (48,52%).

A análise dos questionários revelou também que os agricultores têm uma baixa escolaridade, corroborando com os dados publicados pelo IBGE (2010), que indicam uma taxa de analfabetismo de 6,78% em pessoas com 15 anos ou mais. Aliado a isso, outra dificuldade presente é a linguagem presentes nos bulários dos agrotóxicos, uma vez que é elaborada de forma técnica e inadequada aos usuários. Acredita-se que a baixa escolaridade possa contribuir para o aumento dos riscos de intoxicações por agrotóxicos, levando a não ler as instruções dos fabricantes antes de usar ou, ler mas apresentar dificuldades de interpretar os rótulos destes produtos e, conseqüentemente, a uma menor conscientização sobre seus riscos. Por isso, se faz importante que as instruções estejam em uma linguagem que possa ser lida e compreendida (NALWANGA et al., 2011).

Os agricultores apresentam um maior hábito de fumar (32,3%) em relação ao grupo não exposto (22,2%), o que também foi observado por Faria et al. (2009), avaliando as intoxicações por agrotóxicos entre trabalhadores rurais de fruticultura de Bento Gonçalves (RS) em que agricultores apresentaram o mesmo padrão de comportamento em relação ao hábito de fumar apresentado neste estudo. Além disso, 48,1% dos agricultores relataram a fumicultura como prática agrícola, a qual pode estimular o consumo do produto (ANDERSON, 2006). O hábito de fumar também pode ser associado a baixa escolaridade (FARIA et al., 2004; CARGNIN et al., 2016). Um estudo realizado por CAI et al., (2012) destaca que pessoas de baixa escolaridade, com menor poder aquisitivo e que estão desempregadas mostram

maiores probabilidades de se tornarem fumantes, enquanto indivíduos com níveis mais elevados de educação apresentam menor probabilidade de fumar. Além disso, o manuseio da planta na rotina diária com a plantação de tabaco, pode levar os fumicultores a apresentarem riscos associados a exposição ao tabaco por via dérmica, conhecido como doença do tabaco verde (CAI et al., 2012).

Por outro lado, o grupo não exposto apresentou um maior consumo de bebidas alcoólicas que os agricultores. Isto pode estar relacionado ao fato de que, entre os indivíduos não expostos, por morarem em uma cidade maior e com mais oportunidades, o hábito de beber seja mais “comum” do que comparado aos agricultores.

Outro dado que se destacou foi que quase metade dos agricultores relatou apresentar um estado geral de saúde razoável (43,2%). Este dado pode estar relacionado a dificuldades no acesso a serviços de saúde especializados (ADAMI et al., 2011) e a um acompanhamento periódico realizado por profissionais da saúde. Apesar da existência de serviços de saúde em área rurais, através da Estratégia de Saúde da Família (ESF), é necessário capacitar as equipes de ESF, em especial às que atendem em área rural, afim de reconhecer e realizar o manejo correto em casos de intoxicações por agrotóxicos. Além disso, difundir o conhecimento visando a prevenção e redução dos efeitos da exposição aos agrotóxicos, uma vez que existe essa escassez de informações toxicológicas para profissionais da saúde, devido a rapidez com que a indústria de agrotóxicos produz novos produtos. Assim, boa parte das informações disponíveis versam sobre as classes tradicionais de agrotóxicos (inseticidas inibidores da colinesterase) e, como observado neste estudo, os agricultores relataram utilizar uma variedade de agrotóxicos (FARIA et al., 2011).

De modo geral, a maior parte dos agricultores (80,7%) relatou estar satisfeita com o trabalho, ou seja, quanto mais arrecadam com as culturas, mais satisfeitos ficam, o que impulsiona a produzir cada vez mais, uma vez que eles diversificam a produção ao longo do ano. Conseqüentemente, apenas 33,3% dos agricultores relataram ter vontade de parar de trabalhar com a lavoura. Isso, de certa forma, está relacionado ao fato da lavoura ser uma fonte significativa de contribuição na renda da família. De modo semelhante, Heemann (2009) observou que apenas 4,8% dos

trabalhadores rurais tinham vontade de parar. O autor acredita que esta baixa prevalência se dá devido à influência da indústria e às estratégias de marketing envolvidas nas populações mais vulneráveis.

Quando comparada a carga de trabalho (8 h/dia) durante a semana, o grupo não exposto trabalha mais horas do que os agricultores, mas quando comparada a carga horária de trabalho (8 h/dia) todos os dias, os agricultores trabalham mais, dado que a demanda de trabalho na lavoura é alta e o trabalho é diário. Em 2015, segundo os dados divulgados pelo IBGE o salário médio mensal era de 2,1 salários mínimos (R\$ 788,00) para a cidade de Agudo (RS). Considerando domicílios com rendimentos mensais de até meio salário mínimo por pessoa, 25.5% da população estava nestas condições. Esse resultado é similar ao obtido em nosso estudo, mesmo havendo aumento anual do salário, o perfil relatado pelos agricultores, de receber de um a dois salários mínimos, com base no salário mínimo nacional de 2017 (R\$ 937,00) continua o mesmo. Nossos resultados vão de encontro ao realizado por Bonato (2009), onde 38% dos agricultores que plantam tabaco ganham com seu plantio uma renda inferior a dois salários mínimos e apenas 17% ganham menos de um salário mínimo mensal. Em relação a contribuição da renda do trabalho para o apoio familiar, os resultados entre os grupos foram semelhantes, ambos apresentaram que a maior parte de sua renda vai para o apoio familiar.

Como mencionado anteriormente, a agricultura é a principal força motriz da economia do município de Agudo (RS). Apesar do relato de outras atividades agropecuárias, o cultivo do tabaco é o mais realizado pelos agricultores e também a maior fonte de renda. Devido aos riscos associados ao cultivo do tabaco, principalmente o alto uso de agrotóxicos, é válido ressaltar que existe uma tentativa, ainda que por uma pequena parte dos agricultores, de migração para a produção de leite. Tal atividade tem sido intensificada na área rural de Agudo (RS) em virtude da geração contínua de renda ao longo do ano e da compatibilização com outras atividades sazonais ou permanentes no mesmo período. Atividades rurais não agrícolas podem estar relacionadas com a necessidade da diversificação de renda, embora algumas condições como capital inicial, garantia de crédito, educação e infraestrutura constituam limitações encontradas (NEY & HOFFMANN, 2008).

Devido ao extenso uso de agrotóxicos, o armazenamento dos mesmos costuma se dar em armários para este fim como é possível observar neste estudo (98,3%). Estando de acordo com a Norma da ABNT/NBR 9843/2013, de 31/07/2013, a qual estabelece os requisitos para o armazenamento de agrotóxicos e afins, de modo a garantir a segurança e a saúde das pessoas e preservar o meio ambiente e o produto.

O uso de EPIs durante a aplicação de agrotóxicos pode reduzir consideravelmente a incidência de doenças relacionadas à exposição. Mais da metade dos agricultores (87,1%) relataram utilizar EPIs, sendo mais utilizadas as luvas (79%). Este dado difere do observado por Garcia-Garcia et al. (2015) que verificaram que quase 60% dos trabalhadores de estufa de plástico no sudeste da Espanha envolvidos na aplicação de agrotóxicos não utilizavam EPIs durante a pulverização e uma maior proporção (quase 80%) não fazia uso de EPIs durante a mistura/carregamento dos agrotóxicos. Em outro estudo realizado com produtores de laranjas da região do Vale do Caí (RS), apenas 38% dos agricultores usavam EPIs completos (LERMEN et al.,2018). Cabe ressaltar que, apenas o uso de alguns EPIs, não protege totalmente os agricultores quanto aos riscos de intoxicações, mas sim o uso adequado de todos os EPIs garante uma maior proteção. A lavagem das roupas de trabalho pode ser outra forma de contato com agrotóxicos. Neste sentido, a maior parte dos agricultores entrevistados (54,5%) lavam suas roupas à mão, sem luvas e separadamente e, enquanto 45,4% lavam suas roupas separadamente na máquina.

Como mencionado, os agricultores incluídos neste estudo manuseiam uma variedade de produtos. Dentre estes, três produtos contêm ingredientes ativos classificados como extremamente tóxicos, um altamente tóxico, sete como moderadamente tóxico e dois como ligeiramente tóxicos de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (ANVISA, 2016). Dos produtos classificados como moderadamente tóxicos, dois deles são inibidores da ChE. No estudo realizado por Garcia-Garcia et al. (2015), os autores também observaram que os trabalhadores de estufa de plástico estavam expostos a poucos agrotóxicos inibidores da ChE, assim como observado neste estudo.

Muitos estudos relataram a alta exposição à agrotóxicos e seus efeitos nos trabalhadores rurais do estado do Rio Grande do Sul (DO NASCIMENTO et al., 2015; ALVES et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2017; BENEDETTI et al., 2017; LERMEN et al., 2018). Neste contexto, muitos agricultores são vulneráveis aos efeitos dos agrotóxicos e a exposição na idade adulta ainda é uma ameaça preocupante. A maior parte do conhecimento em relação aos agrotóxicos se dá para os inseticidas inibidores da ChE. Os OPs são produtos amplamente utilizados para o controle de pragas agrícolas em todo o mundo (FARIA et al., 2009) e muitos estudos demonstraram seus efeitos tóxicos na saúde humana (STRONG et al., 2004; TERRY JR, 2012; SURATMAN et al., 2015), tais como, efeitos neurológicos (BLAIN, 2001), cognitivos (MUÑOZ-QUEZADA et al., 2016) e cardíacos (HUNG et al., 2015). Já os CBs apresentam efeitos em modelos in vitro, animais de laboratório e em seres humanos, tais como indução de estresse oxidativo, alteração do sistema imune e disfunção dos sistemas colinérgico e endócrino (DHOUIB et al. 2016).

Portanto, as atividades da AChE eritrocitária e de BuChE plasmática foram medidas como forma de avaliar a exposição aos inseticidas inibidores da ChE. As diretrizes brasileiras NR-7 (última atualização em 9 de dezembro de 2013) e NR-31 (última atualização em 9 de dezembro de 2013) estabeleceram que os agricultores devem ser submetidos a exames médicos ocupacionais, incluindo medidas das atividades da AChE e BuChE. A atividade pré-ocupacional é considerada como o valor de referência para atividades ocupacionais. No entanto, como observado por Nascimento et al. (2015, 2016, 2017), os trabalhadores rurais crescem e vivem no local de trabalho, o que torna impossível definir os limites da exposição ocupacional.

Apesar disso, as medidas das atividades da AChE e BuChE continuam sendo o indicador mais utilizado do efeito da exposição a agrotóxicos em avaliações laboratoriais. Nossos achados mostraram que os agricultores expostos a agrotóxicos apresentaram uma inibição da atividade de AChE, que está relacionada à exposição aos inseticidas OPs e CBs. Esses dados corroboram outros estudos, em que a atividade da colinesterase foi inibida em populações expostas a agrotóxicos (VON OSTEN et al., 2004; JINTANA et al., 2009; NERILO et al., 2014). A inibição da AChE é refletida através de efeitos biológicos no sistema nervoso. Ela também mostra uma menor taxa de recuperação, o que produz um efeito inibitório cumulativo sobre a

atividade da enzima. A AChE se mostra mais sensível em relação a BuChE quando se pretende avaliar exposições crônicas à OPs e CBs (KAMEL e HOPPIN, 2004). Portanto, as medidas de AChE são geralmente preferidas em relação ao BuChE porque podem fornecer uma melhor representação da inibição da AChE neural (LIONETTO et al., 2013), como foi observado neste estudo.

Os metais estão presentes no solo, nos fertilizantes e na composição de agrotóxicos como mencionado anteriormente. A combinação de agrotóxicos e metais pode potencializar os efeitos desses produtos. No presente estudo, a atividade de AChE foi correlacionada com níveis de Cd e Mn no sangue, indicando que OPs e CBs poderiam ser uma fonte exposição de ambos os elementos. Tal correlação também aponta um potencial neurotóxico destes elementos, a qual foi previamente estudada por Grupta et al. (2015).

No que se refere aos limites recomendados de metais, o relatório da WHO (1996), apresenta valores sob a forma de intervalos seguros. Estes intervalos não representam requisitos individuais, mas sim, limites de uma adequação e segurança para uma população. Entretanto, o ATSDR ToxGuides™ (2015), apresenta um guia de referência rápido e fornece informações como fontes de exposição, rotas de exposição, níveis mínimos de risco, entre outros. No entanto, não apresenta os níveis mínimos de risco para todas as possíveis amostras analisadas. Também é necessário destacar o fato de que tais limites são recomendados, mas a presença elevada de dado elemento já proporciona um risco tóxico.

Algumas alterações hematológicas foram observadas, no entanto todos os resultados estavam dentro dos valores de referência. Resultados semelhantes em agricultores expostos a agrotóxicos foram relatados por Mourad (2005) e Wafa et al. (2013), os autores também relataram que a exposição ocupacional a agrotóxicos resultou em alterações de alguns parâmetros hematológicos, como a diminuição da hemoglobina, assim como observado neste trabalho. Acredita-se que a exposição crônica a baixas doses pode se acumular em sistemas biológicos e pode ter um efeito citotóxico em níveis celulares antes de ocorrer sinais e sintomas clínicos evidentes.



Os agricultores apresentaram maior glicemia quando comparados ao grupo não exposto, apesar de estar dentro dos valores de referência. Nossos resultados foram semelhantes a Sungur e Güven (2001), que relataram que 15 indivíduos expostos a OPs apresentavam hiperglicemia leve. Como já descrito na literatura, os OPs podem afetar a homeostasia da glicose, causando hiperglicemia em indivíduos expostos (RAHIMI e ABDOLLAHI, 2007). Alterações em biomarcadores de função hepática também foram encontradas nos agricultores. Tal achado é semelhante a hepatotoxicidade induzida por diversos agrotóxicos já relatos em modelos animais (REZG et al., 2008; BINUKUMAR et al., 2010; KARAMI-MOHAJERI e ABDOLLAHI, 2011) e em agricultores expostos por longo período (EL-DEMERDASH et al., 2001; MICHALEK et al., 2001; PATIL et al., 2009; HERNÁNDEZ et al., 2013; WAFA et al., 2013). Alterações semelhantes também foram encontrados para biomarcadores de função renal, que também já foi observada em agricultores expostos (Hassanin et al. 2017).

Os resultados também evidenciam que o sistema imune dos agricultores apresenta alterações devido à exposição à agrotóxicos. Os efeitos nocivos sobre o sistema imunológico após exposições à agrotóxicos já foram relatados na literatura (MORETTO & COLOSIO, 2013; COSTA et al., 2013; MOKARIZADEH et al., 2015). Uma correlação negativa significativa entre a atividade da BuChE e os níveis de IgG foi encontrada. Um aumento dos níveis de IgG proporcional a inibição da BuChE pode estar relacionada a síndromes inflamatórias auto-imunes ou processos alérgicos, ambos observados anteriormente em agricultores (SCOTT-TAYLOR et al., 2017).

Além disso, os agricultores apresentaram um aumento significativo no complemento C3 em relação ao grupo não exposto, que foi ligeiramente acima do valor de referência. Este resultado é semelhante ao que também foi observado por Wysocki et al. (1985), onde os autores relataram um aumento nos níveis de complemento de IgM e C3 no soro de homens ocupacionalmente expostos à agrotóxicos clorados.

Entretanto, divergências com outros estudos da literatura foram observadas (AROONVILAIRAT et al., 2015, UNDEGER e BASARAN, 2001), o que pode ser resultado dos diferentes compostos em questão, ou das misturas de xenobióticos

que os indivíduos foram expostos, portanto, apenas uma determinada classe de imunoglobulina pode ser afetada.

Verificou-se também uma correlação positiva entre a atividade de AChE e a expressão de L-selectina em linfócitos e monócitos, bem como com a expressão de LFA-1 e ICAM-1 em monócitos. Em um estudo *in vitro*, realizado em células T (Jurkat e H9) avaliou a exposição à bifentrina. O estudo demonstrou um aumento na agregação celular devido à regulação positiva da expressão de ICAM-1 e LFA-1 (HOFFMAN et al., 2006). A bifentrina é um agrotóxico pertencente à classe dos piretróides e, estudos sugerem que os piretróides são tóxicos para o sistema imunológico (HADNAGY et al., 2003; EMARA et al., 2007; SKOLARCZYK et al., 2017). Mesmo em limites aceitáveis, a exposição à bifentrina pode aumentar o risco e a frequência de respostas e doenças inflamatórias, como a asma, bem como pode causar alergias e contribuir para a indução de câncer, especialmente em pacientes com função imune prejudicada (SKOLARCZYK et al., 2017).

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a avaliar essa molécula de adesão em agricultores expostos à agrotóxicos. Entretanto, os resultados são insuficientes para tirar conclusões sobre o efeito que a exposição à agrotóxicos tem sobre estas moléculas de adesão.

Considera-se como limitação do estudo ter uma diferença em relação ao sexo entre os grupos. Bem como por ter um delineamento transversal, impossibilitando a identificação de causalidade (ingestão de álcool e tabaco). Acredita-se que a pesquisa deveria ser realizada a todos os adultos integrantes do núcleo familiar, e não apenas a um indivíduo a fim de ter resultados mais representativos, entretanto, devido a demanda de trabalho, isso não se fez possível. Outra limitação é o difícil acesso aos locais mais afastados, no interior do estado, impossibilitando visitas mais rotineiras.

Com os avanços e a busca implacável da indústria de agrotóxicos por novos ingredientes ativos e novas formulações, a busca por indicadores de exposição se torna um problema para estudos epidemiológicos. A existência de um único biomarcador de exposição a agrotóxicos (por exemplo, AChE para exposição a OPs e CBs) torna difícil a compreensão dos mecanismos por trás dos potenciais efeitos

dos agrotóxicos. Considerando que os agricultores utilizam uma mistura complexa de produtos, faz-se necessário um conjunto de biomarcadores para os xenobióticos presentes no meio rural. A identificação das interações dos xenobióticos presentes no meio rural com o organismo ajudará na compreensão do papel dos agrotóxicos no desenvolvimento de várias doenças e complicações apresentadas por indivíduos expostos, além de melhorar a qualidade de vida destes indivíduos.



**CONCLUSÃO**

---

---



- Há uma associação entre a exposição ocupacional à agrotóxicos e metais em áreas rurais;
- Não houve associação entre a exposição ocupacional à agrotóxicos e metais sobre a pressão arterial;
- Observou-se uma diminuição nos valores de Hb nos agricultores quando comparado ao grupo não exposto, mas dentro dos valores de referência;
- Observou-se alterações significativas em marcadores de perfil glicêmico, função hepática e função renal nos agricultores, mas quando comparado ao grupo não exposto, mas dentro dos valores de referência;
- A exposição à agrotóxicos e metais pode estar relacionada a um estado pró-inflamatório em indivíduos expostos;
- Alterações dos níveis de imunoglobulinas e na expressão de moléculas de adesão estão relacionadas a imunotoxicidade dos agrotóxicos e metais.





## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

---



ABIRAMI, Ramanan; SELVAKUMAR, N. Development of a test equipment for pesticide protective fabric evaluation and studies on simple cotton woven fabrics. **Journal of Industrial Textiles**, v. 43, n. 4, p. 549-564, 2014.

ABNT. ABNT NBR 9843-1:2013. 2013. Disponível em: <<http://www.abntcatalogo.com.br>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2018.

ADAMI, Hans-Olov et al. Toxicology and epidemiology: improving the science with a framework for combining toxicological and epidemiological evidence to establish causal inference. **Toxicological Sciences**, v. 122, n. 2, p. 223-234, 2011.

AGOSTINETTO, Dirceu et al. Caracterização da fumicultura no município de Pelotas-RS. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 6, n. 2, 2000.

AGROW. Complete guide to generic pesticides. 2007. Disponível em: <[http://www.agrow.com/multimedia/archive/00053/DS258\\_58994a\\_53150a.pdf](http://www.agrow.com/multimedia/archive/00053/DS258_58994a_53150a.pdf)>. Acessado em 10 de fev. 2018.

ALAVANJA, M. et al. Pesticides and lung cancer risk in the agricultural health study cohort. **American Journal of Epidemiology**, v. 160, n. 9, p. 876-885, 2004.

ALAVANJA, M. C.R.; BONNER, M. R. Occupational pesticide exposures and cancer risk: a review. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 15, n. 4, p. 238-263, 2012.

ALAVANJA, M. C.R.; ROSS, M. K.; BONNER, M. R. Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 63, n. 2, p. 120-142, 2013.

ALBERTINI, R. et al. The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessments. **Environmental health perspectives**, v. 114, n. 11, p. 1755, 2006.

ALMEIDA, Guilherme EG de. Fumo: servidão moderna e violação de direitos humanos. **Curitiba: Terra de Direitos**, v. 168, 2005.

ALVES, Jodel S. et al. Investigation of potential biomarkers for the early diagnosis of cellular stability after the exposure of agricultural workers to pesticides. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 1, p. 349-360, 2016.

AMARAL, André FS. Pesticides and asthma: challenges for epidemiology. **Frontiers in public health**, v. 2, p. 6, 2014.

AMORIM, Leiliane Coelho André. O uso dos biomarcadores na avaliação da exposição ocupacional a substâncias químicas. 2003.

ANDERSON, S. E.; MEADE, B. J. Potential health effects associated with dermal exposure to occupational chemicals. **Environmental health insights**, v. 8, p. EHI. S15258, 2014.

ANGERER, J. et al. Strategic biomonitoring initiatives: moving the science forward. **Toxicological Sciences**, v. 93, n. 1, p. 3-10, 2006.

ANGERER, J.; EWERS, U.; WILHELM, M. Human biomonitoring: state of the art. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 210, n. 3-4, p. 201-228, 2007.

ANNANGI, B. et al. Biomonitoring of humans exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium, and complex mixtures of metals by using the micronucleus test in lymphocytes. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 770, p. 140-161, 2016.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Agrotóxicos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/agrotoxicos>>. Acessado em 10 de fev. 2018.

Aroonvilairat, S., et al. (2015). Effect of pesticide exposure on immunological, hematological and biochemical parameters in thai orchid farmers- a cross-sectional study. **Int J Environ Res Public Health** 12(6): 5846-5861.

ASOGWA, E. U.; DONGO, L. N. Problems associated with pesticide usage and application in Nigerian cocoa production: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 8, p. 675-683, 2009.

Atlas Socioeconômico do Estado do Rio Grande do Sul publicado pela **Secretaria de Planejamento, Governança e Gestão** (SPGG/RS) de 5 de outubro de 2016. Disponível em: <<http://www.atlassocioeconomico.rs.gov.br/participacao-do-pib-estadual>>. Acessado em 10 de fev. 2018.

ATSDR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxic Substances Index**. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov>>. Acessado em 15 de fev. 2018.

AUSTINC, Christine; NIEDZWIECKI, Megan M.; ARORA, Manish. Multi-elemental bio-imaging of tissues in children's environmental health research. **Current opinion in pediatrics**, v. 28, n. 2, p. 216, 2016.

BALTAZAR, M. T. et al. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases—a mechanistic approach. **Toxicology letters**, v. 230, n. 2, p. 85-103, 2014.

BENEDETTI, D. et al. Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assay. **Mutation Research**, v. 752, p. 28-33, 2013.

BENEDETTI, Danieli et al. DNA damage and epigenetic alteration in soybean farmers exposed to complex mixture of pesticides. **Mutagenesis**, 2017.

BEVAN, R. et al. Framework for the development and application of environmental biological monitoring guidance values. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 63, n. 3, p. 453-460, 2012.

BEVERIDGE, T. J. et al. Metal-microbe interactions: contemporary approaches. In: Advances in microbial physiology. **Academic Press**, 1996. p. 177-243.

BINUKUMAR, B. K. et al. Mitochondrial energy metabolism impairment and liver dysfunction following chronic exposure to dichlorvos. **Toxicology**, v. 270, n. 2-3, p. 77-84, 2010.

BONATO, A. A. A fumicultura e a Convenção-Quadro: desafios para a diversificação Departamento de Estudos Sócio-Econômicos Rurais. (DESER). **Revista do Departamento de Estudos Sócio-Econômicos Rurais**, Curitiba (PR), out. 2009.

BUDNIK, Lygia T.; BAUR, Xaver. The assessment of environmental and occupational exposure to hazardous substances by biomonitoring. **Deutsches Arzteblatt International**, v. 106, n. 6, p. 91, 2009.

BLAIN, P. G. Adverse health effects after low level exposure to organophosphates. 2001.

BLAIR, Aaron; FREEMAN, Laura Beane. Epidemiologic studies in agricultural populations: observations and future directions. **Journal of agromedicine**, v. 14, n. 2, p. 125-131, 2009.

BLANCO-MUNOZ, Julia; LACASANA, Marina. Practices in pesticide handling and the use of personal protective equipment in Mexican agricultural workers. **Journal of agromedicine**, v. 16, n. 2, p. 117-126, 2011.

BRADL, Heike (Ed.). Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation. **Elsevier**, 2005.

BRASIL. Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 1989. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Leis/L7802.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L7802.htm)>. Acessado em 10 de fev. 2018.

BRUINS, Mark R.; KAPIL, Sanjay; OEHME, Frederick W. Microbial resistance to metals in the environment. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 45, n. 3, p. 198-207, 2000.

BRUCKER, Natália et al. Relationship between blood metals and inflammation in taxi drivers. **Clínica Chimica Acta**, v. 444, p. 176-181, 2015.

CAÑAS, Ana I. et al. Blood lead levels in a representative sample of the Spanish adult population: The BIOAMBIENT. ES project. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 217, n. 4-5, p. 452-459, 2014.

CAI, Le et al. Patterns and socioeconomic influences of tobacco exposure in tobacco cultivating rural areas of Yunnan Province, China. **BMC Public Health**, v. 12, n. 1, p. 842, 2012.

CARGNIN, Marcia Casaril dos Santos et al. TOBACCO GROWING VERSUS THE HEALTH OF TOBACCO GROWERS. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 25, n. 2, 2016.

CARLIN, Danielle J. et al. Unraveling the health effects of environmental mixtures: an NIEHS priority. **Environmental health perspectives**, v. 121, n. 1, p. a6, 2013.

CAO, Suzhen et al. Health risks of children's cumulative and aggregative exposure to metals and metalloids in a typical urban environment in China. **Chemosphere**, v. 147, p. 404-411, 2016.

CHAIM, A.; SILVA, C. M. M. S.; FAY, E. F. Tecnologia de aplicação de agrotóxicos: fatores que afetam a eficiência e o impacto ambiental. Silva CMMS e Fay EF. **Agrotóxicos & Ambiente**. Brasília: Embrapa, p. 289-317, 2004.

CHEN, Liqun et al. Characterization of the interaction between cadmium and chlorpyrifos with integrative techniques in incurring synergistic hepatotoxicity. **PLoS one**, v. 8, n. 3, p. e59553, 2013.

COHEN, Tamira; HEE, Shane S. Que; AMBROSE, Richard F. Trace metals in fish and invertebrates of three California coastal wetlands. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 3, p. 224-232, 2001.

CORSINI, Emanuela et al. Alterations in regulatory T-cells: rediscovered pathways in immunotoxicology. **Journal of immunotoxicology**, v. 8, n. 4, p. 251-257, 2011.

COSTA, Chiara et al. Cytokine patterns in greenhouse workers occupationally exposed to  $\alpha$ -cypermethrin: An observational study. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 36, n. 3, p. 796-800, 2013.

DA SILVA, Liana Maria Ferreira et al. Levantamento dos agrotóxicos utilizados na horticultura no município de Ubajara-CE. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada-Rbai**, v. 5, n. 4, 2013.

DAMALAS, Christos A.; GEORGIU, Eleni B.; THEODOROU, Maria G. Pesticide use and safety practices among Greek tobacco farmers: a survey. **International journal of environmental health research**, v. 16, n. 5, p. 339-348, 2006.

DAMALAS, Christos A. Understanding benefits and risks of pesticide use. **Scientific Research and Essays**, v. 4, n. 10, p. 945-949, 2009.

DAMALAS, Christos Asterios; HASHEMI, Seyyed Mahmoud. Pesticide risk perception and use of personal protective equipment among young and old cotton growers in northern Greece. **Agrociencia**, v. 44, n. 3, 2010.

DAMALAS, Christos A.; ELEFTHEROHORINOS, Ilias G. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. **International journal of environmental research and public health**, v. 8, n. 5, p. 1402-1419, 2011.

DAMALAS, Christos A.; KOUTROUBAS, Spyridon D. Farmers' exposure to pesticides: toxicity types and ways of prevention. 2016.

DELGADO, Guilherme Costa; BERGAMASCO, Sonia Maria Pessoa Pereira. Agricultura familiar brasileira: desafios e perspectivas de futuro. Brasília, DF: **NEAD**, 2017.

DO NASCIMENTO, Sabrina N. et al. Cognitive deficits and ALA-D-inhibition in children exposed to multiple metals. **Environmental research**, v. 136, p. 387-395, 2015.

DOMÍNGUEZ-CORTINAS, Gabriela et al. Exposure to chemical mixtures in Mexican children: high-risk scenarios. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 1, p. 351-357, 2013.

DOUGHERTY, John. Employee health monitoring data bases and their role in determining the safety of chemical products. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 72, p. 559, 1999.

DHOUIB, Ines et al. From immunotoxicity to carcinogenicity: the effects of carbamate pesticides on the immune system. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9448-9458, 2016.

ECOBICHON, Donald J. Pesticide use in developing countries. **Toxicology**, v. 160, n. 1-3, p. 27-33, 2001.

EL-DEMERDASH, F. M.; YOUSEF, M. I.; ELAGAMY, E. I. Influence of paraquat, glyphosate, and cadmium on the activity of some serum enzymes and protein electrophoretic behavior (in vitro). **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 36, n. 1, p. 29-42, 2001.

EMARA, Ashraf M.; DRAZ, Eman I. Immunotoxicological study of one of the most common over-the-counter pyrethroid insecticide products in Egypt. **Inhalation toxicology**, v. 19, n. 12, p. 997-1009, 2007.

EMBRAPA – Agência Embrapa de Informação Tecnológica. **Agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTAG01\\_40\\_210200792814.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_40_210200792814.html)>. Acessado em 10 de fev. 2018.

ESSER, Charlotte; JUX, Bettina. Small Chemicals, Bioactivation, and the Immune System—A Fragile Balance of i-Tox and Benefits? **Chemistry & biodiversity**, v. 6, n. 11, p. 2138-2143, 2009.

ESPANHOL-SOARES, Melina; NOCITI, Leticia AS; GONÇALVES MACHADO-NETO, Joaquim. Procedures to evaluate the efficiency of protective clothing worn by operators applying pesticide. **Annals of occupational hygiene**, v. 57, n. 8, p. 1041-1053, 2013.

FAO e OECD. Capítulo 2. **Agricultura Brasileira: Perspectivas e Desafios**. 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org.br/download/PA20142015CB.pdf>> Acessado em 05 de jan. 2018.

FARIA, Neice Müller Xavier; ROSA, José Antônio Rodrigues da; FACCHINI, Luiz Augusto. Poisoning by pesticides among family fruit farmers, Bento Gonçalves, Southern Brazil. **Revista de saúde pública**, v. 43, n. 2, p. 335-344, 2009.

FARIA, Xavier; MÜLLER, Neice. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: prioridades para uma agenda de pesquisa e ação. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 37, n. 125, 2012.

FENGA, Concettina. Occupational exposure and risk of breast cancer. **Biomedical reports**, v. 4, n. 3, p. 282-292, 2016.

FENSKE, Richard A.; LU, Chensheng. Determination of handwash removal efficiency: incomplete removal of the pesticide chlorpyrifos from skin by standard handwash techniques. **American Industrial Hygiene Association Journal**, v. 55, n. 5, p. 425-432, 1994.

FENSKE, R. A. et al. Incomplete removal of the pesticide captan from skin by standard handwash exposure assessment procedures. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 61, n. 2, p. 194-201, 1998.

FEOLA, Giuseppe; BINDER, Claudia R. Why Don't Pesticide Applicators Protect Themselves?. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v. 16, n. 1, p. 11-23, 2010.

Food and Agriculture Organization of the United Nations: The State of Food and Agriculture: Agricultural Trade and Poverty: Can Trade Work for the Poor? **Population and Development Review**, v. 33, n. 1, p. 197-198, 2007.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations: **The State of Food and Agriculture 2010 – 11: Women in Agriculture** – Closing the Gender Gap for Development. Rome. pp. 147. 2011.

FUKUYAMA, Tomoki et al. Prior exposure to immunosuppressive organophosphorus or organochlorine compounds aggravates the TH1-and TH2-type allergy caused by topical sensitization to 2, 4-dinitrochlorobenzene and trimellitic anhydride. **Journal of immunotoxicology**, v. 8, n. 2, p. 170-182, 2011.

FREEMAN, Laura Beane. Evaluation of agricultural exposures: the agricultural health study and the agricultural cohort consortium. **Reviews on environmental health**, v. 24, n. 4, p. 311-318, 2009.

GANGEMI, Silvia et al. Occupational exposure to pesticides as a possible risk factor for the development of chronic diseases in humans. **Molecular medicine reports**, v. 14, n. 5, p. 4475-4488, 2016.

GARCÍA-GARCÍA, Carmen R. et al. Occupational pesticide exposure and adverse health effects at the clinical, hematological and biochemical level. **Life sciences**, v. 145, p. 274-283, 2016.

GÓMEZ-MARTÍN, Antonio et al. Polymorphisms of pesticide-metabolizing genes in children living in intensive farming communities. **Chemosphere**, v. 139, p. 534-540, 2015.

GONÇALVES JR, A. C. et al. Evaluation of phytoavailability of the cadmium, lead and chromium in soybean cultivated in the latossolo vermelho escuro, treated with commercial fertilizers. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 173-177, 2000.

GONÇALVES JR, A. C. et al. Heavy metal contamination in brazilian agricultural soils due to application of fertilizers. In: Environmental risk assessment of soil contamination. **InTech**, 2014.

GONÇALVES JR, A. C. et al. Phytoavailability of toxic heavy metals and productivity in wheat cultivated under residual effect of fertilization in soybean culture. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 220, n. 1-4, p. 205-211, 2011.



GORMAN NG, Melanie et al. Exposure to pesticides and metal contaminants of fertilizer among tree planters. **Annals of occupational hygiene**, v. 55, n. 7, p. 752-763, 2011.

GRIESHOP, James I.; E VILLANUEVA, Ninfa; STILES, Martha C. Wash day blues: secondhand exposure to agricultural chemicals. **The Journal of Rural Health**, v. 10, n. 4, p. 247-257, 1994.

GUPTA, Vivek Kumar et al. Phytochemicals mediated remediation of neurotoxicity induced by heavy metals. **Biochemistry research international**, v. 2015, 2015.

HASSANIN, Nagah M. et al. Association between exposure to pesticides and disorder on hematological parameters and kidney function in male agricultural workers. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-6, 2017.

HASHEMI, Seyyed Mahmoud et al. Pesticide use and risk perceptions among farmers in southwest Iran. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 18, n. 2, p. 456-470, 2012.

HADNAGY, Wolfgang et al. Pyrethroids used indoors—immune status of humans exposed to pyrethroids following a pest control operation—a one-year follow-up study. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 206, n. 2, p. 93-102, 2003.

HE, Wei et al. Synergistic hepatotoxicity by cadmium and chlorpyrifos: disordered hepatic lipid homeostasis. **Molecular medicine reports**, v. 12, n. 1, p. 303-308, 2015.

HEEMANN, F. O cultivo do fumo e condições de saúde e segurança dos trabalhadores rurais. **Porto Alegre, 2009**. 171p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção).

HERNÁNDEZ, Antonio F. et al. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. **Toxicology**, v. 307, p. 136-145, 2013.

HERNÁNDEZ, Antonio F.; TSATSAKIS, Aristidis M. Human exposure to chemical mixtures: challenges for the integration of toxicology with epidemiology data in risk assessment. **Food and Chemical Toxicology**, v. 103, p. 188-193, 2017.

HOFFMAN, Nataly et al. Bifenthrin activates homotypic aggregation in human T-cell lines. **Medical science monitor**, v. 12, n. 3, p. BR87-BR94, 2005.

HOPPIN, Jane A. et al. Pesticides and atopic and nonatopic asthma among farm women in the Agricultural Health Study. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 177, n. 1, p. 11-18, 2008.

HUNG, Dong-Zong et al. The long-term effects of organophosphates poisoning as a risk factor of CVDs: a nationwide population-based cohort study. **PloS one**, v. 10, n. 9, p. e0137632, 2015.

IAASTD – International Assessment of Agricultural Knowledge. **Agriculture at a Crossroads, Science and Technology for Development**. 2009, p. 3.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental**. Brasília: Ibama, 2010.

IBAMA– Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil**. 2009. Disponível em: <[http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade\\_Ambiental/produtos\\_agrotoxicos\\_comercializados\\_brasil\\_2009.pdf](http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/produtos_agrotoxicos_comercializados_brasil_2009.pdf)> Acessado em 10 de fev. 2018.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE ESTATÍSTICA; FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA; ESTATÍSTICA. DEPARTAMENTO DE DIVULGAÇÃO ESTATÍSTICA. **Anuário estatístico do Brasil. Departamento de Divulgação Estatística, Fundação IBGE**, 2012.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios. Síntese de Indicadores**, 2015.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sinopse do Censo Demográfico 2010**. IBGE Cidades, 2010. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/agudo/panorama>. Acessado em: 28 de fevereiro de 2018.

IFA – International Fertilizer Industry Association. Disponível em: <<http://www.fertilizer.org>>. Acessado em 15 de fev. 2018.

ILO – International Labour Organisation. Global employment trends for women. **Geneva: International Labour Office**. 2009.

JAGA, K.; DHARMANI, C.. Sources of exposure to and public health implications of organophosphate pesticides. **Revista panamericana de salud pública**, v. 14, n. 3, p. 171-185, 2003.

JAISHANKAR, M. et al. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdisciplinary toxicology**, v. 7, n. 2, p. 60-72, 2014.

JINTANA, Sirivarasai et al. Cholinesterase activity, pesticide exposure and health impact in a population exposed to organophosphates. **International archives of occupational and environmental health**, v. 82, n. 7, p. 833-842, 2009.

KAMEL, Freya; HOPPIN, Jane A. Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. **Environmental health perspectives**, v. 112, n. 9, p. 950, 2004.

KAKKAR, Poonam; JAFFERY, Farhat N. Biological markers for metal toxicity. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 19, n. 2, p. 335-349, 2005.

KAPKA-SKRZYPCZAK, L. et al. Biomonitoring and biomarkers of organophosphate pesticides exposure – state of the art. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 8, n. 2, p. 294-303, 2011.

Karami-Mohajeri, S. and M. Abdollahi (2013). Mitochondrial dysfunction and organophosphorus compounds. **Toxicol Appl Pharmacol** 270(1): 39-44.

KHAN, D. A. et al. Risk assessment of pesticide exposure on health of Pakistani tobacco farmers. **Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology**, v. 20, n. 2, p. 196, 2010.

KHAN, Muhammad; MAHMOOD, Hafiz Zahid; DAMALAS, Christos A. Pesticide use and risk perceptions among farmers in the cotton belt of Punjab, Pakistan. **Crop Protection**, v. 67, p. 184-190, 2015.

KIM, Ki-Hyun; KABIR, Ehsanul; JAHAN, Shamin Ara. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Science of The Total Environment**, v. 575, p. 525-535, 2017.

KLAASEN, C. D.; WATKINS, J. B. Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull. **Porto Alegre: AMGH**, 2012.

KRISHNA, A. Keshav; MOHAN, K. Rama. Risk assessment of heavy metals and their source distribution in waters of a contaminated industrial site. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 5, p. 3653-3669, 2014.

KUNST, Leticia Regina et al. Otoacoustic emissions and biomarkers of oxidative stress in students of a tobacco-producing region. In: CoDAS. **Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia**, 2014. p. 219-225.

LANGLEY, Ricky L.; MORT, Sandra Amiss. Human exposures to pesticides in the United States. **Journal of agromedicine**, v. 17, n. 3, p. 300-315, 2012.

LERMEN, Joice et al. Pesticide exposure and health conditions among orange growers in Southern Brazil. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, p. 1-7, 2018.

LIMA, Lucimeire Batista et al. Uso de agroquímicos na produção de hortaliças em Farias Brito-CE. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science/Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 8, n. 3, 2015.

LIONETTO, Maria Giulia et al. Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new insights and future perspectives. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

LONDRES, Flavia. Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida. Rio de Janeiro: **AS-PTA-Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa**, v. 1, 2011.

LOSKA, Krzysztof; WIECHUŁA, Danuta; KORUS, Irena. Metal contamination of farming soils affected by industry. **Environment international**, v. 30, n. 2, p. 159-165, 2004.

LU, Jinky Leilanie. Gender differentiation among farmers in the agricultural sector in Benguet, Philippines. **Journal of International Women's Studies**, v. 9, n. 1, p. 176, 2007.

MACFARLANE, Ewan et al. Training and other predictors of personal protective equipment use in Australian grain farmers using pesticides. **Occupational and environmental medicine**, v. 65, n. 2, p. 141-146, 2008.

MANINI, Paola; DE PALMA, Giuseppe; MUTTI, Antonio. Exposure assessment at the workplace: implications of biological variability. **Toxicology letters**, v. 168, n. 3, p. 210-218, 2007.

MANZATTO, C. V. et al. Agricultural use of Brazilian soils. **Agricultural use of Brazilian soils**, 2002.

MAPA - Ministério da Agricultura. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/agrotoxicos/legislacao>>. Acessado em 10 de fev. 2018.

MARTÍNEZ-VALENZUELA, C. et al. Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. **Environment international**, v. 35, n. 8, p. 1155-1159, 2009.

MCCOY, C. A.; CARRUTH, A. K.; REED, D. B. Women in agriculture: risks for occupational injury within the context of gendered role. **Journal of Agricultural Safety and Health**, v. 8, n. 1, p. 37, 2002.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento — **Legislações: Instrução Normativa nº 27, de 05/06/2006, alterada pela IN SDA 07 de 12/04/2016**: Estabelece os limites de concentrações máximas admitidas para agentes fitotóxicos, patogênicos ao homem, animais e plantas, metais pesados tóxicos, pragas e ervas daninhas para produzir, importar ou comercializar fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacoes>>. Acessado em 15 de fev. 2018.

MICHALEK, J. E., et al. (2001). Serum dioxin and hepatic abnormalities in veterans of Operation Ranch Hand. **Annals of epidemiology** 11(5): 304-311.

MONQUERO, P. A.; INÁCIO, E. M.; SILVA, A. C. Levantamento de agrotóxicos e utilização de equipamento de proteção individual entre os agricultores da região de Araras. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 76, n. 1, p. 135-139, 2009.

MORILLO, J.; USERO, J.; GRACIA, I. Partitioning of metals in sediments from the Odiel River (Spain). **Environment international**, v. 28, n. 4, p. 263-271, 2002.

MORETTO, Angelo; COLOSIO, Claudio. The role of pesticide exposure in the genesis of Parkinson's disease: epidemiological studies and experimental data. **Toxicology**, v. 307, p. 24-34, 2013.

MOKARIZADEH, Aram et al. A comprehensive review of pesticides and the immune dysregulation: mechanisms, evidence and consequences. **Toxicology mechanisms and methods**, v. 25, n. 4, p. 258-278, 2015.

MOSTAFALOU, Sara. Persistent organic pollutants and concern over the link with insulin resistance related metabolic diseases. In: **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 238. Springer, Cham, 2016. p. 69-89.

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Concerns of environmental persistence of pesticides and human chronic diseases. **Clin Exp Pharmacol**, v. 5, p. e002, 2012.

MOSTAFALOU, Sara; ABDOLLAHI, Mohammad. Pesticides: an update of human exposure and toxicity. **Archives of toxicology**, v. 91, n. 2, p. 549-599, 2017.

MOURAD ABU, Tayser. Adverse impact of insecticides on the health of Palestinian farm workers in the Gaza Strip: a hematologic biomarker study. **International journal of occupational and environmental health**, v. 11, n. 2, p. 144-149, 2005.

MUÑOZ-QUEZADA, María Teresa et al. Chronic exposure to organophosphate (OP) pesticides and neuropsychological functioning in farm workers: a review. **International journal of occupational and environmental health**, v. 22, n. 1, p. 68-79, 2016.

NACHMAN, Keeve E. et al. Leveraging epidemiology to improve risk assessment. **Open Epidemiology Journal**, v. 4, p. 3-29, 2011.

NAGAJYOTI, P. C.; LEE, K. D.; SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environmental chemistry letters**, v. 8, n. 3, p. 199-216, 2010.

NASCIMENTO, Sabrina et al. Associations among environmental exposure to manganese, neuropsychological performance, oxidative damage and kidney biomarkers in children. **Environmental research**, v. 147, p. 32-43, 2016.

NASCIMENTO, Sabrina N. et al. Environmental exposure and effects on health of children from a tobacco-producing region. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 3, p. 2851-2865, 2017

NAVA, Ivair André et al. Availability of cadmium, lead and chromium toxic heavy metals in soil and soybean leaf tissue fertilized with different sources of NPK+ Zn. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 5, p. 884-892, 2011.

NALWANGA, Eva; SSEMPEBWA, John C. Knowledge and practices of in-home pesticide use: a community survey in Uganda. **Journal of environmental and public health**, v. 2011, 2011.

NERILO, Samuel Botião et al. Pesticide use and cholinesterase inhibition in small-scale agricultural workers in southern Brazil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 4, p. 783-791, 2014.

NEY, Marlon Gomes; HOFFMANN, Rodolfo. A contribuição das atividades agrícolas e não-agrícolas para a desigualdade de renda no Brasil rural. **Economia Aplicada**, v. 12, n. 3, p. 365-393, 2008.

NIU, Shengli. Ergonomics and occupational safety and health: An ILO perspective. **Applied ergonomics**, v. 41, n. 6, p. 744-753, 2010.

OESCH, F. et al. Xenobiotic-metabolizing enzymes in the skin of rat, mouse, pig, guinea pig, man, and in human skin models. **Archives of toxicology**, v. 88, n. 12, p. 2135-2190, 2014.

OMIECINSKI, Curtis J. et al. Xenobiotic metabolism, disposition, and regulation by receptors: from biochemical phenomenon to predictors of major toxicities. **Toxicological Sciences**, v. 120, n. suppl\_1, p. S49-S75, 2010.

PANTAROTO, H. L.; VIEIRA, M.; FIGUEIREDO, P. J. A eliminação do chumbo da gasolina. **5ª Mostra Acadêmica UNIMEP**, Piracicaba, Brazil, p. 1-5, 2007.

PATIL, Jyotsna A. et al. Occupational pesticides exposure of sprayers of grape gardens in western Maharashtra (India): effects on liver and kidney function. **Journal of basic and clinical physiology and pharmacology**, v. 20, n. 4, p. 335-356, 2009.

PERES, Frederico et al. Comunicação relacionada ao uso de agrotóxicos em região agrícola do Estado do Rio de Janeiro. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, p. 564-570, 2001.

PERES, Frederico et al. Desafios ao estudo da contaminação humana e ambiental por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, p. 27-37, 2005.

PÉREZ-GÓMEZ, Beatriz et al. BIOAMBIENT. ES study protocol: rationale and design of a cross-sectional human biomonitoring survey in Spain. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 2, p. 1193-1202, 2013.

PERHARIC, Lucija; VRACKO, Pia. Development of national human biomonitoring programme in Slovenia. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 215, n. 2, p. 180-184, 2012.

PRÜSS-USTÜN, Annette et al. Knowns and unknowns on burden of disease due to chemicals: a systematic review. **Environmental health**, v. 10, n. 1, p. 9, 2011.

RAHIMI, Roja; ABDOLLAHI, Mohammad. A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 88, n. 2, p. 115-121, 2007.

RAKSANAM, Buppha et al. Multi-approach model for improving agrochemical safety among rice farmers in Pathumthani, Thailand. **Risk management and healthcare policy**, v. 5, p. 75, 2012.

RAO, Pamela et al. Pesticide safety behaviors in Latino farmworker family households. **American journal of industrial medicine**, v. 49, n. 4, p. 271-280, 2006.

RECENA, Maria Celina P. et al. Pesticides exposure in Culturama, Brazil—knowledge, attitudes, and practices. **Environmental Research**, v. 102, n. 2, p. 230-236, 2006.

Resolução CONAMA Nº 420/2009 - "Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas." - Data da legislação: 28/12/2009 - **Publicação DOU nº 249, de 30/12/2009, págs. 81-84**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>>. Acessado em 15 de fev. 2018.

REZG, Raja et al. Biochemical evaluation of hepatic damage in subchronic exposure to malathion in rats: effect on superoxide dismutase and catalase activities using native PAGE. **Comptes rendus biologiques**, v. 331, n. 9, p. 655-662, 2008.

RIBAS-FITÓ, NÚria. Silent Invaders: Pesticides, Livelihoods and Women's Health. London: **ZED Books**, 2002, ISBN 185649 995 2. 2006.

SAKAI, T. Biomarkers of lead exposure. **Industrial health**, v. 38, n. 2, p. 127-142, 2000.

SALINES, G. Biosurveillance humaine, biomarqueurs et biosurveillance environnementale. In: Annales Pharmaceutiques Françaises. **Elsevier Masson**, 2012. p. 199-203.

SALVATORE, Alicia L. et al. Occupational behaviors and farmworkers' pesticide exposure: findings from a study in Monterey County, California. **American journal of industrial medicine**, v. 51, n. 10, p. 782-794, 2008.

SANTANA, Vilma Sousa; MOURA, Maria Claudia Peres; NOGUEIRA, Flávia Ferreira. Mortalidade por intoxicação ocupacional relacionada a agrotóxicos, 2000-2009, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 3, p. 598-606, 2013.

SEVERO, L. O. et al. Enfermagem e o contexto rural: relações com a saúde, ambiente e trabalho. **Revista de Enfermagem UFPE On Line**, v. 6, p. 2950-8, 2012.

SHARMA, Bechan et al. Synergistic effects of heavy metals and pesticides in living systems. **Frontiers in chemistry**, v. 5, p. 70, 2017.

SCOTT-TAYLOR, Timothy H. et al. Immunoglobulin G; structure and functional implications of different subclass modifications in initiation and resolution of allergy. **Immunity, inflammation and disease**, 2017.

SILVA, Jobert Buss da et al. Fumicultores da zona rural de Pelotas (RS), no Brasil: exposição ocupacional e a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI). **Saúde em Debate**, v. 37, p. 347-353, 2013.

SILVÉRIO, Alessandra Cristina Pupin et al. Assessment of exposure to pesticides in rural workers in southern of Minas Gerais, Brazil. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 55, p. 99-106, 2017.

SINDITABACO – Sindicato Interestadual da Indústria do Tabaco. Disponível em: <<http://sinditabaco.com.br/>>. Acessado em 10 de jan. 2018.

SINGH, Bhoopendra; GUPTA, Mudit Kumar. Pattern of use of personal protective equipments and measures during application of pesticides by agricultural workers in a rural area of Ahmednagar district, India. **Indian journal of occupational and environmental medicine**, v. 13, n. 3, p. 127, 2009.

SMOLDERS, R. et al. Availability and comparability of human biomonitoring data across Europe: a case-study on blood-lead levels. **Science of the total environment**, v. 408, n. 6, p. 1437-1445, 2010.

SOARES, Wagner; ALMEIDA, Renan Moritz VR; MORO, Sueli. Trabalho rural e fatores de risco associados ao regime de uso de agrotóxicos em Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. 1117-1127, 2003.

SUNGUR, Murat; GÜVEN, Muhammed. Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. **Critical care**, v. 5, n. 4, p. 211, 2001.

SURATMAN, Suratman; EDWARDS, John William; BABINA, Kateryna. Organophosphate pesticides exposure among farmworkers: pathways and risk of adverse health effects. **Reviews on environmental health**, v. 30, n. 1, p. 65-79, 2015.

SKOLARCZYK, Justyna; PEKAR, Joanna; NIERADKO-IWANICKA, Barbara. Immune disorders induced by exposure to pyrethroid insecticides. **Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej** (Online), v. 71, p. 446-453, 2017.

SPADOTTO, Claudio Aparecido. Abordagem interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: JORNADA JURÍDICA DA FACULDADE MARECHAL RONDON, 4., 2006, São Manuel, SP. Artigos publicados. São Manuel, SP: FMR, 2006. p. 1-9. **Revista do Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar**, São Manuel, p. 1-9, maio 2006., 2006.

STRIMBU, Kyle; TAVEL, Jorge A. What are biomarkers? **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 5, n. 6, p. 463, 2010.

STRONG, Larkin L. et al. Health symptoms and exposure to organophosphate pesticides in farmworkers. **American journal of industrial medicine**, v. 46, n. 6, p. 599-606, 2004.

TECKLE, P.; HANNAFORD, P.; SUTTON, M. Is the health of people living in rural areas different from those in cities? Evidence from routine data linked with the Scottish Health Survey. **BMC health services research**, v. 12, n. 1, p. 43, 2012.

TERRY JR, A. V. Functional consequences of repeated organophosphate exposure: potential non-cholinergic mechanisms. **Pharmacology & therapeutics**, v. 134, n. 3, p. 355-365, 2012.

TSAKIRAKIS, A. N. et al. Determination of operator exposure levels to pesticides during greenhouse applications with new type multi-nozzle equipment and the use of two different protective cover all types. **Hellenic Plant Protection**, p. 9, 2010.

TSATSAKIS, Aristidis M.; DOCEA, Anca Oana; TSITSIMPIKOU, Christina. New challenges in risk assessment of chemicals when simulating real exposure scenarios; simultaneous multi-chemicals' low dose exposure. **Food and Chemical Toxicology**, v. 96, p. 174-176, 2016.

TSATSAKIS, Aristidis M.; LASH, Lawrence H. Toxicology: the basic science for human well-being and environmental health. **Toxicology reports**, v. 4, p. x, 2017.

TUTIC, Adnan et al. The heavy metals in agrosystems and impact on health and quality of life. **Open access Macedonian journal of medical sciences**, v. 3, n. 2, p. 345, 2015.



ÜNDEĞER, U.; BAŞARAN, N. Effects of pesticide exposure on serum immunoglobulin and complement levels. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, v. 23, n. 3, p. 437-443, 2001.

VALENTINO, Matteo et al. A new method for the experimental assessment of finger haemodynamic effects induced by a hydraulic breaker in operative conditions. **Journal of occupational health**, v. 46, n. 4, p. 253-259, 2004.

VAN BALEN, Ema; SHUM, Mona; WARD, Helen Dorothy. Reducing Residential Indoor Exposure to Pesticides: A Toolkit for Practitioners. **National Collaborating Centre for Environmental Health**, 2012.

VON OSTEN, Jaime Rendógn et al. Effect of pesticide exposure on acetylcholinesterase activity in subsistence farmers from Campeche, Mexico. **Archives of Environmental Health: An International Journal**, v. 59, n. 8, p. 418-425, 2004.

YASSIN, M. M.; MOURAD, TA Abu; SAFI, J. M. Knowledge, attitude, practice, and toxicity symptoms associated with pesticide use among farm workers in the Gaza Strip. **Occupational and environmental medicine**, v. 59, n. 6, p. 387-393, 2002.

YOUNES, M.; GALAL-GORCHEV, H. Pesticides in drinking water—a case study. **Food and chemical toxicology**, v. 38, p. S87-S90, 2000.

YUANTARI, Maria GC et al. Knowledge, attitude, and practice of Indonesian farmers regarding the use of personal protective equipment against pesticide exposure. **Environmental monitoring and assessment**, v. 187, n. 3, p. 142, 2015.

WAFI, Tayeb et al. Oxidative stress, hematological and biochemical alterations in farmers exposed to pesticides. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 48, n. 12, p. 1058-1069, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace: **guidelines**. 1996.

WYSOCKI, J.; KALINA, Z.; OWCZARZY, I. Serum levels of immunoglobulins and C 3 component of complement in persons occupationally exposed to chlorinated pesticides. **Medycyna pracy**, v. 36, n. 2, p. 111-117, 1985.







## ANEXO I

### Carta de Confirmação da Submissão do Artigo

De: International Archives of Occupational and Environmental Health (IAOE)  
<em@editorialmanager.com>

Data: 12 de março de 2018

Para: Larissa Vivian Cestonaro <larissavivanc@gmail.com>

Assunto: IAOE-D-18-00096 - Submission Notification

Title: "Exposure to pesticides induce biochemical and immunological alterations in farmers"

Full author list: Larissa Vivian Cestonaro; Caroline Portela Peruzzi; Nuryan S Fão; Jessica Nardi; Bruna Gauer; Elisa Sauer; Sabrina Nunes Nascimento, PhD; Shanda Cattani; Yasmin V. Piton; Rafael C Rocha; Tatiana Dillenburg Saint'Pierre, PhD; Adriana Gioda, PhD; Solange Cristina Garcia, PhD; Marcelo Dutra Arbo, Ph.D.

Dear Ms Cestonaro,

We have received the submission entitled: "Exposure to pesticides induce biochemical and immunological alterations in farmers" for possible publication in International Archives of Occupational and Environmental Health, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr. Dr Marcelo Dutra Arbo who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office

International Archives of Occupational and Environmental Health

## ANEXO II

### Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
RIO GRANDE DO SUL / PRÓ-  
REITORIA DE PESQUISA -



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS EFEITOS TÓXICOS SISTÊMICOS EM INDÍVIDUOS OCUPACIONALMENTE EXPOSTOS A DIFERENTES CLASSES DE

**Pesquisador:** Solange Cristina Garcia

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 59461818.2.0000.5347

**Instituição Proponente:** Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.814.847

##### Apresentação do Projeto:

O projeto de pesquisa "Avaliação dos potenciais efeitos tóxicos sistêmicos em indivíduos ocupacionalmente expostos a diferentes classes de agrotóxicos" é coordenado pela Profa Dra Solange Garcia, e conta com a participação de Larissa Cestonaro, Bruna Gauer, Elisa Sauer, Marcelo Arbo e Sabrina Nascimento. Este projeto foi submetido à COMPEAQ Farmácia, sendo aprovado quanto ao mérito. Há parecer anexo do PPG Ciências Farmacêuticas da UFRGS, relatando que a justificativa, metodologia e cronograma estão adequados. O HCPA é co-participante da pesquisa, o que foi indicado na Plataforma Brasil.

##### Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do estudo será avaliar o efeito da exposição crônica a diferentes agrotóxicos sobre a saúde dos trabalhadores rurais utilizando potenciais biomarcadores precoces de alterações fisiopatológicas.

##### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos reportados foram os desconfortos relacionados às coletas das amostras. Segundo os autores, não há benefícios diretos decorrentes da participação no estudo.

##### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O número de participantes por grupo foi determinado por meio de cálculo estatístico. Em cada

**Endereço:** Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro

**Bairro:** Farroupilha **CEP:** 90.040-060

**UF:** RS **Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br

## ANEXO III

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) - Expostos

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “Avaliação dos potenciais efeitos tóxicos sistêmicos em indivíduos ocupacionalmente expostos a diferentes classes de agrotóxicos”. Este trabalho tem como pesquisadora responsável a professora Dr<sup>a</sup>. Solange Cristina Garcia da Faculdade de Farmácia da UFRGS.

Agricultores representam um importante grupo de risco especialmente devido aos efeitos sobre a saúde decorrentes do uso contínuo de diversos agrotóxicos assim como, contato com água contendo metais tóxicos. O uso intensivo de agrotóxicos pode afetar a saúde dos agricultores, estando associado ao desenvolvimento de câncer, além de afetar o ambiente. Este trabalho pretende avaliar a saúde de agricultores expostos simultaneamente a diferentes classes de agrotóxicos.

Se você aceitar participar desse estudo, será realizada uma entrevista com questionário sobre o uso de medicamentos, seus hábitos de vida, seu histórico familiar de doenças e seu estado de saúde atual, assim como serão coletadas amostras de urina, sangue, cabelo e saliva. Sabendo que no seu ambiente trabalho não há presença de nenhum desses compostos, você está sendo convidado a participar do grupo controle (sem exposição) para que possamos comparar os resultados obtidos dos indivíduos expostos com indivíduos não expostos.

Em uma sala separada, será realizado no dia da coleta, um questionário que deve necessitar de aproximadamente 20 minutos para ser preenchido. Além do questionário, você passará também por uma avaliação fonoaudiológica através da aplicação de um questionário, assim como de avaliações auditivas e vocal (por meio de gravação), necessitando de aproximadamente 20 minutos para serem realizadas. Por fim, será realizada uma avaliação neuropsicológica, por psicólogos, através da aplicação de três questionários, com duração de aproximadamente uma hora.

Esta coleta será realizada na escola em que seu filho estuda, em um único dia e que será agendado com antecedência e será realizada em uma sala onde estará equipada para a realização destas coletas, com duração de aproximadamente 30 minutos. Realizaremos alguns exames que são de rotina em laboratório de análises clínicas, como hemograma, exames de avaliação dos rins e fígado, e alguns outros relativos a presença de metais, marcadores de exposição à agrotóxicos, alterações preditivas de câncer (mutações) e do sistema imunológico, que realizamos no laboratório de Toxicologia na Faculdade de Farmácia da UFRGS.

Para a coleta de sangue, o material utilizado é único para cada indivíduo. Será coletada uma amostra de 40 mL de sangue, cerca de oito colheres de chá. No momento da coleta de sangue poderá haver alguma dor leve decorrente da perfuração da pele. Complicações da coleta de sangue são raras, mas é possível que ocorra algum tipo de mal-estar e até mesmo desmaios. Poderá aparecer hematoma no local da punção de sangue, o qual desaparece em alguns dias. Todos os cuidados necessários serão tomados para minimizar esses riscos. Em caso de desmaios ou hematomas, o paciente terá assistência técnica por parte do coletador, treinado para este tipo de atendimento.

Quanto ao procedimento para coleta de urina (coleta não assistida), o indivíduo participante terá que urinar em um pequeno frasco coletor de urina e este é o único desconforto que pode vir a ocorrer. Você deverá urinar apenas a quantidade que for capaz no momento da coleta, desprezando o primeiro jato de urina para não ocorrer contaminação microbiológica, e o volume não precisa exceder a metade do frasco de coleta. Com as amostras de urina, avaliaremos se há alterações nos rins.

Quanto à coleta de células da mucosa da boca, os indivíduos participantes poderão sofrer de algum desconforto do procedimento e há o risco eventual, embora pequeno, de lesão da mucosa, uma vez que se constitui de uma coleta simples, realizada com uma pequena escova de coleta de células bucais (semelhante a uma escova de dente) através de movimentos circulares contra o interior de cada bochecha. Anteriormente à coleta de células da mucosa, o indivíduo será orientado a realizar bochecho com água mineral disponibilizada pela equipe de pesquisa, minimizando os riscos de contaminação. Esta coleta será utilizada para a análise de alteração genética. Você irá receber os

resultados dos exames realizados. Entraremos em contato para agendarmos a entrega dos mesmos. Caso seja observada alguma alteração significativa nos resultados de seus exames, você será encaminhado ao CEREST Santa Maria, para um devido atendimento médico.

O participante poderá se beneficiar por receber exames clínicos e psicológicos, os resultados irão auxiliar na tomada de medidas preventivas para a melhoria da qualidade de vida dos mesmos, como também contribuir para o aumento do conhecimento sobre este assunto. O material biológico coletado será armazenado de forma codificada. Após a realização das análises previstas neste projeto, as amostras serão armazenadas. Este material, além de ser utilizado neste estudo, poderá ser utilizado em outros estudos futuros do nosso grupo. Neste caso, um novo projeto de pesquisa será submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa e você será chamado para reconseguir com o uso do material.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber nas instituições envolvidas. Você poderá solicitar a retirada das informações e do material biológico a qualquer momento, bastando solicitar por escrito ao responsável pelo projeto. Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos. Caso ocorra alguma intercorrência, você receberá o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal. Em caso de dano, comprovadamente resultante de sua participação na pesquisa, os pesquisadores se responsabilizam pela indenização. Garantimos a sua não identificação e o caráter confidencial dos resultados. Os resultados serão divulgados de forma agrupada, sem a identificação dos indivíduos que participaram do estudo.

Você terá garantia de acesso, em qualquer etapa da pesquisa, aos profissionais responsáveis pela mesma, para esclarecimentos de eventuais dúvidas, contatando a Profª Drª Solange Cristina Garcia pelo telefone (51) 3308-5297. A pesquisadora Larissa Vivan Cestonaro também poderá ser contatada pelo telefone (51) 3308-5297 ou pelo e-mail larissavivanc@gmail.com. Também poderá contatar os comitês de ética em pesquisa, que aprovaram este projeto, para esclarecimento de dúvidas.

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Paulo Gama, número 110, sala 317, no Anexo 1 da Reitoria, ou através do telefone (51) 3308-3738 das 10 às 16 horas, de segunda a sexta. Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Rua Sarmento leite, 245, ou através do telefone (51) 3303-8804 das 08 às 17 horas, de segunda a sexta.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

( ) Aceito que minhas amostras sejam armazenadas para pesquisas futuras.

( ) Não aceito que minhas amostras sejam armazenadas para pesquisas futuras.

Nome do Participante: \_\_\_\_\_ Nº da Identificação: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome do Pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ (pesquisador que aplicou o Termo)

Local e data: \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2017.

\_\_\_\_\_  
Pesquisadora Mestranda

Larissa Vivan Cestonaro

\_\_\_\_\_  
Pesquisadora responsável

Profª. Drª. Solange Cristina Garcia



## ANEXO III

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) - Controles

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “Avaliação dos potenciais efeitos tóxicos sistêmicos em indivíduos ocupacionalmente expostos a diferentes classes de agrotóxicos”. Este trabalho tem como pesquisadora responsável a professora Dr<sup>a</sup>. Solange Cristina Garcia da Faculdade de Farmácia da UFRGS.

Agricultores representam um importante grupo de risco especialmente devido aos efeitos sobre a saúde decorrentes do uso contínuo de diversos agrotóxicos assim como, contato com água contendo metais tóxicos. O uso intensivo de agrotóxicos pode afetar à saúde dos agricultores, estando associado ao desenvolvimento de câncer, além de afetar o ambiente.

Este trabalho pretende avaliar a saúde de agricultores expostos simultaneamente a diferentes classes de agrotóxicos. Se você aceitar participar desse estudo, será realizada uma entrevista com questionário sobre o uso de medicamentos, seus hábitos de vida, seu histórico familiar de doenças e seu estado de saúde atual, assim como serão coletadas amostras de urina, sangue, cabelo e saliva. Sabendo que no seu ambiente trabalho não há presença de nenhum desses compostos, você está sendo convidado a participar do grupo controle (sem exposição) para que possamos comparar os resultados obtidos dos indivíduos expostos com indivíduos não expostos.

Este questionário será realizado no dia da coleta e deve necessitar de aproximadamente 20 minutos para ser preenchido. Além do questionário, você passará também por uma avaliação fonoaudiológica através da aplicação de um questionário, assim como de avaliações auditivas e vocal (por meio de gravação), necessitando de aproximadamente 20 minutos para serem realizadas. Por fim, será realizada uma avaliação neuropsicológica, por psicólogos, através da aplicação de três questionários, com duração de aproximadamente uma hora.

A coleta de amostras biológicas será realizada no CEREST Santa Maria, em um único dia que será agendado com você com antecedência e será realizada em uma sala onde estará equipada para a realização destas coletas, com duração de aproximadamente 30 minutos. Realizaremos alguns exames que são de rotina em laboratório de análises clínicas, como hemograma, exames de avaliação dos rins e fígado, e alguns outros relativos a presença de metais, marcadores de exposição à agrotóxicos, alterações preditivas de câncer (mutações) e do sistema imunológico, que realizamos no laboratório de Toxicologia na Faculdade de Farmácia da UFRGS.

Para a coleta de sangue, o material utilizado é único para cada indivíduo. Será coletada uma amostra de 40 mL de sangue, cerca de oito colheres de chá. No momento da coleta de sangue poderá haver alguma dor leve decorrente da perfuração da pele. Complicações da coleta de sangue são raras, mas é possível que ocorra algum tipo de mal-estar e até mesmo desmaios. Poderá aparecer hematoma no local da punção de sangue, o qual desaparece em alguns dias. Todos os cuidados necessários serão tomados para minimizar esses riscos. Em caso de desmaios ou hematomas, o paciente terá assistência técnica por parte do coletador, treinado para este tipo de atendimento.

Quanto ao procedimento para coleta de urina (coleta não assistida), o indivíduo participante terá que urinar em um pequeno frasco coletor de urina e este é o único desconforto que pode vir a ocorrer. Você deverá urinar apenas a quantidade que for capaz no momento da coleta, desprezando o primeiro jato de urina para não ocorrer contaminação microbiológica, e o volume não precisa exceder a metade do frasco de coleta. Com as amostras de urina, avaliaremos se há alterações nos rins.

Quanto à coleta de células da mucosa da boca, os indivíduos participantes poderão sofrer de algum desconforto do procedimento e há o risco eventual, embora pequeno, de lesão da mucosa, uma vez que se constitui de uma coleta simples, realizada com uma pequena escova de coleta de células bucais (semelhante a uma escova de dente) através de movimentos circulares contra o interior de cada bochecha. Anteriormente à coleta de células da mucosa, o indivíduo será orientado a realizar bochecho com água mineral disponibilizada pela equipe de pesquisa, minimizando os riscos de contaminação. Esta coleta será utilizada para a análise de alteração genética.

Você irá receber os resultados dos exames realizados. Entraremos em contato para agendarmos a entrega dos mesmos. Caso seja observada alguma alteração significativa nos resultados de seus exames, você será encaminhado ao CEREST Santa Maria, para um devido atendimento médico.

O participante poderá se beneficiar por receber exames clínicos e psicológicos, os resultados irão auxiliar na tomada de medidas preventivas para a melhoria da qualidade de vida dos mesmos, como também contribuir para o aumento do conhecimento sobre este assunto. O material biológico coletado será armazenado de forma codificada. Após a realização das análises previstas neste projeto, as amostras serão armazenadas. Este material, além de ser utilizado neste estudo, poderá ser utilizado em outros estudos futuros do nosso grupo. Neste caso, um novo projeto de pesquisa será submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa e você será chamado para reconseguir com o uso do material.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber nas instituições envolvidas. Você poderá solicitar a retirada das informações e do material biológico a qualquer momento, bastando solicitar por escrito ao responsável pelo projeto. Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos. Caso ocorra alguma intercorrência, você receberá o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal. Em caso de dano, comprovadamente resultante de sua participação na pesquisa, os pesquisadores se responsabilizam pela indenização. Garantimos a sua não identificação e o caráter confidencial dos resultados. Os resultados serão divulgados de forma agrupada, sem a identificação dos indivíduos que participaram do estudo.

Você terá garantia de acesso, em qualquer etapa da pesquisa, aos profissionais responsáveis pela mesma, para esclarecimentos de eventuais dúvidas, contatando a Profª Drª Solange Cristina Garcia pelo telefone (51) 3308-5297. A pesquisadora Larissa Vivan Cestonaro também poderá ser contatada pelo telefone (51) 3308-5297 ou pelo e-mail larissavivanc@gmail.com. Também poderá contatar os comitês de ética em pesquisa, que aprovaram este projeto, para esclarecimento de dúvidas.

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Paulo Gama, número 110, sala 317, no Anexo 1 da Reitoria, ou através do telefone (51) 3308-3738 das 10 às 16 horas, de segunda a sexta. Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Rua Sarmento leite, 245, ou através do telefone (51) 3303-8804 das 08 às 17 horas, de segunda a sexta.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

( ) Aceito que minhas amostras sejam armazenadas para pesquisas futuras.

( ) Não aceito que minhas amostras sejam armazenadas para pesquisas futuras.

Nome do Participante: \_\_\_\_\_ Nº da Identificação: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome do Pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ (pesquisador que aplicou o Termo)

Local e data: \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2017.

\_\_\_\_\_  
Pesquisadora Mestranda

Larissa Vivan Cestonaro

\_\_\_\_\_  
Pesquisadora responsável

Profª. Drª. Solange Cristina Garcia

**ANEXO IV**  
**Questionário de Avaliação**

**QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO**

(Com base no modelo recomendado por: International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens (ICPEMC) Mutation Research, 204:379- 406, 1988.)

Entrevistador: \_\_\_\_\_ Nº da Identificação: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_

Local da entrevista: \_\_\_\_\_

Estação do ano:

1 ( ) Inverno

3 ( ) Verão

2 ( ) Primavera

4 ( ) Outono

**HISTÓRIA PESSOAL**

Data de Nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ anos.

Sexo:

1 ( ) Masculino

2 ( ) Feminino

Qual é a sua cor ou etnia?

1 ( ) Branca

4 ( ) Parda

2 ( ) Preta

5 ( ) Indígena

3 ( ) Amarelada

Qual a sua descendência?

1 ( ) Alemã

2 ( ) Italiana

3 ( ) Brasileira

Você tem filhos? De quantos filhos você é pai/mãe natural (isto é, não inclua filhos adotados e de criação)?

1 ( ) Sim Número de filhos: \_\_\_\_\_

2 ( ) Não

Qual o seu estado conjugal?

1 ( ) Casado (a) ou com companheiro (a)

3 ( ) Viúvo (a)

2 ( ) Separado (a), desquitado (a), sem companheiro (a)

4 ( ) Solteiro (a)

Quantos anos você estudou? \_\_\_\_\_ anos.



Qual a sua atribuição no momento da cultura?

- |                            |                |                               |
|----------------------------|----------------|-------------------------------|
| 1 ( ) Preparo da lavoura   | 3 ( ) Plantio  | 5 ( ) Preparo das folhas      |
| 2 ( ) Cuidado com as mudas | 4 ( ) Colheita | 6 ( ) Preparo dos agrotóxicos |

Há quanto tempo você trabalha neste local? \_\_\_\_\_

Qual é a carga horária semanal de trabalho?

- |                   |                               |
|-------------------|-------------------------------|
| 1 ( ) 8 horas/dia | 4 ( ) Todos os dias           |
| 2 ( ) 6 horas/dia | 5 ( ) Apenas durante a semana |
| 3 ( ) 4 horas/dia |                               |

Se há menos de dez anos, onde você trabalhou previamente?

\_\_\_\_\_

Que tipo de trabalho você fez? \_\_\_\_\_

Por quanto tempo? \_\_\_\_\_ ( ) anos ( ) meses

Você utiliza ou utilizou agrotóxicos no uso doméstico?

- 1 ( ) Sim – Especificar: \_\_\_\_\_
- 2 ( ) Não

Quando foi a última vez que você utilizou e quantas vezes utilizou?

\_\_\_\_\_

Onde você armazena os agrotóxicos?

- 1 ( ) Casa
- 2 ( ) Outro local – Especificar: \_\_\_\_\_

Como você descarta as embalagens?

- |                                 |                          |                                  |
|---------------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| 1 ( ) Coletado pela cooperativa | 2 ( ) Queimado/enterrado | 3 ( ) Outro – Especificar: _____ |
|---------------------------------|--------------------------|----------------------------------|

Quais destes agentes químicos a que você esteve exposto nos últimos dez anos:

- |  |                          |                                   |
|--|--------------------------|-----------------------------------|
| 1 ( ) Gases tóxicos (amônia, cianeto de hidrogênio, dióxido de carbono/enxofre, gás cloro, monóxido de carbono, sulfeto de hidrogênio) | 2 ( ) Benzeno (gasolina) | 5 ( ) Agrotóxicos                 |
|  | 3 ( ) Chumbo             | 6 ( ) Radiação                    |
|  | 4 ( ) Fármacos           | 7 ( ) Outros – Especificar: _____ |

E fora do seu trabalho, você esteve exposto a algum dos itens anteriores?

- 1 ( ) Sim – Especificar conforme numeração anterior: \_\_\_\_\_
- 2 ( ) Não

Você e sua família utilizam algum tipo de equipamento de proteção individual (EPI)?

1 ( ) Sim 2 ( ) Não

Se sim, quais EPI's você e sua família tem o hábito de utilizar?

1 ( ) Máscara respiradora 3 ( ) Óculos de segurança 5 ( ) Calçados de Segurança  
2 ( ) Luvas 4 ( ) Aventais impermeáveis

Você aplica produtos agrotóxicos na lavoura?

1 ( ) Sim 2 ( ) Não

Quais destes agrotóxicos você utiliza?

Herbicidas:

1 ( ) Boral® 500SC 2 ( ) Gramoxone® 200 3 ( ) Roundup®

Inseticidas:

4 ( ) Rovral® 7 ( ) Evidence® 700WG 10 ( ) Talstar® 100EC  
5 ( ) Confidor® S 8 ( ) Gamit® 360CS  
6 ( ) Decis® 25EC 9 ( ) Orthene® 750BR

Fungicidas:

11 ( ) Dithane® NT 12 ( ) Infinito®

Antibrotante:

13 ( ) Primeplus® BR 14 ( ) Outros –  
Especificar: \_\_\_\_\_

As roupas que você e sua família utilizam na lavoura são lavadas em casa:

1 ( ) Máquina 3 ( ) Junto com outras roupas  
2 ( ) À mão 4 ( ) Separadamente

### VARIÁVEIS DE SAÚDE

Na sua opinião, como está seu estado de saúde?

1 ( ) Muito bom 4 ( ) Ruim  
2 ( ) Bom 5 ( ) Muito ruim  
3 ( ) Razoável

Se ruim ou muito ruim, qual o motivo? \_\_\_\_\_

Você tem alguma doença?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

3 ( ) Não sabe

Para mulheres:

Você está grávida?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Você toma contraceptivo oral?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Se não, utiliza algum outro método contraceptivo?

---

Faz uso contínuo de anti-inflamatórios (ibuprofeno, diclofenaco, nimesulida, prednisona, dexametasona..) ou fez uso deles?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Se sim, por favor, indique o tipo de medicamento: \_\_\_\_\_

Período: \_\_\_\_\_ ( ) mês ( ) ano(s)

Você tem tomado algum medicamento não prescrito por médico no último ano (por exemplo, aspirina, anti-ácidos, anti-histaminas, sedativos ou outras drogas)?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Se sim, por favor, indique o tipo de medicamento: \_\_\_\_\_

Período: \_\_\_\_\_ ( ) mês ( ) ano(s)

Você tomou alguma vitamina nos últimos 6 meses?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Se sim, por favor, indique qual: \_\_\_\_\_

Período: \_\_\_\_\_ ( ) mês ( ) ano(s)

Qual destes sintomas você já sentiu?

Dermatológicos:

1 ( ) Sudorese

2 ( ) Prurido

3 ( ) Rash (rupções cutâneas vermelhas em um região específica ou por todo o corpo)

4 ( ) Cianose

Neurológicos:

5 ( ) Tonturas

8 ( ) Depressão de consciência

6 ( ) Dor de cabeça

9 ( ) Perda de consciência

7 ( ) Tremor

10 ( ) Nervosismo

11 ( ) Convulsões

13 ( ) Fasciculações

12 ( ) Síncope

14 ( ) Paralisia

Oculares:

15 ( ) Visão turva

16 ( ) Tearin (olhos secos ou lacrimejamento)

17 ( ) Irritação nos olhos

Cardiorrespiratórios:

18 ( ) Palpitação

22 ( ) Dor q peito

25 ( ) Irritação nariz

19 ( ) Dispneia

23 ( ) Pieira (ruído tipo assobio que se ouve ao respirar)

26 ( ) Irritação pele

20 ( ) Tosse

24 ( ) Roncus (sons que se assemelham ao ronco)

27 ( ) Bronquite

21 ( ) Aumentar a expectoração

28 ( ) Falta de ar

29 ( ) Rinite alérgica

Digestivos:

30 ( ) Hipersalivação

33 ( ) Vômitos

36 ( ) Tenesmo retal

31 ( ) Desconforto faringe

34 ( ) Dor abdominal

37 ( ) Constipação

32 ( ) Náuseas

35 ( ) Diarreia

Outros:

38 ( ) Dor pernas

41 ( ) Problemas auditivos

44 ( ) Alteração na salivação

39 ( ) Dor coluna

42 ( ) Dor muscular

45 ( ) Insônia

40 ( ) Cansaço

43 ( ) Sonolência

46 ( ) Alteração de humor

Outros sintomas (especificar abaixo):

---

Durante a cultura do tabaco, você já apresentou/apresenta algum (ns) dos seguintes sintomas?

1 ( ) Náusea

6 ( ) Tristeza

10 ( ) Alterações da pressão arterial e frequência cardíaca

2 ( ) Vômito

7 ( ) Cólicas abdominais

3 ( ) Fraqueza

8 ( ) Aumento da salivação

11 ( ) Nunca apresentou

4 ( ) Tontura

9 ( ) Calafrios

12 ( ) Outro(s) – Especificar: \_\_\_\_\_

5 ( ) Cefaleia



Em que momento da cultura você sentiu esses sintomas?

- |                            |                          |
|----------------------------|--------------------------|
| 1 ( ) Preparo da lavoura   | 4 ( ) Colheita           |
| 2 ( ) Cuidado com as mudas | 5 ( ) Preparo das folhas |
| 3 ( ) Plantio              |                          |

Quais das doenças você acredita serem causadas pelo uso do tabaco?

- |                                  |                                |
|----------------------------------|--------------------------------|
| 1 ( ) Câncer                     | 7 ( ) Problemas neurológicos   |
| 2 ( ) Problemas respiratórios    | 8 ( ) Impotência/infertilidade |
| 3 ( ) Problemas cardíacos        | 9 ( ) Depressão                |
| 4 ( ) Problemas circulatórios    | 10 ( ) Outra(s) –              |
| 5 ( ) Problemas renais           | Especificar: _____             |
| 6 ( ) Problemas gastrintestinais |                                |

Você teve ou tem alguma dessas doenças?

- |                           |                             |                            |
|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 1 ( ) Câncer              | 10 ( ) Desnutrição          | 19 ( ) Falta de ar         |
| 2 ( ) Hepatite            | 11 ( ) Necrose              | 20 ( ) Asma                |
| 3 ( ) Mononucleose        | 12 ( ) AIDS                 | 21 ( ) Bronquite           |
| 4 ( ) Herpes              | 13 ( ) Doença cardíaca      | 22 ( ) Enfisema pulmonar   |
| 5 ( ) Meningite           | 14 ( ) Hipertensão arterial | 23 ( ) Problemas de coluna |
| 6 ( ) Infecção bacteriana | 15 ( ) Colesterol           | 24 ( ) Doenças intestinais |
| 7 ( ) Diabetes            | 16 ( ) Reumatismo           | 25 ( ) Doenças de pele     |
| 8 ( ) Talassemia          | 17 ( ) Úlcera gástrica      | 26 ( ) Depressão           |
| 9 ( ) Leucemia            | 18 ( ) Gastrite             | 27 ( ) Outra(s) doença(s)  |

Quais? \_\_\_\_\_

Apresenta ou já apresentou anemia?

- |           |           |
|-----------|-----------|
| 1 ( ) Sim | 2 ( ) Não |
|-----------|-----------|

Caquexia (perda de peso e apetite, fraqueza)?

- |           |           |
|-----------|-----------|
| 1 ( ) Sim | 2 ( ) Não |
|-----------|-----------|

Apatia (falta de motivação, entusiasmo)?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

### HISTÓRIA DE FUMO

Em relação ao cigarro, você é?

1 ( ) Fumante

3 ( ) Não fumante

2 ( ) Fumante em abstinência

4 ( ) Ex-fumante

Com que idade começou a fumar? \_\_\_\_\_ anos.

Há quantos anos você é fumante? \_\_\_\_\_ anos.

Qual o tipo de cigarro você consome?

1 ( ) Cigarro

4 ( ) Cigarro de palha

2 ( ) Charuto

5 ( ) Cigarilha (envolvidas em folhas de fumo)

3 ( ) Cachimbo

Você utiliza cigarro com filtro?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Você mastiga tabaco?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Reside próximo a lavouras de fumo?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

### DIETAS (deve refletir apenas os hábitos frequentes)

Com que frequência consome os seguintes alimentos:

Sucos

1 ( ) Menos de 1x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

2 ( ) 1x na semana

5 ( ) 7x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

6 ( ) Não ingere

Frutas

1 ( ) Menos de 1x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

2 ( ) 1x na semana

5 ( ) 7x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

6 ( ) Não ingere

Batatas

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Feijão

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Adoçante

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Refrigerante

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Chá

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Café

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Chimarrão

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Vinho

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Cerveja

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Pão branco, biscoito, bolos

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Pão preto/integral

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere

Salada verde (vegetais crus)

1 ( ) Menos de 1x na semana

2 ( ) 1x na semana

3 ( ) 2-3x na semana

4 ( ) 4-6x na semana

5 ( ) 7x na semana

6 ( ) Não ingere



Você tem conhecimento se algum familiar seu tem ou já teve câncer?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Se sim, por favor, especifique qual o grau de parentesco e tipo de câncer: \_\_\_\_\_

Sobre seus pais:

Pai

1 ( ) Está vivo

2 ( ) Falecido

Idade \_\_\_\_ anos

Doença: \_\_\_\_\_ Causa da Morte: \_\_\_\_\_

Mãe

1 ( ) Está vivo

2 ( ) Falecido

Idade \_\_\_\_ anos

Doença: \_\_\_\_\_ Causa da Morte: \_\_\_\_\_

Você ou sua esposa (o) teve ou tem dificuldade para engravidar?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Se sim, por favor, especifique: \_\_\_\_\_

Você já teve um filho (a) que tenha nascido prematuramente ou que tenha sido abortado?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não

Você tem um gêmeo idêntico vivo?

1 ( ) Sim

2 ( ) Não